

TRABALHO DO INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO

O BACTERIÓFAGO NAS ÁGUAS DOS RIOS E RESERVATÓRIOS DO ABASTECIMENTO PÚBLICO DA CIDADE DE SÃO PAULO (*)

DR. LUCAS DE ASSUNÇÃO
1.º assistente do Instituto de Higiene

DR. OTÁVIO RODOVALHO
Instrutor do Instituto de Higiene

I

CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE A PRESENÇA DO BACTERIÓFAGO NAS ÁGUAS DOS RIOS E SUAS VARIAÇÕES SAZONAIS

A descoberta de agentes bacteriolíticos filtráveis e transmissíveis, é aquisição que ainda se pode dizer recente.

Iniciado o seu estudo por Twort, (1) em 1915, que observou êsse princípio lítico na linfa vacínica glicerinada de vitelo, tomou o assunto todo o desenvolvimento que merecia, nos memoráveis trabalhos de d'Herelle, principiadados em 1916. D'Herelle deixou afirmada a sua teoria, considerando a lise das bactérias como produzida pelo Bacteriófago (*Protobius bacteriophagus*), ser vivo, pertencendo ao grupo dos virus filtráveis, parasita estrito, que se multiplica a custa das bactérias que infeta e que acaba dissolvendo.

A verificação nas águas de certos rios de princípios impiedentes e líticos, atualmente denominados Bacteriófago, é muito anterior aos estudos de Twort e de d'Herelle.

Já em 1896 Hankin tinha assinalado nas águas dos rios Jumna e Ganges a presença de um princípio misterioso, de ação bactericida para o vibrião colérico, atravessando os filtros que retinham as bactérias, e que o próprio d'Herelle, mais tarde, julgou provável tratar-se do Bacteriófago.

Ficker e Löffler, muito antes de d'Herelle, observaram ser a água de Lipsia nociva ao *Vibrio comma*: como também Flankland notara que a água do Tâmisia impedia o desenvolvimento de *Eberthella typhi* e *Vibrio comma*.

Êsses estudos em águas de rios só tiveram maior desenvolvimento e grande repercussão, após os trabalhos de d'Herelle.

Dumas, em 1920, verificou a presença de Bacteriófago virulento para *Escherichia coli* e *Shigella dysenteriae* na água de alimentação de Paris.

Beckerich e Hauduroy (1922), encontraram Bacteriófago nas águas do Rheno, que são distribuídas à cidade de Estrasburgo.

Arloing e Sampé (1924) assinalaram que as águas do Rhodano e do Saone possuíam propriedades impiedentes em relação a bactérias do grupo coli-tífico-disentérico.

(*) Trabalho apresentado à Secção de Biologia da Associação Paulista de Medicina, em 9-XII-1933.

Arloing, Chavanne e Sampé (1922 a 1925), em diversos trabalhos isolaram Bacteriófagos virulentos para o grupo coli-tífico-disentérico de águas de rios e poços de França.

Na América do Norte, Arnald (1925), assinalou a presença de princípios líticos nas águas do rio Chicago.

Sangiorgi e Varcellana, estudando diversos rios da Itália, observaram neles a existência de Bacteriófago de ação sobre o *Vibrio comma*.

Na América do Sul o Bacteriófago também tem sido pesquisado nas águas dos seus rios.

No Rio da Prata foram encontrados Bacteriófagos fracos para o grupo coli-tífico-disentérico; e completa ausência de princípios líticos anti-coléricos.

Entre nós, Monteiro (2) (1926), pesquisou o Bacteriófago nas águas dos dois principais rios de São Paulo — o Tietê e o Pinheiros.

Nas águas do rio Pinheiros, verificou a presença de Bacteriófagos muito ativos para *Shigella dysenteriae* e de atividade pequena para *Salmonella shottmülleri*, *Escherichia coli* e *Shigella paradysenteriae* "Flexner", "Strong" e "Hiss"; nas do rio Tietê, a presença de princípios líticos muito ativo para *Shigella dysenteriae*, e fraco para *Salmonella shottmülleri*, *Escherichia coli* e *Shigella paradysenteriae* "Flexner" e "Hiss".

Ainda entre nós, Araújo (3) (1929), em estudo feito sobre a existência de Bacteriófago em águas da Baía, não o encontrou de ação sobre *Eberthella typhi*; mas sim princípio lítico anti-Shiga e anti-enteritidis.

* * *

A presença de Bacteriófago nas águas, assim como nas fezes dos homens, está sujeita a variações sazonais.

São indiscutíveis as relações entre as condições meteorológicas e certas doenças, entre as quais devemos salientar — o cólera, a febre tifóide e a disenteria.

Em regra geral, essas doenças, quando endêmicas em uma localidade, apresentam exacerbações epidêmicas que se observam de preferência nas épocas das chuvas.

O Bacteriófago para os agentes etiológicos dessas infecções — *Vibrio comma*, *Eberthella typhi* e *Eberthella dysenteriae* e *paradysenteriae*, — varia na natureza com a incidência das doenças por eles provocadas.

São muito interessantes os trabalhos sobre esse assunto feitos por Pasricha, Monte e Gupta.

Esses pesquisadores fizeram estudos sobre as variações sazonais dos Bacteriófagos anti-colérico, anti-tífico e anti-disentérico, nas águas e no homem, em Calcutá, durante o ano de 1930 (cólera, febre tifóide e disenteria — são as doenças endêmicas nessa localidade).

Verificaram a maior incidência dessas doenças no período das chuvas e que, em relação ao cólera, (4) as curvas da incidência da moléstia e da presença do Bacteriófago nas águas seguiam por algum tempo paralelas, atingindo o máximo em Abril. Em Maio, iniciando-se as chuvas, a curva da presença do Bacteriófago nas águas caía bruscamente, embora se mantivesse a da moléstia em todo aquele mês e em Junho.

Com respeito à disenteria bacilar, observaram que o Bacteriófago para os bacilos disentéricos podia ser isolado das águas durante todo o ano; que nos meses de Julho e Agosto notava-se maior número de casos, correspondendo aos meses de mais chuvas; que a curva da presença do Bacteriófago nas águas acompanhava a incidência da moléstia, exceto durante esses dois meses, sendo isso "probably due to the very great dilution and washing away of bacteriophages by the monsoon rains". (5)

Estudo idêntico ainda foi feito por esses autores (6) sobre as variações sazonais do Bacteriófago anti-tífico, também em Calcutá, onde viram que o Bacteriófago para o bacilo da febre tifóide, em fezes de homens sãos, era encontrado em maior percentagem no período da maior incidência da moléstia; o que se não observa com a presença desse Bacteriófago nas águas: aqui, quanto mais elevado o número de casos, correspondendo estes com o período das chuvas, menor a presença do Bacteriófago, fato idêntico ao observado com as disenterias.

Nos gráficos apresentados nesses trabalhos vimos sempre cair a curva da presença do Bacteriófago nas águas, quando a das chuvas atingia o máximo, sendo natural esse fato pelo grande aumento daquelas e conseqüente diluição do Bacteriófago.

* * *

II

O BACTERIÓFAGO NAS ÁGUAS DOS RIOS DA CIDADE DE S. PAULO

Técnica adotada nas experiências. — Uma técnica uniforme foi usada em todas as experiências deste trabalho.

As amostras para análise foram colhidas em frascos esterilizados e em todas as operações seguintes, mesmo nas anteriores à filtração em vela, só foi empregado material estéril.

Em um balão com 90 cc. da água a examinar, juntávamos 10 cc. de água peptonada concentrada a 10 %.

Incubávamos a 37° durante 48 horas; em seguida a cultura era centrifugada ligeiramente e filtrada em vela Chamberland L3, sob a pressão negativa de 300 a 350 milímetros de mercúrio.

Verificada a esterilidade do filtrado iniciávamos a pesquisa do Bacteriófago, da seguinte maneira: para cada bactéria tomam-se dois tubos com caldo comum pH 7,8, um com 4,5 cc., outro com 5 cc., colocando-se no 1.º 0,5 cc. do filtrado, servindo o 2.º de testemunha. A ambos junta-se a bactéria a examinar (cultura de 24 horas), de maneira a ficar a emulsão nos tubos aproximadamente com 200 milhões de germes por cc. Os tubos depois de agitados são colocados na estufa a 37°. Após 24 horas verifica-se o resultado no caldo, comparando-se o tubo com filtrado ao tubo testemunha, sendo ao mesmo tempo passada uma alça do material de cada um desses tubos, em estria sobre gelose inclinada, pH 7,8, indo estes novamente para a estufa a 37°, durante 24 horas. Lê-se então o resultado, confrontando-se nos dois tubos o aspecto da cultura ao longo da estria.

Os resultados são assinalados nos quadros por meio de números, de acordo com a seguinte legenda:

Caldo:

- 0 = Turvação como no tubo testemunha
- 1 = Lise apenas perceptível
- 2 = Lise perceptível
- 3 = Lise com ligeira turvação
- 4 = Lise quasi completa
- 5 = Lise completa

Estria em gelose:

- 0 = Cultura homogênea em toda a estria, semelhante ao tubo testemunha.
- 1 = Cultura ligeiramente rugosa ao longo de toda a estria, com raras zonas claras ou com bordas franjadas.
- 2 = Cultura rugosa ao longo da estria; numerosas zonas claras e colônias atípicas.
- 3 = Cultura interrompida apresentando grandes espaços claros e colônias atípicas.
- 4 = Raras colônias atípicas.
- 5 = Nenhuma colônia, ficando o meio com aparência de estéril.

* * *

Os principais rios de São Paulo são o Tieté, o Pinheiros e o Tamanduateí, sendo este de muito menor importância.

Em 11 de Maio de 1932, às 9 horas da manhã, colhemos água dos rios Tieté e Pinheiros, ao nível das maiores pontes sob as quais passam as suas águas no perímetro da cidade.

No laboratório essas amostras foram aproveitadas para a pesquisa do Bacteriófago (segundo a técnica acima descrita) e ao mesmo tempo para o seu exame bacteriológico: determinação do índice coli e número de colônias, de acôrdo com o "Standard Methods of Water Analysis".

Os filtrados das águas do Tieté e Pinheiros foram experimentados com grande número de bactérias do grupo coli-tífico-disentérico e ainda com duas raças de vibrião colérico (*Vibrio comma*).

Empregámos muitas raças com o fim de as estudar e selecionar aquelas mais facilmente lisáveis ou mais sensíveis ao Bacteriófago.

Verificámos a ação lítica dos filtrados desses rios, tomando deles três quantidades diferentes com o fim de fixar a melhor dose nas outras experiências deste trabalho.

Tomámos, para cada bactéria, 4 tubos com 5 cc. de caldo comum: no 1.º colocámos 0,1 cc. do filtrado a examinar; no 2.º 0,50 cc., no 3.º 1cc., servindo o 4.º tubo de testemunha. A esses quatro tubos adicionámos emulsão da bactéria cuja sensibilidade ao filtrado desejávamos experimentar (técnica acima descrita).

O resultado em caldo foi lido após 24 horas de estufa e em seguida uma alça de cada tubo passada em estria sobre gelose inclinada.

A leitura em gelose foi feita após a permanência desses tubos na estufa a 37º durante 24 horas.

O resultado da lise é assinalado de acôrdo com a legenda acima.

Os quadros I e II bem resumem a verificação do poder lítico dos filtrados dos rios Tieté e Pinheiros.

Quadro I

FILTRADO DAS ÁGUAS DO RIO TIETÊ
PESQUISA DE BACTERIÓFAGO

CULTURAS		Resultado em caldo após 24 horas				Verificação em gelose			
		0,1	0,5	1 cc	T	(0,1) *	(0,5)	(1 cc)	T
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 313	1	1	2	0	5	5	5	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 310	0	0	0	0	4	5	5	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 308	0	0	0	0	0	0	C	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 301	1	1	2	0	4	4	4	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 302	1	2	3	0	5	5	5	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 312	1	2	3	0	4	5	4	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 309	0	0	0	0	5	5	5	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 315	2	1	2	0	3	4	4	C
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 316	1	3	1	0	3	5	4	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 306	1	1	2	0	4	5	4	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 307	1	1	1	0	4	4	4	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 317	1	1	2	0	5	4	5	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 404	1	1	2	0	4	4	5	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 403	1	1	1	0	4	4	4	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 406	1	1	1	0	2	4	4	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 402	0	0	1	0	1	1	2	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 401	1	1	1	0	3	3	3	0
Shigella paradysenteriae "Hiss"	Sh 501	1	1	1	0	4	4	4	0
Shigella paradysenteriae "Hiss"	Sh 510	0	1	1	0	4	5	5	0
Shigella paradysenteriae "Strong"	Sh 702	0	0	0	0	0	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Strong"	Sh 701	0	0	0	0	0	0	1	0
Eberthella typhi	E 1001	0	0	1	0	0	0	1	0
Eberthella typhi	E 1015	0	0	0	0	0	0	0	0
Eberthella typhi	E 1016	0	0	1	0	3	3	3	0
Eberthella typhi	E 1019	0	0	0	0	1	1	1	0
Eberthella typhi	E 1012	1	1	2	0	4	4	4	0
Eberthella typhi	E 1020	0	0	0	0	1	5	4	0
Salmonella paratyphi	S 308		0		0		1		0
Salmonella paratyphi	S 301		1		0		2		0
Salmonella schottmülleri	S 401		0		0		2		0
Salmonella schottmülleri	S 404		0		0		4		0
Salmonella enteritidis	S 103		0		0		2		0
Salmonella enteritidis	S 105		0		0		3		0
Aerobacter cloacae	A 102	0	0	1	0	3	3	3	0
Escherichia coli	Es 103	0	0	0	0	1	1	1	0
Escherichia coli	Es 101								
Escherichia communior	Es 102								
Escherichia communior	Es 104								
Escherichia acidilactici	Es 1	1	1	1	0	1	2	3	0
Vibrio comma	V 1		0		0		0		0
Vibrio comma	V 2		0		0		0		0

(*) Resultado da passagem de uma alça de caldo dos tubos com 0,1 - 0,5 e 1 cc. respectivamente, de filtrado, para gelose.

Os quadros I e II nos mostram a existência nas águas dos rios Tietê e Pinheiros de Bacteriófagos bem virulentos para germes do grupo coli-tífico-disentérico.

O Bacteriófago para o grupo disentérico é o mais virulento, sendo muito menos virulento o princípio lítico para o grupo coli.

Quadro II

FILTRADO DAS ÁGUAS DO RIO PINHEIROS
PESQUISA DE BACTERIÓFAGO

CULTURAS	Resultado em caldo após 24 horas				Verificação em gelose			
	0,1	0,5	1 cc	T	(0,1) *	(0,5)	(1 cc)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 313	1	1	2	0	4	5	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 310	1	1	1	0	5	4	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 308	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 301	0	0	1	0	4	4	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 302	1	1	2	0	5	4	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 312	0	0	1	0	4	4	4	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 309	1	2	2	0	0	1	1	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 315	0	1	1	0	4	4	4	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 316	1	1	2	0	4	3	4	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 306	0	1	1	0	4	3	3	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 307	0	1	1	0	4	4	3	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 317	1	1	1	0	5	5	4	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 404	1	1	1	0	4	4	3	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 403	0	0	1	0	4	5	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 406	0	1	1	0	2	3	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 402	0	0	0	0	1	1	1	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 401	0	1	2	0	1	3	3	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Hiss" Sh 501	0	0	2	0	5	5	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Hiss" Sh 510	0	1	1	0	4	4	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 702	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 701	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1001	0	1	2	0	5	5	5	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1015	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1012	1	1	1	0	4	4	3	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1016	0	0	1	0	1	1	1	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1019	0	0	1	0	1	1	1	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1020	0	0	0	0	1	1	1	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 308	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 301	0	0	0	0	0	2	3	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 401	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 404	0	0	0	0	0	4	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 103	0	1	0	0	0	3	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 105	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Aerobacter cloacae</i> A 102	0	0	1	0	2	2	2	0
<i>Escherichia coli</i> Es 103	0	0	0	0	0	0	1	0
<i>Escherichia coli</i> Es 101	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Escherichia communior</i> Es 102	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Escherichia communior</i> Es 104	0	0	0	0	0	2	0	0
<i>Escherichia acidilactici</i> Es 1	0	1	1	0	1	4	4	0
<i>Vibrio comma</i> V 1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i> V 2	0	0	0	0	0	0	0	0

(*) Resultado da passagem de uma alça de caldo dos tubos com 0,1 - 0,5 e 1 cc. respectivamente, de filtrado, para gelose.

O Bacteriófago para o grupo tífico-paratífico também se mostrou bem virulento, embora menos do que para o grupo disentérico.

As águas desses dois rios não apresentaram princípio lítico anti-colérico, mostrando-se inativas para as duas raças de *Vibrio comma* experimentadas.

Ve-se, nesses quadros, a sensibilidade desigual de raças da mesma espécie a um mesmo Bacteriófago. A *Shigella dysenteriae* "Shiga" Sh 308, por ex., não se mostrou sensível ao filtrado do rio Tieté, no qual o princípio lítico anti-Shiga revela grande atividade para todas as outras raças experimentadas.

Veja-se, também, a ação do filtrado do rio Pinheiros para as duas raças de *Eberthella typhi* E 1001 e E 1015: esta, insensível ao Bacteriófago anti-tífico desse filtrado, ao passo que aquela, na passagem em gelose, foi completamente lisada deixando os três tubos sem o menor traço de cultura.

Tomámos nas demais experiências deste estudo a dose de 0,5 de filtrado para a verificação de presença de princípio lítico, o que nos poupou tempo e trabalho sem sacrificar o resultado. Nos quadros que estamos comentando, pode-se observar que na leitura em gelose — a mais importante, — os resultados melhor se objetivaram com 0,5 e 1 cc., nas condições da técnica usada, não havendo praticamente diferença na lise obtida com essas duas doses. Também, tomando 0,5 cc. em lugar de 1 cc., gastámos menos filtrado.

Ainda os quadros I e II nos ensinam que a verificação em gelose é indispensável num primeiro filtrado sem outras passagens ou processos de enriquecimento em que o princípio lítico não se revele em caldo, pois a cultura em gelose corresponde a uma segunda passagem, embora sem filtração. Observe-se o efeito do filtrado do Tieté com *Shigella dysenteriae* "Shiga" Sh 309, que, aparentemente, não demonstrou a existência, em caldo, de Bacteriófago; no entanto, uma alça de cada tubo desses caldos turvos como o testemunha, passada para gelose, revelou, após 24 horas de estufa, uma lise completa, mantendo-se os tubos com aparência de estéreis. Fato mais ou menos idêntico deu-se com *Shigella dysenteriae* "Shiga" Sh 310, e também com outras bactérias, embora menos nitidamente.

Em suma: os filtrados das águas dos rios Tieté e Pinheiros têm ação lítica bem ativa para *Shigella dysenteriae*, *Shigella paradysenteriae*, *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella shottmülleri* e *Salmonella enteritides*; menos pronunciada para *Escherichia coli*, *Escherichia communior*, *Escherichia acidi lactice* e *Aerobacter cloacae*; e nula para *Vibrio comma*.

* * *

Tabém examinámos as águas do Tamandateí com as quais repetimos as mesmas pesquisas feitas com as do Tieté e Pinheiros, sendo que as destes em Abril do ano passado, e as daquele em Setembro deste ano.

Infelizmente essas pesquisas não puderam ser feitas na mesma ocasião, ficando prejudicado o confronto dos resultados.

Aproximadamente as mesmas raças para as quais os filtrados dos rios Tieté e Pinheiros revelaram a presença de Bacteriófago, mostraram-se sensíveis ao filtrado das águas do Tamandateí.

III

O BACTERIÓFAGO NOS RESERVATÓRIOS DO ABASTECIMENTO PÚBLICO DE S. PAULO

Toda a água canalizada que se distribue à população de São Paulo provém de diversos mananciais, que se reúnem em reservatórios, junto aos quais são instalados postos de tratamento pelo cloro.

Acham-se assim localizados: ala direita da Cantareira — Guaraú; ala esquerda da Cantareira — caixa de junção; Cantareira — tanque de acumulação. Cabuçú e Barrocada — com postos de cloração em Sant'Ana. Represa de Santo Amaro — com instalação de tratamento no alto da Boa Vista.

Êsses mananciais representam dois terços das águas fornecidas a S. Paulo, e que foram por nós examinadas.

Só deixámos de examinar as águas do manancial de Cotia e a dos poços profundos do Belemzinho.

* * *

Represa de Santo Amaro. — Damos a seguir o resultado da pesquisa de Bacteriófago no filtrado das águas da Represa de Santo Amaro, colhida na instalação de tratamento no Alto da Boa Vista, antes de serem cloradas, em 19 de Outubro de 1932.

Quadro III

FILTRADO DAS ÁGUAS DA REPRESA DE SANTO AMARO,
ANTES DA CLORAÇÃO

PESQUISA DE BACTERIÓFAGO

CULTURAS		Resultado em caldo [24 horas]		Verificação em gelose	
		0,5	T	(0,5)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga"	Sh 313	0	0	3	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga"	Sh 315	0	0	2	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga"	Sh 314	0	0	1	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner"	Sh 404	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner"	Sh 403	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Hiss"	Sh 501	0	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Hiss"	Sh 510	1	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong"	Sh 702	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1001	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1012	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 103	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 105	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 1	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 2	0	0	0	0

Como vemos no quadro III o filtrado da água da Represa de Santo Amaro foi examinado para pesquisa de princípio lítico, sendo experimentadas 14 raças de bactérias. (Êste exame foi feito com muito poucas raças, defeito que corrigimos nas experiências seguintes).

Com *Shigella dysenteriae* "Shiga" nota-se a presença de princípio lítico para as três raças experimentadas.

Com *Shigella paradysenteriae* "Flexner", nada foi observado com as duas raças tomadas, como também com a única experimentada de *Shigella paradysenteriae* "Strong".

Com *Shigella paradysenteriae* "Hiss", o princípio lítico mostrou-se ativo.

Com *Eberthella typhi*, *Salmonella enteritidis* e *Vibrio comma*, nas condições da nossa experiência, o filtrado da água da Represa de Santo Amaro mostrou-se inativo.

Da mesma amostra dessa água fizemos também o seu exame bacteriológico cujo resultado foi o seguinte:

Número total de colônias por cc. desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37° — 124.

Índice coli — 1 por cc.

* * *

Cabuçu e Barrocada — A amostra para exame destas águas foi colhida no posto de cloração em Sant'Ana, em 22 de Dezembro de 1932.

O quadro IV esquematiza o resultado:

Quadro IV

FILTRADO DAS AGUAS DO CABUÇU E BARROCADA, EM
SANT'ANA, ANTES DA CLORAÇÃO
PESQUISA DE BACTERÍOFAGO

CULTURAS	Resultado em caldo [24 horas]		Verificação em gelose	
	0,5	T	(0,5)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 313	2	0	1	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 314	3	0	2	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 307	0	0	1	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 317	0	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 404	1	0	4	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 406	2	0	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 401	1	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 702	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 701	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1001	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1012	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1016	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 308	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 301	1	0	3	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 401	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 404	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 103	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 105	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> Es 103	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> Es 101	0	0	0	0
<i>Escherichia communior</i> Es 102	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i> V 1	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i> V 2	0	0	0	0

O poder lítico das águas desses mananciais foi examinado em relação a 23 bactérias, sendo vinte e uma do grupo coli-tífico-disentérico e duas raças de *Vibrio comma*.

O filtrado, como se vê no quadro IV revela a presença de Bacteriófago para diversas espécies de bactérias do grupo coli-tífico-disentérico.

Para o grupo disenterico verifica-se a presença de princípio lítico *anti-Shiga*

e *anti-Flexner* e ausência do mesmo princípio para *Shigella paradysenteriae* "Strong".

Em relação ao grupo tífico-paratífico o filtrado não revelou a existência de Bacteriófago para *Eberthella typhi* e *Salmonella schottmülleri*, ao passo que para uma das raças de *Salmonella paratyphi*, das duas experimentadas, o resultado foi positivo.

Para os germes do grupo coli o filtrado mostrou-se inativo, como também para as duas raças de *Vibrio comma*.

O exame bacteriológico da mesma amostra das águas dêsses mananciais, foi o seguinte:

Número total de colônias por cc. desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37° — 184.

Índice coli — 1 por cc.

* * *

Ala esquerda da Cantareira. Caixa de junção — As águas dêsse manancial são distribuídas para os bairros de Sant'Ana, Chora Menino e Mandaquí.

A amostra para exame foi colhida em 3 de Janeiro de 1933.

O resultado da pesquisa de Bacteriófago no filtrado dessas águas foi o seguinte:

Quadro V

FILTRADO DAS AGUAS DA ALA ESQUERDA DA CANTAREIRA CAIXA DE JUNÇÃO PESQUISA DE BACTERIÓFAGO

CULTURAS		Resultado em caldo [24 horas]		Verificação em gelose	
		0,5	T	(0,5)	T
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 313	0	0	2	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 314	3	0	2	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 307	1	0	3	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 317	1	0	1	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Flexner" Sh 404	4	0	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Flexner" Sh 401	3	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Strong" Sh 702	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Strong" Sh 701	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1001	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1012	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1016	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i>	S 308	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i>	S 301	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i>	S 401	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i>	S 404	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 103	1	0	1	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 105	0	0	1	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 102	0	0	1	0
<i>Escherichia coli</i>	Es 103	0	0	2	0
<i>Escherichia coli</i>	Es 101	1	0	2	0
<i>Escherichia communior</i>	Es 102	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 1	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 2	0	0	0	0

No quadro acima observa-se que o filtrado das águas dêsses mananciais não apresentou principio lítico para germes do grupo tífico-paratífico, pois mostrou-se sem ação sôbre as raças dêsse grupo experimentadas. — *Eberthella typhi* E 1001, 1012 e 1016, *Salmonella paratyphi* S 308 e 301, e *Salmonella schottmülleri* S 401 e 404.

Para o grupo disentérico só não foi revelado Bacteriófago contra *Shigella paradysenteriae* "Strong".

Aquí, diferentemente do que se observou nas águas do manancial de Sant'Ana, há Bacteriófago para o grupo coli, o que se objetivou na lise das raças de *Escherichia coli* e *Salmonella enteritidis*, como se vê no quadro V.

O Bacteriófago *anti-choleric*o também não existe nesse filtrado.

Exame bacteriológico da amostra:

Número total de colônias por cc. desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37° — 121.

Índice coli — 1 por cc.

* * *

Ala direita da Cantareira - Guaraú — Estas águas foram examinadas em 1 de Fevereiro de 1933.

Os resultados constam do quadro seguinte:

Quadro VI
FILTRADO DAS ÁGUAS DA ALA DIREITA DA CANTAREIRA
GUARAÚ
PESQUISA DE BACTERÍOFAGO

CULTURAS	Resultado em caldo (24 horas)		Verificação em gelose	
	0,5	T	(0,5)	T
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 313	2	0	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 314	1	0	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 307	0	0	3	0
<i>Shigella dysenteriae</i> "Shiga" Sh 317	1	0	2	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 404	2	0	5	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Flexner" Sh 401	2	0	3	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 702	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i> "Strong" Sh 701	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1001	1	0	1	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1012	0	0	4	0
<i>Eberthella typhi</i> E 1016	1	0	1	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 308	0	0	1	0
<i>Salmonella paratyphi</i> S 301	1	0	3	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 401	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i> S 404	0	0	1	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 103	0	0	2	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 105	0	0	1	0
<i>Salmonella enteritidis</i> S 102	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i> Es 103	0	0	1	0
<i>Escherichia coli</i> Es 101	0	0	1	0
<i>Escherichia communior</i> Es 102	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i> V 1	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i> V 2	0	0	0	0

Como se pode ver no quadro VI, as águas do Guarauí apresentam Bacteriófagos muito ativos para a quasi totalidade das bactérias do grupo coli-tífico-disentérico experimentadas.

De todos os mananciais examinados foi êste que revelou o mais ativo princípio lítico anti-tífico e anti-paratífico.

O Bacteriófago para *Shigella dysenteriae* e *Shigella paradysenteriae* "Flexner" é bastante virulento, por se tratar de um primeiro filtrado. Veja-se a leitura em gelose com *Shigella dysenteriae* "Shiga" Sh 313 e 314, e com *Shigella paradysenteriae* "Flexner" Sh 404 assinalada com o número 5, portanto — lise completa.

Para *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* o princípio lítico é pouco ativo, como se tem verificado também nos filtrados dos outros mananciais.

Para *Vibrio comma* — resultado negativo.

Exame bacteriológico da amostra:

Número total de colônias de bactérias desenvolvidas em agar durante 24 horas a 37° — 123.

Índice coli — 1 por cc.

* * *

Cantareira - Tanque de acumulação — O quadro VII resume os resultados da pesquisa de Bacteriófago no filtrado dessas águas, feito em 21 de Março de 1933.

Quadro VII
FILTRADO DAS ÁGUAS DA CANTAREIRA
TANQUE DE ACUMULAÇÃO
PESQUISA DE BACTERIÓFAGO

CULTURAS		Resultado em caldo (24 horas)		Derificação em gelose	
		0,5	T	(0,5)	T
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 313	5	0	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 314	2	0	4	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 307	3	0	5	0
<i>Shigella dysenteriae</i>	"Shiga" Sh 317	2	0	3	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Flexner" Sh 404	3	0	4	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Flexner" Sh 401	3	0	1	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Strong" Sh 702	0	0	0	0
<i>Shigella paradysenteriae</i>	"Strong" Sh 701	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1012	0	0	0	0
<i>Eberthella typhi</i>	E 1016	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i>	S 308	0	0	0	0
<i>Salmonella paratyphi</i>	S 301	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i>	S 401	0	0	0	0
<i>Salmonella schottmülleri</i>	S 404	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 103	0	0	0	0
<i>Salmonella enteritidis</i>	S 102	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	Es 103	0	0	0	0
<i>Escherichia coli</i>	Es 101	0	0	0	0
<i>Escherichia communior</i>	Es 102	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 1	0	0	0	0
<i>Vibrio comma</i>	V 2	0	0	0	0

Pe'a leitura do quadro acima vemos que as águas da Cantareira (Tanque de acumulação), nas condições da nossa experiência, só revelaram princípio lítico contra *Shigella dysenteriae* "Shiga" e *Shigella paradysenteriae* "Flexner", tendo sido negativo o resultado da pesquisa de Bacteriófago para *Eberthella typhi*, *Shigella paradysenteriae*, "Strong", *Salmonella schottmülleri*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Escherichia communior* e *Vibrio comma*.

IV

EFEITO DA CLORAÇÃO DAS ÁGUAS SOBRE O BACTERÍOFAGO

Toda a água que se fornece à São Paulo é clorada.

O primeiro posto de cloração foi construído no quilómetro 12, cujas águas tinham sido condenadas, e o agente químico empregado - o hipoclorito de cálcio.

Em Fevereiro de 1926, no manancial de Cotia, foi instalado um posto de tratamento pelo cloro líquido.

Graças aos bons resultados obtidos, êsse processo foi adotado em todos os mananciais, sendo que, de 22 de Junho de 1926 em diante toda a água canalizada fornecida à São Paulo tem sido clorada.

* * *

Os processos químicos empregados na depuração das águas de abastecimento baseiam-se no seu poder germicida, reduzindo a flora bacteriana dessas águas.

A impressão que sempre temos quando lidamos com Bacteriófago, é que se trata de um ser vivo, de um virus filtrável. E' a maneira de pensar de grande número de bacteriologistas, embora não confluem todas as opiniões nesse sentido.

Ainda recentemente (Abril, 1933) *Asheshov* (7), inicia a introdução de um trabalho sobre Bacteriófago, com as seguintes palavras: "The novelty of the question, the unexpected phenomena with *Protobios bacteriophagus* manifests itself have made many an investigator doubt its living nature. Even the unconquerable logic of d'Herelle's argumentation does not dispel all doubt. During ten years of constant work on bacteriophage I have myself only too often doubted its living nature, but each experiment invariably led to the one conclusion — bacteriophage cannot be anything but a living being".

Sendo o Bacteriófago, provêavelmente, um ser vivo, a cloração das águas, purificando-as, diminuindo extraordinariamente o seu número de bactérias e índice coli, não pode deixar de agir também sobre o Bacteriófago.

Na mesma ocasião em que colhemos as amostras das águas acima examinadas no seu teor de Bacteriófago, outras amostras das mesmas águas após cloração eram colhidas, tendo sido feito ao mesmo tempo o seu exame, cujo resultado se pode ver no quadro VIII.

QUADRO VIII

CULTURAS		Filtrado das águas da ala esquerda da Cantareira - Caixa de junção				Filtrado das águas da ala direita da Cantareira - Guard				Filtrado das águas da Cantareira - Tanque de acumulação				Filtrado das águas do Cabuçú e Barrocada, em San'Ana				Filtrado das águas da Represa de Santo Amaro				
		Não clorada		Clorada		Não clorada		Clorada		Não clorada		Clorada		Não clorada		Clorada		Não clorada		Clorada		
		R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	R.	V.	
		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5		0,5
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 313	0	2	0	0	2	5	0	0	5	5	0	0	2	1	0	0	0	3	0	0	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 315																		2	0	0	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 314	3	2	0	0	1	5	1	1	2	4	1	3	3	2	1	0	0	1	0	0	0
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 307	1	3	0	0	0	3	0	1	3	5	1	4	1	1	0	0					
Shigella dysenteriae "Shiga"	Sh 317	1	1	0	0	1	2	0	1	2	3	0	0	0	2	0	0					
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 404	4	5	0	0	2	5	0	0	3	4	0	0	1	4	0	0	0	0	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 403																		0	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 406													2	5	0	0					
Shigella paradysenteriae "Flexner"	Sh 401	3	2	0	0	2	3	1	1	3	1	1	0	1	2	0	0					
Shigella paradysenteriae "Hiss"	Sh 501																	0	2	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Hiss"	Sh 510																	0	2	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Strong"	Sh 702	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Shigella paradysenteriae "Strong"	Sh 701	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eberthella typhi	E 1001	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eberthella typhi	E 1012	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Eberthella typhi	E 1016	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Eberthella typhi	E 1019																					
Salmonella paratyphi	S 301	0	0	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	1	3	0	0					
Salmonella paratyphi	S 308	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0					
Salmonella schottmülleri	S 401	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Salmonella schottmülleri	S 404	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Salmonella enteritidis	S 103	1	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salmonella enteritidis	S 105	0	1	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Salmonella enteritidis	S 102	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Escherichia coli	Es 103	0	2	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Escherichia coli	Es 101	1	2	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0					
Escherichia communior	Es 102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0					
Vibrio comma	V 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Vibrio comma	V 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

R. - Resultado em caldo (24 horas)

V. - Verificação em gelose

Vê-se aí, em confronto, a pesquisa de Bacteriófago nas águas dos mananciais da cidade de São Paulo antes e depois de cloradas.

O que êsse quadro demonstra efetivamente, ao primeiro exame, é o quasi desaparecimento do Bacteriófago nas águas dêsses mananciais após a cloração.

Nas condições da nossa técnica, o desaparecimento foi completo nas águas da Ala esquerda da Cantareira, Cabuçú-Barrocada e Represa de Santo Amaro, mostrando-se bastante diminuído nas da Cantareira: Tanque de acumulação e Ala direita.

Tendo sido essas pesquisas completadas com os respectivos exames bacteriológico — determinação de índice-coli e número de colônias de bactérias por cc. em gelose durante 24 horas a 37°, — mais interessantes são os confrontos dos resultados.

E' o que apresentamos no quadro IX.

Quadro IX

	Água não clorada			Água clorada		
	Índice Bacteriófago	Índice coli por c. c.	N.º de colônias de bactérias por c. c.	Índice Bacteriófago	Índice coli por c. c.	N.º de colônias de bactérias por c. c.
Represa de Sto. Amaro	0,64	1	124	0	0	1
Cabuçú e Barrocada	0,90	1	184	0	0	25
Ala esquerda da Cantareira	1,00	1	121	0	0	3
Tanque de acumulação da Cantareira	1,04	1	41	0,33	0	3
Ala direita da Cantareira	1,69	1	123	0,30	0	4

No quadro acima vê-se "índice bacteriófago". Êsse índice foi obtido da seguinte maneira: Somámos todos os algarismos que indicam a presença de Bacteriófago em gelose e dividimos o resultado pelo número de raças de bactérias em que o princípio lítico foi pesquisado.

Embora procurássemos empregar as mesmas raças de bactérias em todos os exames, nem sempre isso nos foi possível, o que se reflete no valor comparativo do nosso índice; contudo os resultados devem ser muito aproximados, porque na sua quasi totalidade, as raças experimentadas foram as mesmas.

Sabe-se que no tocante às águas de abastecimento, o índice coli é o principal critério no julgamento de sua qualidade, e que se acham de acôrdo os higienistas em condenar as águas superficiais que contenham bactérias do grupo coli em 1 cc., como perigosas ao abastecimento público.

As águas dos mananciais de São Paulo, — águas superficiais na sua quasi totalidade — como vemos acima, são condenadas pelo seu índice coli; daí a razão pela qual são todas elas cloradas.

A cloração dessas águas, como se vê no quadro IX reduziu o índice coli a "0" (esta pesquisa foi feita até 10 cc. de água); baixando em média pouco mais de 90% o número de colônias de bactérias por cc.; tendo reduzido, também, mais ou menos nessa proporção, o índice bacteriófago.

COMENTÁRIOS

E' indiscutível que os nossos velhos conhecimentos sôbre a patologia das moléstias infetuosas e sua terapêutica, como também as conhecidas idéias epidemiológicas sôbre profilaxia e imunidade, devem ser novamente examinados levando em conta os modernos e interessantes estudos sôbre o Bacteriófago, que, indiscutivelmente, está revolucionando o assunto.

Um fato que de início convém assinalar — é o da relação entre Bacteriófago e doença, e o da correlação entre a sua presença e a cura.

O assunto pôde ser bem estudado por d'Herelle e Malone (1917), que verificaram em doentes de cólera: mortalidade total em casos com ausência de Bacteriófago anticolérico; que os doentes com Bacteriófago bem virulento se restabeleciam; que os com Bacteriófago fraco podiam morrer quando êste desaparecia, como também restabelecer-se lentamente com aumento da virulência dêsse mesmo Bacteriófago fraco.

As infecções são produzidas por organismos "ultrapuros" e no seu período inicial êles ainda assim se encontram.

Nos casos crônicos a hipótese é tratar-se de uma simbiose bactéria-bacteriófago: portadores de *Eb. typhi*, com crônica colecistite; prolongadas infecções por *Esch. coli*; crônicas osteomielites por estafilococos; peste crônica dos ratos; talvez a própria tuberculose, etc., casos todos em que, presumivelmente, deve tratar-se de simbiose entre bactéria e Bacteriófago, tendo a bactéria adquirido imunidade ao Bacteriófago.

A bactéria, vivendo em simbiose com o Bacteriófago, fica atenuada na sua virulência.

D'Herelle baseia essas idéias sôbre relação entre Bacteriófago e doença, na seguinte observação citada por Harvey (8).

"Cholera vibrios are introduced into a village or a district and become distributed. An epidemic results by transmission from case to case, or by one of the commonly named agencies, water, milk or flies (D'Herell and Malone, 1927). "The first cases are usually fatal. Then a patient recovers through the mechanism already discussed. From this convalescent bacteriophage, "adapled" to the destruction of the cholera vibrio, is spread throughout the environment and the recoveries become more and more frequent, the epidemic finally ending when the bacteriophage has become widely disseminated". Recovery is called "contagious" because it is due directly to dissemination of phage. It is evident that the spread of phage in a locality must be rapid and, within limits, it must come to be ubiquitous. According to *Asheshov*, in a hospital where phage is being administered to cholera cases "everything in the hospital — utensils, linen, hands of a attendants — were harbouring the bacteriophage, which easily contaminated the newcomer".

Tudo isso, portanto, não pode deixar de atrair a nossa atenção, pois nada há mais interessante de se imaginar do que ser o restabelecimento contagioso.

A poluição das águas dos rios e mananciais pelos convalescentes de cólera, enriquecendo essas águas com Bacteriófago, seria benéfica, ao contrário do que está estabelecido.

E' verdade que d'Herelle ao apontar o Bacteriófago como agente da cura, o julga também, em outros casos, como agente indireto de doença.

Lembra que o fagócito é alternativamente um "agente salutar" e um "agente de doença": salutar quando fagocita um micróbio e o digere; prejudicial — e mesmo capaz de provocar a morte — quando, não o podendo digerir, transporta-o a partes importantes do organismo, onde êle passa a desenvolver-se.

Assim também, continua o mesmo autor "Le protobe bacteriophage est un "agent salubre" quand il provoque la bactériophagie *in vivo*; il est néfast pour l'individu qui l'abrite quand il forme avec un microbe qui acquiert la résistance, une symbiose qui fait que ce dernier acquiert du même coup une résistance vis-à-vis des phagocytes, ou bien acquiert la propriété de donner de formes "protobactériennes" filtrantes, comme cela paraît être le cas pour le typhus exanthématique, la fièvre typhoïde, et d'autres maladies, sans doute" (9).

Já em 1896, Hankin aconselhava de preferência a água do Ganges, à de bons poços, como preventivo do cólera, isto graças à existência nela desse princípio, então misterioso, de ação anti-colérica.

D'Herelle colocando 40 a 50 cc. de Bacteriófago anti-colérico em poços de uma área com epidemia de cólera observou um brusco desaparecimento dessa epidemia.

* * *

Sabe-se que na auto-depuração das águas intervêm fenômenos vários — físicos, químicos e também biológicos.

Todos êsses fenômenos concorrem para a depuração natural e espontânea das águas na natureza.

O fator biológico — que ora nos interessa — é importante nessa depuração: de um lado Protozoários em grande quantidade, principalmente Infusórios e Flagelados alimentando-se da matéria orgânica e bactérias das águas — fato pela primeira vez assinalado por Huntémüller (1905), depois por Stokvis (1909), Stokvis e Swellengrebel (1911), etc.; do outro, a pobreza das águas em matérias nutritivas e meio desfavorável ao desenvolvimento de bactérias patogênicas que, como se sabe, menos resistem em águas puras que em águas poluídas; acresce ainda, a destruição ou digestão da matéria orgânica pela ação proteolítica das bactérias anaeróbias.

A doutrina darwiniana da "luta pela existência", rotulada no domínio da Bacteriologia por "antagonismo microbiano", também conhecida por "concorrência vital" e "antibiose" — é indiscutivelmente outro fator importante na depuração biológica das águas.

E o Bacteriófago, que papel desempenhará nessa depuração, como fator biológico?

As observações de Hankin, em 1896, sobre a existência nas águas dos rios indianos de um princípio cuja força depuradora era capaz de destruir o vibrião colérico, foram confirmadas em 1926 por d'Herelle, que deixou demonstrada a possibilidade de uma depuração natural das águas pelo Bacteriófago.

Mas as opiniões nesse sentido estão divididas.

De um lado, encontram-se os que afirmam o grande papel do Bacteriófago; do outro, os que lhe negam a ação.

Entre os primeiros, além de d'Herelle, estão Houston, Bujanowski, Beckwith e Rose, Fortunato, Renaux, etc., com trabalhos feitos nestes últimos três anos; entre os segundos Flu, Zdansky, Stewart e Ghosal, Khan, Beard, etc..

Beard, (10) em recente trabalho conclue: "From these considerations and data it does not seem possible that bacteriophage is likely to participate significantly in the reduction of bacterial numbers in polluted water or in sewage, nor does it appear probable that its presence will cause interference or lead to misinterpretation in conducting the routine tests now in use in sanitary examinations of water and sewages".

A nossa impressão, após o conhecimento da literatura sobre o assunto, é que o Bacteriófago não pode deixar de ser um dos fatores biológicos na depuração natural das águas.

O Bacteriófago presente nas águas, quando não for capaz de lisar os germes patogênicos nelas existentes, estabelecerá com êles uma simbiose da qual resultará, provavelmente, uma atenuação da sua virulência, ou impossibilidade de infetar um organismo, pois, como afirma d'Herelle, as infecções são produzidas por organismos ultrapuros.

O ideal seria que os processos químicos de depuração das águas, que diminuem o teor microbiano, conservassem o Bacteriófago.

* * *

Em suma:

Verificámos a presença de Bacteriófago virulento para germes do grupo coli-tífico-disentérico nos mananciais de São Paulo, tendo feito também ao mesmo tempo a pesquisa desse Bacteriófago nessas águas após cloração, pois, como já dissemos, toda a água canalizada que se bebe em São Paulo é clorada.

A ação bactericida do cloro líquido — processo adotado em São Paulo — diminuiu em média pouco mais de 90 % o número de bactérias, tendo diminuído, também, aproximadamente nessa proporção o teor de Bacteriófago.

Como ser vivo, que provavelmente é, o Bacteriófago mostrou-se aproximadamente tão sensível à ação bactericida do cloro líquido como as bactérias.

Já há alguns anos que estudamos o Bacteriófago e cada vez mais nos convencemos da razão que assiste a d'Herelle em afirmar que o corpúsculo Bacteriófago, o seu "Protobius bacteriophagus" — é um ser vivo, um "ultravirus" ou "inframicrobío", pertencente ao grupo dos seres impròpriamente chamados "vírus filtráveis".

Vimos acima Asheshov afirmar que durante estes dez últimos anos tem estudado constantemente o Bacteriófago e que de seus trabalhos só pôde chegar a uma conclusão — “bacteriophage can not be anything but a living being”.

O que nos parece de pouca resistência são os argumentos apresentados por d'Herelle para considerar o Bacteriófago uma simples espécie de organismo, possuindo um mosaico de virulências que se podem exaltar para diferentes espécies de bactérias.

CONCLUSÕES

I

As águas dos rios Tieté, Pinheiros e Tamanduateí, da cidade de São Paulo, apresentaram Bacteriófagos bem ativos para *Shigella dysenteriae*, *Shigella paradysenteriae*, *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmülleri* e *Salmonella enteritidis*; menos ativos para *Escherichia coli*, *Escherichia communior*, *Escherichia acidilactici* e *Aerobacter cloacae*.

II

As águas de todos os mananciais examinados e que abastecem São Paulo, também contêm Bacteriófago para *Shigella dysenteriae* e *paradysenteriae*.

III

Dos cinco mananciais examinados, apresentaram Bacteriófago para *Eberthella typhi* — Ala direita da Cantareira (Guaraú); para *Salmonella paratyphi* — Cabuçú e Barrocada, e Ala direita da Cantareira; para *Salmonella schottmülleri* — Ala direita da Cantareira; para *Salmonella enteritidis* e *Escherichia coli* — Cantareira: Tanque de acumulação e Ala direita.

IV

As águas dos rios e mananciais de São Paulo não apresentaram Bacteriófago anti-colérico, pois não revelaram ação lítica com *Vibrio comma*.

V

O Bacteriófago foi pesquisado nas águas dos mananciais de São Paulo antes e depois de cloradas sendo observado o seu quasi desaparecimento após cloração: desaparecimento completo nas águas da Ala esquerda da Cantareira, Ca-

buçú e Barrocada, e Represa de Santo Amaro; bastante diminuído nas da Cantareira: Tanque de acumulação e Ala direita.

VI

A cloração das águas desses mananciais reduziu em média pouco mais de 90 % o número de bactérias por cc.; tendo reduzido também, mais ou menos nessa proporção, o índice Bacteriófago.

VII

As águas dos rios e mananciais de São Paulo apresentaram Bacteriófagos ativos para bactérias do grupo coli-tífico-disentérico, grupo êsse responsável pelas febres tifóide, paratifóides e disenterias, doenças endêmicas nessa cidade. A não existência do cólera entre nós explica a ausência de Bacteriófago anti-colérico nessas águas.

VIII

Estando a presença de Bacteriófago nas águas de uma localidade sujeita a variações sazonais, quando se queira obter resultados comparativos, os exames devem ser feitos na mesma ocasião ou data.

RÉSUMÉ

Les eaux des fleuves Tieté, Pinheiros et Tamanduateí, à la ville de S. Paulo, ont présenté des bacteriophages très actifs pour *Shigella dysenteriae*, *Shigella paradysenteriae*, *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella schottmülleri* et *Salmonella enteritidis*; de moins actifs pour *Escherichia coli*, *Escherichia communior*, *Escherichia acidilactici* et *Aerobacter cloacae*.

Dans tous les réservoirs examinés on a rencontré des bactériophages pour *Shigella dysenteriae* et *paradysenteriae*; quant aux autres il n'y en avait que dans quelques réservoirs seulement. Lorsque les eaux sont chlorées le bactériophage disparaît presque complètement.

CONCLUSIONS

I

The waters of the city of São Paulo rivers, the Tieté, Pinheiros and Tamanduateí showed active bacteriophages against *Shigella dysenteriae*, *Shigella paradysenteriae*, *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi*, *Salmonella shottmülleri* and *Salmonella enteritidis*; and less active against *Escherichia coli*, *Escherichia communior*, *Escherichia acidilactici* and *Aerobacter cloacae*.

II

The waters examined from all the reservoirs which furnish São Paulo contain Bacteriophage against *Shigella dysenteriae* and *paradysenteriae*.

III

Of the five reservoirs examined, were revealed the Bacteriophage against *Eberthella typhi* — Ala direita da Cantareira (Guaraú); for *Salmonella paratyphi* — Cabuçú e Barrocada, and Ala direita da Cantareira; for *Salmonella schottmülleri* — Ala direita da Cantareira; for *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli* — Cantareira: Tanque de acumulação and Ala direita.

IV

The waters of the rivers and reservoirs of São Paulo, do not present anti-cholera Bacteriophage, they do not reveal lytic action with *Vibrio comma*.

V

Researches were made from the waters of the reservoirs of São Paulo for Bacteriophage, before and after being chlorated, having observed their almost total disappearance in the waters from Ala esquerda da Cantareira, Cabuçú e Barrocada, and Represa de Santo Amaro; much diminished in the Cantareira: Tanque de acumulação and Ala direita.

VI

The chloration of the waters of these reservoirs reduced to a medium of little more than 90 % the medium of bacteria per c.c., having also reduced more or less in the same proportion the Bacteriophage index.

VII

The waters from the rivers and reservoirs of S. Paulo showed active Bacteriophage against bacteria of the group coli-typhico-dysenterico, being this group responsible for typhoid-paratyphoid fevers and dysenteries, endemic diseases in this city. The non existence of cholera amidst us explains the absence of anti-choleric Bacteriophage in these wathers.

VIII

The presence of Bacteriophage in the waters of a certain locality, being subject to season variations, for comparative results the examinations should be made at the same occasion or date.

BIBLIOGRAFIA

- 1) — TWORT, F. W. — An investigation on the nature of ultra-microscopics viruses. *The Lancet* - 1915 - vol. II, p. 1241.
- 2) — MONTEIRO J. L. — Fenômeno de Twort - d'Herelle. Sua importância e conseqüências científicas. Presença do bacteriófago nas águas dos rios de São Paulo. *Anais Paulistas de Medicina e Cirurgia*. 1926. vol. XVII, p. 45.
- 3) — ARAÚJO, E. — Nota preliminar sôbre a existência do bacteriófago em águas da Baía. 1929. *Anais da IV Conferência Sul-Americana de Higiene, Microbiologia e Patologia*. Vol. I, p. 551.
- 4) — PASRICHA, C. L., MONTE, A. J. e GUPTA, S. K. — Seasonal variations of cholera bacteriophage in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930. *Indian Med. Gaz.* 1931. Vol. LXVI, n. 10, p. 543.

- 5) — PASRICHA, C. L., MONTE, A. J. e GUPTA, S. K. — Seasonal variations of dysentery bacteriophage in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930. *Indian Med. Gaz.* 1931. Vol. LXVI, n. 10, p. 547.
 - 6) — PARSRICHA C. L., MONTE, A. J. and GUPTA, S. K. — Seasonal variations of typhoid bacteriophage in natural waters and in man, in Calcutta during the year 1930. *Indian Med. Gaz.* 1931. N. 10, p. 549.
 - 7) — ASHESHOV, I. N., ASHESHOV, I., KHAN, S. and LAHIRI, M. N. — Studies on the cholera bacteriophage. Part I. General Technique. *The Indian Journal of Medical Research.* 1933. Vol. XX. n.º 4, p. 1.101.
 - 8) — HARVEY, W. F. — Bacteriophage with special reference to plague and cholera. *Tropical Diseases Bulletin.* 1933. Vol. 30, n. 7, p. 413.
 - 9) — D'HERELLE, F. — Bacteriophage et son comportement. 1926. Deuxième edition. Masson et Cie., Editeurs. p. 431.
 - 10) — BEARD, P. J. — Rôle of Bacteriophage in natural purification. *The Journal of Infections Diseases.* 1933. Vol. 52, n. 3, p. 426.
-