

SÓBRE UMA NOVA ESPÉCIE DO GÊNERO
EBERTHELLA BUCHANAN, ISOLADA DE
FÉZES PATOLÓGICAS DE CRIANÇA

Eberthella acalifaciens (n. sp.)

DR. LUIS DE SALLES GOMES

Chefe de Subdivisão do Instituto Adolfo Lutz

Nos primeiros dias de março de 1943, isolamos de fézes catarrais de uma criança, um bacilo que nos pareceu interessante não só pela frequência das suas colônias nas placas originais de semeadura, como ainda pela sua ação característica sobre a série de hidratos de carbono utilizada habitualmente em laboratório clínico para diagnose do grupo de bactérias intestinais.

O material patológico intestinal provinha de "M.F.", uma criança de 11 meses, de aspecto sadio, pesando 9.500 grs. e que, até então, nunca tivera distúrbio intestinal. Amanhecêra febril e evacuando com frequência fézes moles e francamente catarrais. No dia seguinte foi tomada a temperatura axilar que acusou 38°C., tendo as evacuações atingido o número de seis. Material catarral recente, dêste 2.º dia de moléstia — depois de cuidadosamente examinado com relação a Protozoários e Helmintos, exames êsses que resultaram negativos — foi aproveitado para as sementeiras em placas.

No 3.º dia de moléstia a doentinha apresentava-se apenas sub-febril (37,2º C.) e apirética nos dias subsequentes.

As evacuações mantiveram-se catarrais e mais ou menos frequentes durante 7 dias, tornando-se depois pastosas (5 dias) e finalmente normais.

O tratamento, iniciado no 2.º dia de moléstia, constou de buco-vacina anti-disentérica e de 1 comprimido de sulfa-diazine por dia, tomado em 2 vêzes.

No 10.^o dia foi colhido sangue venoso para investigações imunológicas eventuais.

Semeaduras. Isolamento do germe — Após passagem durante cerca de 1 hora em solução glicero-cloretada de Teague, o material catarral colhido no 2.^o dia de moléstia foi semeado em placas de Teague e de agar-rosólico (Calazans-Pestana).

Depois de incubadas durante 24 horas, a 38° C., umas e outras dessas placas apresentavam maioria absoluta de colônias de germes não fermentadores da lactose. Feita a transferência de numerosas dessas colônias para tríplice açúcar de Krumwiede e, a seguir, a passagem de 10 delas em série de Hiss, portaram-se tôdas de maneira idêntica: em 48 horas, fermentação, sem gás, só da dextrose e leve produção de indol. À primeira vista pareceu-nos estarmos em presença de *Shigella ambigua*; mas a pesquisa da motilidade, feita a seguir, e que era presente no germe, desde logo orientou-nos no sentido do gênero *Eberthella*.

ESTUDO BACTERIOLÓGICO DA *EBERTHELLA* "M. E."

MORFOLOGIA — Bastonetes medindo de 1 a 3 μ de comprimento por 0,5 a 0,6 μ de largura, ora isolados, ora em formações diplobacilares, podendo apresentar às vêzes, nas culturas em caldo, formas mais longas ou mesmo filamentosas. As formas curtas assemelham-se a verdadeiros cocos. Extremidades arredondadas. Ausência da cápsula.

MOTILIDADE — Ativa, principalmente nas culturas novas em caldo peptonado, deixado à temperatura de 18-22° C., e quando o germe é recentemente isolado do organismo humano ou do animal inoculado. Ao lado de bastonetes ativos existem muitos outros com movimento só molccular.

COLORAÇÃO — Apresentam a afinidade comum dos bacilos deste gênero para as côres básicas da anilina. Coram-se negativamente pelo método de Gram. Ao lado de corpos bacilares corados uniformemente, não raro pode-se apreciar outros com as extremidades hiper-coradas.

CARACTERES CULTURAIIS:

Agua peptonada — Turvação moderada e uniforme com formação de pequeno depósito de sedimentação (24 h.).

Caldo peptonado comum (pH 7,6) — Em 24 horas: turvação com formação de pequeno depósito no fundo do tubo. Odor ligeiramente butírico. Em 48 horas: turvação intensa, depósito apreciável e odor butírico pronunciado.

Placas de agar peptonado comum (pH 7,4 -7,6) 24 h. 37° C. — As colônias superficiais, vistas a olho nú, apresentam-se regularmente discoides, medindo cerca de 1 milímetro de diâmetro, com bordos regulares e com superfície lisa e brilhante. São ligeiramente acinzentadas e mais ou menos transparentes. Ao lado dessas colônias outras existem, em menor número, com cerca de metade ou mesmo um terço do diâmetro. Ao ser aberta a placa sente-se um leve odor butírico.

Vistas com aumento estas colônias superficiais mostram bordos ligeiramente irregulares e superfície livre convexa. Apresentam um tom branco-acinzentado.

As colônias profundas observadas com aumento (obj. 2,0 — oc.15 x B.&L.) apresentam-se em sua maioria bi-convexas, havendo também algumas ovaladas; bordos lisos.

Agar peptonado inclinado (24 h.) — Cultura abundante de coloração acinzentada, úmida, brilhante e de odor butírico.

Gelatina — Em picada (24 horas) houve desenvolvimento discreto e igual ao longo da perfuração do meio. Não houve liquefação do meio após permanência de 40 dias em estufa regulada a 18° C.

Placas de agar-lactosado de Teague — Colônias com cerca de 1 milímetro de diâmetro, mais ou menos transparentes e brilhantes. Ao lado dessas colônias que fazem a maioria, desenvolvem-se outras, muito menores e absolutamente transparentes (24 h.).

Placas de agar peptonado-sangue de coelho — Em superfície, 24 h. a 37° C., desenvolvimento abundante de colônias, com diâmetro de cerca de 1,5 milímetros, discoides, cheias, esbranquiçadas, úmidas e brilhantes. Ao abrir-se a placa, sente-se um odor acentuadamente butírico. Não há hemólise.

Batata glicerinada — Em 24 horas, desenvolvimento pouco apreciável. Em 48-72 horas, desenvolvimento apreciável, em camada úmida, de cor branco-amarelada. Turvação do líquido subjacente. Odor butírico.

Soro solidificado de Loeffler — Em 72 horas, desenvolvimento delicado em camada contínua, úmida e brilhante. Não há liquefação do meio.

CARACTERES BIOQUÍMICOS: Fermentação dos hidrocarbonados:

a) *Produção de ácido* — Dextrose, sacarose, levulose, glicerina, manose e adonita.

A sacarose é fermentada tardiamente, isto é, a partir do 6.^o-7.^o dia. Ao cabo de 13 a 15 dias, o meio vai pouco a pouco retornando à alcalinidade, que se completa no 20.^o dia.

Com a glicerina observa-se igual retorno à alcalinidade, mas a partir do 18.^o dia, estendendo-se ela a todo o meio, no 24.^o dia.

A fermentação da adonita deu-se em 24 horas, mas incompletamente. Só foram fermentadas as $\frac{3}{4}$ partes inferiores do meio, ficando imutável o segmento superior, aquele que está em contacto com o ar atmosférico. O retorno completo à alcalinidade deu-se no 10.^o dia.

b) *Ausência de fermentação* — Lactose, D manita, maltose, D xilose, dulcita, celobiose, dextrina, inulina, I inosita, esculina, D sorbita, L iso-dulcita, rafinose, D galactose, L arabinose, salicina, trehalose, amigdalina e amido.

Se tivermos a precaução de, sobre o meio semi-sólido de Hiss, colocar uma camada de 0,5 a 1 ml. de parafina estéril, de modo a isolá-lo da camada de ar, veremos que a fermentação da sacarose, glicerina e adonita dar-se-á do mesmo modo, sem retorno, porém, à alcalinidade.

Em nenhum dos hidratos de carbono fermentados houve produção de gás.

O meio de cultura usado para estas provas foi o semi-sólido de Hiss, com indicador fenol-vermelho.

A concentração dos hidratos de carbono, no meio, era de 1%.

Todos êstes hidratos de carbono procediam da fábrica de produtos "Pfansthiel", exceto L arabinose e rafinose (Merck), esculina (Grübler), glicerina (Evans) e levulose (Chuchardt).

Leite tornasolado — A ação da *Eberthella* "*M. E.*" sobre êste meio merece um destaque especial. Ela produz uma modificação sensível e uniforme no leite tornasolado, alcalinizando-o intensamente e de tal modo que o indicador de tornasol, chega a uma coloração azul intensíssima.

Esta reação parece-nos bastante característica, principalmente se considerarmos que é ela excepcional com os germes catalogados no gênero *Eberthella*.

Após 2 a 3 dias de incubação a 37° C. nota-se uma leve alcalinidade do meio. Esta alcalinidade vai, com o correr dos dias, cada

vez mais se intensificando até um máximo que se pode verificar do 8.º dia em diante. O indicador toma uma coloração azul tão intensa como a que se observa nas culturas de *Shigella alkalescens* e *Faecalis alcaligenes*, nesse meio.

É certo que se pode perceber, não raro, em 24 horas, uma discreta mutação do tornasol no sentido de uma levíssima acidez inicial, praticamente desprezível. Esta ligeira mutação, aliás, foi por nós também observada com *Shigella alkalescens*.

A capacidade alcaligênica da *Eberthella "M. E."* não se restringe somente aos meios que contêm açúcar. O germe é altamente alcaligênico mesmo quando em proliferação sobre meio peptonado livre de qualquer parcela de hidrocarbonado.

No quadro seguinte pode-se avaliar a forte reação alcalina conferida pela *Eberthella "M. E."* à água peptonada, comparativamente com *Shigella alkalescens* e *Faecalis alcaligenes*:

		AGUA PEPTONADA pH 7,6											
Indicador		fenol vermelho					fenolftaleína						
dias de incubação		2.º	3.º	4.º	5.º	6.º	7.º	8.º	9.º	10.º	11.º	12.º	13.º
<i>Eberthella "M. E."</i>	pH	7.3	7.5	7.6	7.9	8.2	8.5	8.5	8.7	8.8	8.9	8.9	8.9
<i>Shigella alkalescens</i>	pH	7.4	7.7	7.8	8.1	8.3	8.5	8.5	8.7	8.8	8.9	8.9	8.9
<i>Faecalis alcaligenes</i>	pH	7.6	7.8	7.9	8.3	8.4	8.5	8.6	8.7	8.8	8.9	8.9	8.9

Vemos pelo quadro acima que o pH inicial da água peptonada (7.6) sofreu, em 48 horas, leve alteração baixando com *Eberthella "M.E."* a 7.3 e com *Shigella alkalescens* a 7.4, não se tendo modificado, porém, em face de *Faecalis alcaligenes* (7.6). A seguir, a alcalinidade produzida por um e outros germes foi, gradativamente, aumentando, até atingir em todos igual pH de 8.7 (9.º dia) de 8.8 (10.º dia) e um máximo de 8.9 nos dias subsequentes.

O pH inicial de 7,4, de meio litro de caldo peptonado em que o germe foi repicado, elevou-se, após 20 dias de incubação a 37º C., a pH 10,2.

Produção de indol — A reação apresenta discreta positividade em 24-48 horas, tornando-se porém mais visível a partir do 4.º dia

(Reação de Ehrlich). Na preparação da água peptonada foi utilizada peptona bacteriológica de Park, Davis.

Produção de acetil-metil-carbinol — Reação de Voges-Proskauer negativa. Cultura em água peptonada dextrosada e fosfatada de Clark-Lubs. Incubação de 4 dias.

Reação do vermelho metila — Resultado positivo. Cultura em água peptonada, dextrosada e fosfatada de Clark-Lubs, 4 dias.

Redução de nitratos — Resultado positivo. Cultura em caldo contendo 0,1% de KNO_3 , 5 dias a 37° C. (método de Ilosvay).

Produção de hidrogênio sulfurado — Resultado positivo. Houve enegrecimento do papel de acetado de chumbo em 24 horas. Em agar-acetato de chumbo o enegrecimento deu-se, ao longo das picadas, em 48-72 horas.

CARACTERES IMUNOLÓGICOS: No 10.º dia a contar do início da moléstia, puncionámos uma das veias do pescoço da paciente, colhendo cerca de 5 ml. de sangue, cujo sôro serviu-nos para provas de aglutinação.

O sôro da doente M.E. pôsto em presença da *Eberthella* "M.E." aglutinou o germe até o título de 1/800. Na diluição de 1/600 a aglutinação era bem visível a olho nú, na de 1/800 só o era com o auxílio da lupa.

O sôro de um coelho imunizado com 4 doses progressivas de culturas mortas da *Eberthella* "M.E." (65° C., 45 minutos) aglutinou o germe no título de 1/1.600.

Eberthella typhi não foi influenciada quando em presença do anti-sôro "M.E." e nem também *Eberthella* "M.E." o foi pelo anti-sôro *Eb.typhi*.

AÇÃO PATOGÊNICA EXPERIMENTAL: *Camondongo branco* — Quantidades variáveis de cultura em caldo peptonado, de 24 horas, inoculadas no peritônio de 6 camondongos, deram os seguintes resultados:

- grupo (1) — 2 camondongos — 0,3 ml. de cultura
- grupo (2) — 2 camondongos — 0,5 ml. de cultura
- grupo (3) — 2 camondongos — 1,0 ml. de cultura

Resultado: morte de 1 camondongo do grupo 1 — (40 horas)
 morte de 1 camondongo do grupo 2 — (20 horas)
 morte de 2 camondongos do grupo 3 — (20 e 40 h.)

O germe foi isolado dos corações de todos os camondongos que morreram.

Cobaia — A dose de 5 ml. da mesma cultura em caldo, acima referida, inoculada no peritônio de uma cobaia pesando 225 grs., matou-a em 24 horas. O germe foi isolado do coração e da vesícula biliar. A não ser ligeira congestão dos órgãos em geral, nada mais foi notado de importante ao exame necro-macroscópico.

Coelho — A dose de 10 ml. da mesma cultura em caldo, inoculada na veia marginal da orelha de um coelho pesando 1.250 grs., matou-o em 20 horas.

O germe foi isolado do coração e da vesícula biliar.

Além de ligeira congestão dos órgãos em geral e distensão gasosa dos intestinos, nada mais foi notado ao exame necro-macroscópico.

Macacus rhesus e Cebus versuta — A um *M. rhesus* de 1 ano e a um *C. versuta* de 3 anos, foram dados *per os* e de mistura com a ração de leite, 10 ml. de uma cultura em caldo, de 24 horas.

A ingestão dessa dose de cultura fresca, pelos macacos, não lhes produziu febre nem fenômenos disenteriformes.

PESQUISA DE TOXINA SOLÚVEL

Cultura do germe em caldo peptonado, após permanência de 20 dias em estufa a 37° C. e posterior filtração em disco Zeitz, não se mostrou patogênica para os seguintes animais, nas doses abaixo indicadas:

ANIMAL	PÊSO	VIA	DÓSE
1 camundongo	18 grs.	sub-cutânea	0,5 ml.
1 camundongo	18 grs.	" "	1,0 ml.
1 rato branco	220 grs.	" "	3,0 ml.
1 cobaia	350 grs.	" "	3,0 ml.
1 cobaia	320 grs.	" "	5,0 ml.
1 coelho	2.000 grs.	venosa	5,0 ml.

Doses mais fortes que as acima indicadas, podem vir a ser tóxicas para os animais devido ao alto grau de alcalinidade atingido pelo meio de cultura.

DISCUSSÃO

Uma das mais felizes e inspiradas tentativas no sentido da sistematização do imenso acervo científico representado pelas conquistas bacteriológicas desde os seus primórdios até o fim da segunda década deste século, foi, sem dúvida, a de David H. Bergey, lançando em 1923 a primeira edição do "Manual of Determinative

Bacteriology”, apoiado pela Sociedade dos Bacteriologistas Norte-Americanos.

A arrojada tentativa não demorou a se tornar esplêndida realidade. Foi assim que, subsequentemente, novas edições do livro foram aparecendo, tôdas elas empenhadas não só na correção de erros anteriores, como também em perfilhar aquisições científicas recentes, visando sempre uma melhor precisão da moderna classificação microbiana.

O presente estudo em que damos a descrição de uma espécie pertencente ao gênero *Eberthella* BUCHANAN, que tem seu *habitat* no intestino humano e que supomos ainda não descrita, baseia-se, principalmente, nos caracteres genéricos e específicos diferenciais fornecidos pela 5.^a edição do “Bergey’s Manual of Determinative Bacteriology”¹.

O achado, nas placas iniciais, de numerosas colônias de um bacilo que, passado na série comum diagnóstica de Hiss, em 48 horas, fermentou sem gás a dextrose e produziu indol na água peptonada, poderia, na alternativa de uma diagnose apressada, levar, talvez, o observador à suposição de que se tratasse de uma *Shigella ambigua*, cujo encontro, entre nós, não é aliás muito raro. Mas a simples pesquisa a mais, da motilidade do germe, eliminaria dúvidas, colocando-o para logo na sua posição genérica.

A permanência da série de Hiss, durante vários dias, em incubação a 37° C., veio revelar a fermentação tardia da sacarose. É interessante anotar aqui o fato seguinte, por nós observado com este açúcar: a sacarose de “Merck” é fermentada pela *Eberthella* “M.E.” mais precocemente que a de “Pfansthiel”; enquanto que naquela a fermentação dá-se em 3-4 dias, nesta ela só é observada em 6-7 dias. Ainda mais, com a sacarose “Merck” não há retôrno do meio à alcalinidade, o que se verifica, conforme antes indicamos, com a sacarose “Pfansthiel”.

A inatividade da *Eberthella* “M.E.” sôbre a gelatina, lactose, manita, e, além disso, a fermentação ácida, sem gás, que produz em sacarose, levou-nos naturalmente à chave de *Eberthella talavensis*, isolada em 1912 por Castellani², das fezes de naturais da ilha de Ceilão.

Não nos foi possível, porém, a obtenção de uma amostra da referida *Eberthella* para fazermos um estudo comparativo com a nossa, em iguais condições. Contudo, cercando-nos dos elementos de que dispunhamos e que foram o trabalho original do autor e as indica-

ções do "Manual Bergey", pudemos organizar o seguinte quadro de diferenciação dos dois germes:

		Odor	Leite tornasolado	Índol	Sacarose	Galactose	Salicina	Inosita	Adonita	Manose	Nitratos	Patog. animais
<i>Eberthella</i> "M. E."		Butírico	Alc. forte	+	A. t.	O	O	O	A	A	+	+
<i>Eb. talavensis</i>	Castellani	?	Alc. desc.	+	A	A	A	A	O	?	?	?
	Bergey	?	Alc.	+	A	A	A	A	?	?	O	?

Legenda: Alc. = alcalinidade; desc. = descoloração; +. = positivo fraco; + = positivo; A. t. = acidez, sem gás, tardia; A = acidez sem gás; O = negativo.

Pelo quadro comparativo pode-se ver as profundas diferenças existentes entre *Eberthella* "M.E.", por nós estudada, e *Eberthella talavensis*. Segundo pensamos, os seguintes caracteres diferenciais dos dois germes, por si sós, seriam suficientes para a criação de uma espécie à parte, para *Eberthella* "M.E.": o odor butírico que suas culturas exalam; produção tardia de ácido na sacarose; produção de ácido na adonita; inatividade sobre galactose, salicina e inosita, e, finalmente, a alcalinidade muito forte conferida ao leite tornasolado, caracteres êsses que não são observados com *Eberthella talavensis*.

A prova de redução de nitratos a nitritos, também de importância na caracterização de espécies deste gênero, foi positiva nas provas realizadas com *Eberthella* "M.E.". Bergey, em seu Manual, assinala-a negativa com *Eberthella talavensis*, enquanto que Castellani, em seu trabalho original, especifica-a apenas, sem porém realizá-la.

Entrando em outra ordem de considerações, qual a da patogenicidade do germe, poderíamos agora perguntar: seria a *Eberthella* "M.E.", o germe responsável pela primo-infecção entérica apresentada pela menor de 11 meses de idade?

A julgar pelo que muito judiciosamente escreveu F. W. Andrews³ ao finalizar o seu estudo sobre *Shigella ambigua* e *Shigella alkalescens*, parece-nos que, no nosso caso, os indícios são fortes a favor do estabelecimento de uma relação de causa e efeito.

Eis o que escreveu o referido autor: "Finally, it is greatly to be desired, in the case of all doubtfully pathogenic formes isolated from cases of suspected dysentery, that carefull observations should be made on the agglutinating power of the patients serum

upon the organism isolated, as this is an important link in the chain of evidence”.

A existência de aglutininas para o germe foi verificada no sangue colhido no 10.^o dia, a contar do início da disenteria, em título de diluição bastante apreciável (1/800) para uma criança de tenra idade. Vimos, além disso, que o germe inoculado em coelho, foi capaz de gerar, no sangue desse animal, aglutininas até o título de diluição de 1/1.600.

É muito possível que, em crianças de pouca idade, cujos organismos não dispõem ainda de defezas prontamente mobilizáveis, possa este germe ser o incriminado causador de uma inflamação entérica do tipo catarral. Em adultos, êsses distúrbios intestinais seriam talvez menos expressivos pelo seu caráter menos severo.

Solicitamos à secção de disenterias, da subdivisão de Microbiologia e Diagnóstico dêste Instituto, a separação de todos os germes móveis, indologênicos, acidificadores da dextrose e tardios da sacarose, a fim de podermos estudá-los com vagar e, assim, avaliar o grau de frequência entre nós, de *Eberthellas* da mesma espécie dessa que acabamos de estudar.

Na literatura que compulsamos, referente a trabalhos publicados desde 1939 — época em que apareceu a 5.^a edição do “Bergeys Manual” até junho de 1944, não encontramos nenhuma *Eberthella* descrita com idênticos caracteres.

Somos grato a d. Lucia Q. Telles e d. F. M. Jordão, dêste Instituto, pelas gentilezas que nos prestaram no curso deste trabalho.

CONCLUSÃO

Pelas razões por nós aduzidas no desenvolvimento deste estudo, temos motivos para supor que o germe apresentado, seja uma espécie nova do gênero *Eberthella* BUCHANAN. Em tais condições, propomos para êle a denominação específica de *Eberthella alcalifaciens*, n. sp., em virtude da reação intensamente alcalina que produz no leite tornasolado.

A posição sistemática de *Eberthella alcalifaciens* dentro do gênero n.^o VIII de Bergey, representativo das *Eberthellas*, seria, naturalmente e como a seguir mostramos, ao lado de *Eberthella talavensis*, sem que qualquer modificação da chave diagnóstica fosse necessária.

GÊNERO EBERTHELLA

1. Não liquefação da gelatina
 - A: Inativas em lactose
 - I. Inativa em sacarose
 - a. H₂S positivo

aa. H₂S negativo

2. Ativas em sacarose
 - a. Inativas em manita

Etc.

1. *Eberthella typhosa*

2. *Eberthella* sp. (tipo Sendai)

3. *Eberthella talavensis*

4. EBERTHELLA ALCALIFACIENS

Etc.

Culturas de *Eberthella alcalifaciens* acham-se à disposição dos que se interessarem pelo assunto, na secção de coleção de culturas deste Instituto.

RESUMO

De fezes catarrais de uma criança com 11 meses, em estado febril e que pela primeira vez tinha sintomas de uma disenteria, isolou o A. um bacilo com os seguintes principais cactéres próprios do gen. *Eberthella*:

Bastonetes de 1 a 3 μ de comprimento, por 0,5 a 0,6 μ de largura, às vêzes apresentando formas mais longas e até filamentosas, ora isolados, ora em diplo-bacilos, com extremidades arredondadas, moveis, Gram-negativos.

Caldo peptonado: turvação com pequeno deposito. Odor butírico pronunciado, em 48 horas.

Placas de agar-peptonado: colonias superficiais discoides, 1 mm. diametro, com bordos regulares e superficie lisa e brilhante. Acinzentadas e mais ou menos transparentes. Colonias profundas bi-convexas ou ovaladas com bordos lisos.

Agar-peptonado inclinado: Cultura abundante, acinzentada, úmida, brilhante e com odor butírico.

Gelatina — Não há liquefação.

Placas de agar-sangue de coelho — Desenvolvimento abundante, com odor butírico acentuado. Não há hemólise.

Batata glicerinada: Em 48-72 h. desenvolvimento apreciável em camada úmida, branco-amarelada. Turvação do líquido sub-jacente.

Produção de ácido, mas não de gás: Dextrose, sacarose, levulose, glicerina, manose e adonita.

Nenhum ácido nem gás: Lactose, D manita, maltose, D xilose, dulcita, celobiose, dextrina, inulina, I inosita, esculina, D sorbita, L iso-dulcita, rafinose, D galactose, L arabinose, salicina, trehalose, amigdalina e amido.

Leite tornasolado: Alcalino em 48-72 h. Fortemente alcalino do 8.º dia em diante.

Indol: Ligeiramente positivo 24-48 h. Positivo 96 h.

Acetel-metil-carbinol: negativo.

Vermelho de metila: positivo.

Nitratos: Positivo, redução a nitritos.

Hidrogenio sulfurado: Positivo, papel e agar-acetato de chumbo.

Patogenia: Patogênico para camondongo branco, cobaia e coelho. Dado *per os*, não se mostrou patogênico a *M. rhesus* e a *Cebus versuta*.

Habitat — Intestino humano.

O germe acidifica a sacarose tardiamente (6.º dia) retornando o meio à alcalinidade, a começar do 13.º-15.º dia. Glicerina e adonita também retornam à alcalinidade, o primeiro no 18.º dia e o último no 10.º dia.

Sua ação sobre o leite tornasolado é bastante característica: leve alcalinidade no 2.º ou 3.º dia, a qual vai pouco a pouco aumentando até o 8.º dia quando o tornasol toma então uma coloração azul muito intensa. Algumas vezes pode-se perceber uma levíssima acidez inicial nas primeiras 24 horas — o que o A. observou também com *Shig. alkalescens*; mas ésta ligeira mutação do tornasol pode ser considerada, praticamente, desprezível.

A *Eberthella* estudada alcaliniza igualmente a água peptonada, elevando o seu pH até 8.9 (11.º dia de incubação) máximo de pH a que chegaram também *Shigella alkalescens* e *Faecalis alcaligenes*, estudadas comparativamente

O sangue colhido da doente, no 10.º dia, aglutinou o germe na diluição de 1/800. Suspensão de culturas mortas injectadas em coelho, produziram nesse animal, aglutininas até o título de 1/1.600.

Eberthella typhi e seu anti-sôro não foram influenciados nem pelo sôro da doente nem pelo germe isolado.

O germe não produziu toxina soluvel em caldo peptonado mantido a 37° C., durante 20 dias.

De acordo com o estudo realizado, e baseado principalmente nos dados fornecidos pelo "Bergey's Manual" (5.a ed. 1939), supõe o A. que está em presença de uma nova espécie do gen. *Eberthella* BUCHANAN, que deverá figurar ao lado de *Eberthella talavensis*.

Propõe, finalmente, para o germe a denominação específica de *Eberthella alcalifaciens* (n.sp.).

SUMMARY

Out of the catharrhal feces of an eleven months old febrile child, who for the first time had symptoms of dysentery, the A. isolated a bacillus which exhibited the following main characteristics of the gen. *Eberthella*:

Rods 1-3 μ long, by 0,5-0,6 μ broad, presenting at times long and even filamentous forms. The rods may be isolated or as diplobacilli with rounded ends, presenting active motility and negative Gram's stain. Aerobic, facultive.

Peptone broth: Turbidity with scanty deposit. Pronounced butyric odor in 48 hours.

Peptone-agar plates: Superficial, discoid colonies, 1 mm. diameter, regular bords, smooth and shining surface, gray and more or less transparent. Deep colonies bi-convex or oval with smooth borders.

Peptone-agar slants: Abundant growth, grayish, wet, shining and with butyric odor.

Gelatin: No liquefaction.

Rabbit blood agar plates: Luxuriant growth with pronounced butyric odor. No hemolysis.

Potato: In 48-72 hours appreciable growth in wet, yellowish-white layer. Turbidity of the sub-jacent fluid.

Acid production, but no gas: Dextrose, saccharose, levulose, glycerol, mannose and adonitol.

No acid or gas: Lactose, D mannitol, maltose, D xylose, dulcitol, celobiose, dextrina, inulina, I inositol, esculina, D sorbitol, L iso-dulcitol, raffinose, D galactose, L arabinose, salicina, trehalose, amygdalin and amyllum.

Litmus milk: Alkaline in 48-72 hours. Strongly alkaline from the 8th. day on.

Indol: Faintly positive 24-48 hours. Positive 96 hours.

Acetyl-methyl-carbinol: Negative.

Methyl red: Positive.

Nitrates: Positive. Reduction to nitrites.

H₂S: Positive to paper and agar-lead acetate.

Pathogenesis: Pathogenic for white mice, guinea-pig and rabbits. Given *per os*, it did not cause disease in *M. rhesus* or *Cebus versuta*.

Habitat: Intestinal canal of child suffering from dysentery.

This germ acidifies saccharose slowly (6th. day), and towards the 13th.—15th. day the medium becomes again alkaline. Both glycerol and adonitol also revert to alkalinity, the first on the 18th. day and the last on the 10th. day.

Its action on Litmus milk is very characteristic: slight alkalinity on the 2nd. or 3rd. day, increasing gradually to the 8th. day, when the tournesol takes a deep blue color. At times there may be a very slight initial acidity in the first 24 hours, a fact the A. observed also with the *Shigella alkalescens*, but this slight change in the tournesol may be practically overlooked.

The eberthella thus studied turns alkaline the pepton water, raising its pH as high up as 8.9 (11th. day of inoculation), this being also the maximum reached by the *Shigella alkalescens* and *Faecalis alcaligenes*, comparatively studied.

Blood serum obtained from the patient on the 10th. day of disease agglutinated the germ in dilutions as high as 1:800. Dead cultures, in suspension, injected in rabbits, produced, in this animal, agglutinins active in titles as high as 1:600.

The A. looks at this germ as a possible cause of children dysentery and, perhaps, of inflammation of the intestinal tract of adults.

The *Eb. typhi* was not agglutinated by the patient's serum and likewise the germ here studied was not agglutinated by the anti-serum *Eb. typhi*.

The germe did not produce soluble toxin in pepton broth kept in incubator at 37° C., for 20 days.

According with the work accomplished and based mainly on the data furnished by "Bergey's Manual" (5th. ed., 1939), the A. presumes to be in face of new species of the *gen. Eberthella* BUCHANAN, which ought to be placed alongside the *Eberthella talavensis*.

The A. finally proposes for this germ the name of *Eberthella alcalifaciens* (n. sp.).

BIBLIOGRAFIA

- 1) BERGEY'S Manual of Determinative Bacteriology — Fifth edition, April 1939. Williams & Wilkins Comp. Baltimore.
- 2) CASTELANI, A. — Centr. f. Bakt. 1. Abt. 65 (262) 1912.
- 3) ANDREWES, F. W. — The Lancet, 194 (563) 1918.