

TIAGO GOMES ROSENDO

**LOUIS PASTEUR – UM HUMANISTA DO SÉCULO XIX**



UNIVERSIDADE FERNANDO PESSOA – FACULDADE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Porto

2016

**Orientadora:** Professora Doutora Judite de Freitas

**O Mestrando:** Tiago Gomes Rosendo

---

Dissertação apresentada à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

**Figura de capa:** Cerimónia do jubileu de Louis Pasteur.

## **Agradecimentos**

À minha orientadora Professora Doutora Judite Gonçalves de Freitas por toda a disponibilidade e interesse em acompanhar desde o início metodológica e cientificamente este trabalho, dando importantes sugestões e efetuando relevantes correções.

Aos estimados docentes que tive na Universidade Fernando Pessoa durante estes cinco anos em que estive “emigrado” no Porto, por tudo aquilo que me ensinaram, corrigiram e me estimaram.

Aos meus queridos colegas de curso, sem mais palavras...

Ao imortal Louis Pasteur pelo reflexo da sua obra em toda a humanidade e, mormente, nos meus antepassados, em mim e porventura nos meus descendentes.



## **Resumo**

No presente trabalho procede-se a uma descrição sobre os aspetos considerados mais relevantes relativos à vida e à obra do extraordinário cientista e humanista do século XIX – Louis Pasteur. Contextualiza-se, também, em vários pontos, a sua obra com a de outros cientistas da época, enquadrando os trabalhos por si realizados em descobertas anteriores. Abordam-se os magníficos estudos feitos no âmbito da cristalografia (que muito contribuíram para a moderna estereoquímica) e da fermentação, como um mecanismo utilizado por certos microrganismos para produzir energia na ausência de oxigénio, facto totalmente inédito na época. Explica-se como Pasteur, de uma forma inteligentíssima, conseguiu pôr fim à velha teoria da geração espontânea. Refere-se como surgiu a genial ideia da pasteurização, termo em homenagem ao grande sábio, que veio a modificar toda a indústria do vinho, da cerveja e de tantos outros alimentos, estabelecendo a importância da microbiologia na indústria alimentar. Abordam-se os estudos realizados por Pasteur sobre doenças infecciosas (a pebrina, a cólera das galinhas, o carbúnculo e a raiva), incluindo os espetaculares procedimentos que conduziram à elaboração das primeiras vacinas que ensinaram aos cientistas mais novos a fabricar outras, salvando-se tantas vidas.

## **Palavras-chave:**

Louis Pasteur, Humanista e Cientista, cristalografia, fermentação, geração espontânea, vinho, pebrina, cólera, carbúnculo, raiva e vacina, França, século XIX.

**Abstract:**

In this paper it proceeds to a description of the aspects considered most relevant for the life and work of the extraordinary nineteenth century scientist and humanist - Louis Pasteur. It also contextualizes, at various points, his work with other scientists of that time, framing the work performed by them in previous findings. It addresses the magnificent studies within the crystallography (which greatly contributed to modern stereochemistry) and fermentation, as a mechanism used by certain microorganisms to produce energy in the absence of oxygen, a totally new fact at the time. It explains how Pasteur, in a very intelligent way, managed to put an end to the old theory of spontaneous generation. It refers to the start of the genial idea of pasteurization, term in honor of the great sage who changed all the wine industry, beer and many other foods, establishing the importance of microbiology in the food industry. It address the studies undertaken by Pasteur on infectious diseases (pebrina, cholera chickens, anthrax and rabies), including the spectacular procedures that led to the development of the first vaccine which taught the young scientists to manufacture others, saving so many lives.

**Key-words:**

Louis Pasteur, Humanist and Scientist, crystallography, fermentation, spontaneous generation, wine, pebrina, cholera, anthrax, rabies and vaccine, France, XIX century.

## Sumário

Introdução	9
1. A vida de Louis Pasteur	13
1.1. A infância	13
1.2. A juventude	13
1.3. A vida adulta	14
2. A obra de Louis Pasteur	17
2.1. A cristalografia: atividade ótica e assimetria cristalina	17
2.2. Fermentação	19
2.3. Investigação sobre a teoria da geração espontânea (1860)	23
2.3.1. Enquadramento	23
2.3.2. As experiências conclusivas de Pasteur e a queda da teoria da geração espontânea	28
2.4. Estudo sobre as doenças do vinho – Pasteurização (1863)	32
2.5. Estudo sobre as doenças infecciosas	36
2.5.1. A pebrina do bicho-da-seda	36
2.5.2. A cólera das galinhas	40
2.5.3. O carbúnculo do gado ovino	43
2.5.4. A vacina contra a raiva	47
Conclusão	52
Bibliografia	54

## Índice das figuras inseridas no texto

<b>Figura 1</b> – Desenho a lápis feito por Pasteur com cerca de 15 anos	13
<b>Figura 2</b> – Louis Pasteur e a sua esposa Marie Laurent	14
<b>Figura 3</b> – Depósito de tartaratos na rolha de uma garrafa de vinho	17
<b>Figura 4</b> – Cristal do sal de amónio do ácido (-) – tartárico	18
<b>Figura 5</b> – Cristal do sal de amónio do ácido (+) – tartárico	18
<b>Figura 6</b> – “Fermentos” - Leveduras ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> )	20
<b>Figura 7</b> – Acetobactérias	21
<b>Figura 8</b> – “Memória Sobre a Fermentação Chamada Láctica” – Pasteur, 1857	22
<b>Figura 9</b> – Geração espontânea – Gansos formados em certas árvores	24
<b>Figura 10</b> – Geração espontânea – Carneiros formados em certas árvores	24
<b>Figura 11</b> – Experiência feita por Francesco Redi	25
<b>Figura 12</b> – Félix Archimède Pouchet	27
<b>Figura 13</b> – Sequência de etapas das experiências feitas por Pasteur com frascos “pescoço de cisne”	31
<b>Figura 14</b> – “Estudos sobre o vinho” – Louis Pasteur	35
<b>Figura 15</b> – <i>Bacillus anthracis</i>	43
<b>Figura 16</b> – Experiências realizadas por Pasteur em Pouilly-le-Fort (antraz)	46
<b>Figura 17</b> – Vírus da raiva	48
<b>Figura 18</b> – Plano de tratamento à raiva submetido a José Meister nos dias subsequentes ao primeiro	50
<b>Figura 19</b> – Pasteur e o menino curado da raiva	51

## **Introdução**

O tema da presente dissertação de Mestrado foi escolhido, quase sem hesitação, tendo em conta o gosto pela História como ramo do saber, assim como o interesse pela Ciência nos aspetos mais diversos da nossa vida (económicos, culturais, sociais, éticos e outros), sabendo que ela é o futuro. Considera-se o tema em si muito interessante sobretudo para qualquer profissional de saúde. Além disso, é muito cativante o facto de existirem pessoas cuja vida foi dedicada em prol dos outros. Na verdade, muitos de nós devemos a nossa existência às descobertas deste grande investigador e humanista do século XIX.

O presente trabalho tem como objeto realizar uma trajetória investigativa e reflexiva sobre alguns aspetos da vida e, sobretudo, dos factos que se venham a considerar como os mais relevantes dentro da extensa obra deste cientista de génio, de forma a se conseguir retratar o pretendido, o mais fidedignamente possível, a partir da informação disponível.

Pretendeu-se também, sempre que se julgou oportuno, contextualizar a obra de Pasteur, sobretudo comparando-a com alguns aspetos da obra de outros microbiólogos da sua geração, com quem desenvolveu, nomeadamente, controvérsias, algumas vezes um pouco acirradas, contudo fundamentais para as descobertas realizadas.

Igualmente fez-se questão de referir determinados factos histórico-científicos anteriores aos seus trabalhos, sempre que se julgou importante para enquadrar os estudos realizados por este cientista, e realçar os avanços que provocou, tanto mais que sabemos que toda a ciência evolui no seguimento da passagem do testemunho de geração para geração.

A presente dissertação tem como objetivo geral: descrever aqueles que se consideram os principais aspetos da vida e, sobretudo, da obra de Louis Pasteur. No que diz respeito aos objetivos específicos planeamos caracterizar os aspetos mais relevantes da vida do investigador, descrever os estudos realizados no âmbito da cristalografia - atividade ótica e assimetria cristalina, abordar as descobertas no campo da fermentação, referir a investigação feita sobre a teoria da geração espontânea, mencionar o estudo sobre as doenças do vinho - Pasteurização; descrever o estudo realizado sobre doenças infecciosas (a pebrina do bicho-da-seda, a cólera das galinha, o carbúnculo do gado ovino e a raiva),

contextualizar a obra do investigador com a de outros cientistas; emitir uma reflexão pessoal, sempre que se julgar oportuno, sobre determinados aspetos do tema em questão.

Para podermos considerar Louis Pasteur um humanista do século XIX, tivemos de levantar várias hipóteses de trabalho sobre as suas grandes descobertas e a respectiva contribuição para o avanço científico, matéria que foi alvo de análise e de consequente procura de legitimação nas investigações por ele realizadas e por outros cientistas. Incontornável foi concluir-se, após a realização deste trabalho, o notável trabalho desenvolvido por Louis Pasteur no âmbito da cristalografia, da fermentação, do fim da geração espontânea e das doenças infecciosas, designadamente. Contribuições que tiveram um enorme impacto na posteridade científica.

Relativamente ao método e às técnicas de investigação utilizados, num primeiro momento, prospetou-se o máximo de bibliografia de referência onde pudéssemos contextualizar o tema de investigação deste trabalho. Adquiriram-se vários livros e seleccionaram-se bastantes sítios na Internet, respeitantes sobretudo a teses/dissertações que continham informação digna de interesse. Sabemos que os trabalhos científicos produzidos em Portugal e no estrangeiro sobre a obra do eminente cientista são múltiplos e variados. Neste contexto tivemos que proceder a uma selecção da bibliografia de referência tendo em conta os objectivos e a dimensão do nosso trabalho. Deste modo, considerámos pertinente a inclusão de obras sobre o trabalho científico de Louis Pasteur de autores portugueses, ainda que sejam estudos clássicos como o de M.C. Moreira, datado de 1897 e o de A. Silva datado de 1938.

Seguidamente, procedeu-se a uma leitura atenta da bibliografia de forma a analisar devidamente o material disponível e recolher os dados importantes, “rejeitando-se” tudo o que não tivesse a ver com o tema, não fosse credível, ou estivesse mal descrito. As dúvidas que, entretanto, surgiram, em determinados pontos, obrigaram a uma nova leitura de certas partes de forma a cruzarem-se dados e a interpretá-los corretamente. Recolhidos os dados, foi necessário, após interpretação dos mesmos, enquadrá-los num todo significativo a apresentar na presente dissertação.

Os diferentes capítulos desta dissertação surgem por ordem cronológica, havendo o cuidado de estabelecer as interligações julgadas necessárias.

O primeiro capítulo está subdividido em três subcapítulos, onde se abordam os aspetos mais significativos da vida de Louis Pasteur, no que diz respeito à sua infância, juventude e vida adulta.

O segundo capítulo faz referência à obra de Louis Pasteur, bem como a determinados aspetos referentes à obra de outros cientistas da sua geração ou de épocas anteriores, de forma a permitir realizar toda uma contextualização que se considera fundamental no desenvolvimento do tema deste trabalho. O segundo capítulo encontra-se subdividido em cinco subcapítulos:

1. *Cristalografia: atividade ótica e assimetria cristalina* – Pasteur, na sua ampla pesquisa sobre a ótica e química da cristalografia, consegue demonstrar que há uma interligação entre a estrutura molecular de um cristal, a sua forma e o seu efeito sobre a luz polarizada. Estes estudos foram os alicerces fundamentais da moderna estereoquímica.

2. *Fermentação*: ao estudar o problema dos produtores cervejeiros da região, Pasteur observou umas estruturas finas e compridas (acetobactérias) que apareciam misturadas com os glóbulos esféricos (leveduras), até então conhecidos, por muitos, como sendo substâncias químicas. Provou que as leveduras e as acetobactérias eram seres vivos e que estas últimas foram as responsáveis pela deterioração do mosto que havia sido contaminado por elas, transformando o etanol em ácido acético. Concluiu que a fermentação era um processo utilizado pelos seres vivos para produzir energia na ausência do oxigénio. A descoberta de que é possível existir vida sem oxigénio foi extremamente surpreendente e deslumbrante.

3. *Investigação sobre a teoria da geração espontânea*: neste subcapítulo, dividido em duas partes, procede-se ao enquadramento das mais importantes argumentações (algumas delas polémicas), provenientes desde o tempo de Aristóteles (384-322 a.C.), filósofo da Antiguidade Clássica que estudou física, metafísica, filosofia, drama, poesia..., e questionadas pelas experiências conclusivas de Louis Pasteur que originaram a queda definitiva desta teoria sobre a origem da vida. São feitos alguns comentários, baseados em evidências, em como a política e a religião influenciam, em muitas situações, o trabalho dos cientistas e, como é óbvio, as conclusões a que se chega. E o problema da origem da vida ainda suscita polémica entre os especialistas e, nalguns casos, mistério.

4. *Estudo sobre as doenças do vinho*: conforme se argumenta, é um dos vários momentos em que este cientista se revelou um gênio extraordinário, descobrindo que o aquecimento do mosto, por vários minutos, a temperaturas entre 50 e 60°C, na ausência de ar, permitia a conservação do vinho sem destruir as suas propriedades. Assim nasceu a pasteurização. E quão tem sido ela importante para a humanidade?!

5. *Estudo sobre as doenças infecciosas*: Pasteur investigou os agentes patogênicos de várias doenças, nomeadamente da pebrina do bicho-da-seda, da cólera das galinhas, do carbúnculo e da raiva, não os conseguindo isolar todos, como foi o caso do vírus da raiva (por falta de tecnologia adequada) mas, acabou por descobrir vacinas de uma forma genial, que vieram a poupar a vida a uma infinidade de pessoas e possibilitaram melhorar a economia mundial. Demonstrou que cada doença é causada por um micróbio específico - agente externo. Os seus trabalhos permitiram ainda estabelecer as noções básicas de esterilização e assepsia tão importantes na prevenção de infeções, mormente em cirurgia e obstetrícia.

## 1. A vida de Louis Pasteur

### 1.1. A infância

Louis Pasteur nasceu no dia 27 de dezembro de 1822, no leste de França, em Dole, na região do Jura, pequena cidade que se situa a cerca de 370 quilómetros de Paris. A sua mãe chamava-se Jeanne-Etiennette Roqui. O seu pai, Jean-Joseph Pasteur, foi sargento do exército francês (Armada Napoleónica) e, posteriormente, estabeleceu-se com uma fábrica de curtumes, em Arbois, nas margens do pequeno rio Cuisance, nos arredores da cidade (Matos, 1997).

Foi em 1827, tinha então Pasteur 5 anos, que a sua família se mudou para Arbois. Em 1831, com 9 anos, ingressa no colégio de Arbois, onde irá frequentar os ensinamentos primário e secundário, sem ser um aluno muito empenhado nem brilhante.

### 1.2. A juventude

Enquanto jovem, demonstrou um jeito e um gosto muito especial pela pintura. Produziu o seu primeiro desenho em pastel com 13 anos. Aos 15 anos dedicou-se a pintar retratos de familiares e amigos (figura 1) (Institut Pasteur..., 2014).



**Figura 1** – Desenho a lápis feito por Pasteur com cerca de 15 anos<sup>1</sup>

---

<sup>1</sup>Disponível em <<http://www.musee-pasteur.com/index.php?id=105&L=0%20onfocus%3DblurLink%28this%29%3B>>. [Consultado em 20/12/2015].

Foi no colégio de Arbois que Pasteur, com 17 anos, revela o seu primeiro interesse pela ciência, construindo um relógio solar. Desta fase destaca-se a especial propensão do autor para a atividade experimental.

### **1.3. A vida adulta**

Em 1839, deixa Arbois e vai estudar no Colégio Real de Besançon (localidade próxima de Arbois), onde concluiu o bacharelado em Letras em 1840, começando aí a lecionar como assistente. Todavia, o cargo de professor do colégio não era exatamente o que pretendia. Entretanto, vai viver para Paris continuando os seus estudos no Liceu Saint Louis e frequentando simultaneamente os cursos livres da universidade de Sorbonne (Matos, 1997).

Em 1842, presta exames na mais conceituada instituição de ensino daquela época de França - A Escola Normal Superior de Paris - então ligada à Escola Politécnica, a fim de se especializar em química, sendo admitido. No mesmo ano, obtém o bacharelado em ciências matemáticas em Dijon.

Continuando os seus estudos na Escola Normal Superior de Paris obtém, em 1845, o diploma de licenciatura em ciências.

Em 1847, obtém o título de doutor em ciência. A sua tese de doutoramento foi composta por duas partes: a primeira em química, sobre a capacidade de saturação do ácido arsenioso e, a segunda em física, intitulada “Estudo dos fenómenos relativos à polarização rotatória dos líquidos” (Institut Pasteur..., 2014).

Em 1849, Pasteur é nomeado professor da disciplina de Química da Universidade de Estrasburgo. Nesse mesmo ano, Pasteur casa-se com Marie Laurent, filha do reitor da universidade onde lecionava (figura 2) (Institut Pasteur..., 2014).



## **Figura 2** – Louis Pasteur e a sua esposa Marie Laurent<sup>2</sup>

Tiveram cinco filhos, nascidos nas seguintes datas, tendo três deles falecido em tenra idade, facto que foi bastante difícil para o casal (Institut Pasteur..., 2014):

- 1850 - Jeanne Pasteur (faleceu com 9 anos);
- 1851 - Jean Baptiste Pasteur;
- 1853 - Cécile Pasteur (morreu com 13 anos);
- 1858 - Marie Louise Pasteur;
- 1863 - Camille Pasteur (faleceu com 2 anos).

Em 1854, com apenas 32 anos, Pasteur deixa Estrasburgo para assumir a reitoria da Faculdade de Ciências de Lille, onde também lecionou.

Foi essencialmente a partir desta data (com 32 anos) que Pasteur se notabilizou como professor e sobretudo na sua relevante carreira científica.

A sua enorme capacidade de trabalho e obstinação, associadas a uma grande clarividência e a uma intuição experimental invulgar, fizeram dele um génio humanista que possibilitou estabelecer uma nova e melhor perspectiva de vida para a humanidade.

Como docente, preparava criteriosamente as aulas e os assuntos eram expostos de uma forma clara e bem articulada, sendo Louis Pasteur considerado pelos seus alunos como um excelente professor.

Preocupou-se em formar jovens investigadores, deixando-lhes um legado científico e as competências necessárias para a realização de futuras explorações, sobretudo em áreas inexploradas, sem lhes debilitar a possibilidade de inovação criativa no campo individual. Foi o caso do seu discípulo Emile Duclaux (1840-1904), nas investigações sobre as doenças do bicho-da-seda, a raiva e a cerveja (Institut Pasteur..., 2014).

Em 1888, no dia 14 de novembro, é inaugurado, em Paris, o Instituto Pasteur.

---

<sup>2</sup>Disponível em <<http://pariswithnancy.com/wp-content/uploads/2013/04/Marie-Pasteur.jpg>>. [Consultado em 20/12/2015].

Esta obra que encheu de felicidade Louis Pasteur aos 66 anos da sua vida, foi financiada por uma subscrição popular internacional por si conduzida, arrecadando-se dois milhões de francos.

Louis Pasteur foi o fundador e diretor (até ao fim dos seus dias) deste centro de estudos e pesquisas científicas, que dirige a sua atenção para o estudo dos microrganismos, das vacinas (fabrico em larga escala) e das doenças da humanidade (Carneiro, 1995).

Foi em 1892 (tinha Pasteur 70 anos) que ocorreu a cerimônia do seu jubileu no grande anfiteatro da Universidade de Sorbonne. Estiveram presentes, nomeadamente, o Presidente da República - Sadi Carnot, o grande cirurgião Joseph Lister (que o felicitou) e muitos docentes de diversas faculdades e membros do Instituto de França (instituição académica francesa, fundada em Paris a 25 de outubro de 1795) (Matos, 1997).

A partir do seu jubileu, Louis Pasteur começa a manifestar uma crescente debilidade física.

Pasteur faleceu em Villeneuve-l'Étang - Garches, perto de Paris, no dia 28 de setembro de 1895 com 72 anos, vítima de um derrame cerebral (Institut Pasteur..., 2014).

No funeral do famoso cientista estiveram presentes, nomeadamente, militares em grande uniforme, estadistas, professores universitários, reitores e membros do Instituto de França.

Louis Pasteur foi sepultado numa capela bizantina que se encontra no Museu Pasteur, localizada no primeiro prédio onde foi construído o Instituto Pasteur, em Paris, inaugurado em novembro de 1888 (Institut Pasteur..., 2014).

## 2. A obra de Louis Pasteur

### 2.1. Cristalografia: atividade ótica e assimetria cristalina (1847)

Foi como químico que Louis Pasteur principiou por abraçar a sua notável carreira científica ao estudar os cristais orgânicos. A cristalografia é, portanto, o seu primeiro objeto de estudo, formulando e confirmando várias teorias neste âmbito. Chegou à conclusão e demonstrou que existe uma verdadeira interligação entre a estrutura molecular de um cristal, a sua forma e o efeito sobre a luz polarizada. Diga-se que esta grande descoberta apenas foi possível através de uma ampla e cruzada pesquisa no campo da ótica, cristalografia e química. Uma combinação de áreas científicas que faziam dele um cientista completo.

Pasteur afirmava que unicamente as substâncias originadas sob a influência da vida eram opticamente ativas quando submetidas à luz polarizada e, por outro lado, se verifica precisamente o contrário com as substâncias de natureza mineral, já que permanecem inativas à mesma luz:

*“A vida está dominada pelas acções assimétricas. Pode-se prever que todas as espécies são fundamentalmente, nas suas estruturas, nas suas formas externas, funções de assimetria cósmica”* (Cardoso, 2010: 1).

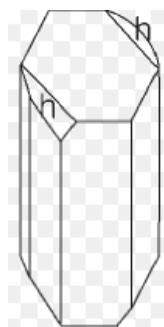
O ácido tartárico, representado pela fórmula química  $C_4H_6O_6$ , é o principal ácido presente no vinho e é obtido do tártaro, um depósito que se forma durante a fermentação das uvas (figura 3).



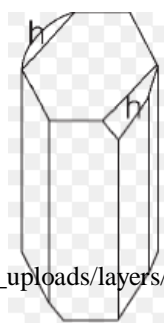
**Figura 3** – Depósito de tartaratos na rolha de uma garrafa de vinho<sup>3</sup>

Os cientistas Delafosse, Jean Baptiste Biot e Mitscherlich, em 1847, chamaram a atenção de Louis Pasteur sobre a atividade ótica dos cristais de tartarato. Mitscherlich, nomeadamente, considerava haver uma igualdade química nos vários tartaratos. Todavia, Pasteur, pelo contrário, acreditava que havia uma incompatibilidade química e começou a investigar no sentido de a comprovar. No ano seguinte, apresentou as suas primeiras descobertas sobre a assimetria de cristais (Cardoso, 2010).

Pasteur analisou as propriedades óticas do ácido tartárico e do ácido paratartárico ou racémico. Os cristais de ambos, os ácidos eram encontrados nos depósitos que se formavam nos tonéis de fermentação do suco de uva e tinham a mesma composição química. Todavia, o ácido tartárico, quando dissolvido em água, desviava o plano da luz polarizada para o lado direito. Por outro lado, o ácido paratartárico ou racémico, quando dissolvido também em água, não desviava o plano da luz polarizada. Pasteur verificou ainda que o ácido paratartárico cristalizava quando reagia com amónia, formando cristais que eram estruturalmente diferentes uns dos outros. Havia uma assimetria molecular como mostram as figuras 4 e 5.



**Figura 4** – Cristal do sal de amônio do ácido (-) - tartárico.<sup>4</sup>



<sup>3</sup>Disponível em <[http://qnint.s bq.org.br/sbq\\_uploads/layers/imagem3147.jpg](http://qnint.s bq.org.br/sbq_uploads/layers/imagem3147.jpg)>. [Consultado em 22/12/2015].

<sup>4</sup>Disponível em <[http://qnint.s bq.org.br/sbq\\_uploads/layers/imagem1528.png](http://qnint.s bq.org.br/sbq_uploads/layers/imagem1528.png)>. [Consultado em 28/12/2015].

**Figura 5** – Cristal do sal de amónio do ácido (+) - tartárico.<sup>5</sup>

Pasteur separou, um a um, como uma lupa, uma pinça e muita paciência, os cristais em dois montes e constatou que os cristais do ácido (+) - tartárico desviavam o plano da luz polarizada para o lado direito quando em solução, enquanto que os cristais do outro monte (os do ácido (-) - tartárico) desviavam o plano da luz polarizada para o lado esquerdo. Igualmente curiosa foi a descoberta de que as inclinações dos desvios terem exatamente o mesmo valor.

Os sais do ácido tartárico são utilizados como aditivos alimentares: antioxidantes, acidulantes, estabilizantes e reguladores da acidez.

Pode-se afirmar que a estereoquímica, um dos ramos da química que se dedica ao estudo das disposições espaciais das moléculas, foi extraordinariamente impulsionada pelos estudos e demonstrações realizados por Louis Pasteur.

Estas grandes descobertas, sendo a mais importante aquela em que o ácido tartárico desvia o plano da luz polarizada e o ácido racémico não, constituíram-se, de facto, como os alicerces fundamentais da moderna estereoquímica (Toledo-Pereyra, 2009).

A título de exemplo, o trabalho de Joseph-Achilles Le Bel (1847-1930) sobre o carbono assimétrico, publicado em 1874, assentou em boa parte nestas investigações de Louis Pasteur; circunstância que revela a importância da obra do autor para a imediata posteridade (Coelho, 2001).

Em 1853, Pasteur recebeu o Prémio da Sociedade de Paris de Farmácia pela síntese do ácido racémico (Carneiro, 1995).

## **2.2. Fermentação (1855)**

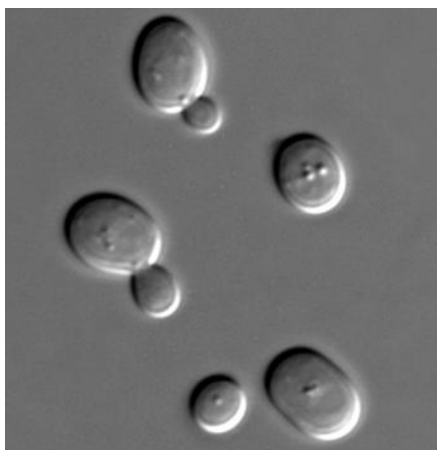
---

<sup>5</sup>Disponível em <[http://qnint.sbq.org.br/sbq\\_uploads/layers/imagem1528.png](http://qnint.sbq.org.br/sbq_uploads/layers/imagem1528.png)>. [Consultado em 28/12/2015].

No campo da cristalografia, as descobertas feitas por Pasteur orientaram-se essencialmente para o estudo do ‘velho’ fenómeno da fermentação, ao qual se devia, de uma forma indiscutível, o pão e também o vinho, onde se formavam os referidos cristais.

Pasteur questionava-se sobre qual seria, na realidade, a verdadeira natureza da fermentação.

Os cientistas da altura observavam ao microscópio umas estruturas, uns glóbulos, a que chamavam “fermentos” (figura 6).



**Figura 6** – “Fermentos” - Leveduras (*Saccharomyces cerevisiae*)<sup>6</sup>

Hoje sabemos que os “fermentos”, são por exemplo, as leveduras *Saccharomyces cerevisiae* - seres vivos unicelulares eucariotas, existentes na parte externa da película da uva (na superfície de órgãos vegetais como as flores, no intestino dos animais e em muitos outros sítios) que pertencem ao reino dos fungos e são utilizadas na produção de etanol e, nomeadamente, no fabrico do pão e da cerveja.

Mas, naquela época, acreditava-se plenamente que os “fermentos” eram umas substâncias químicas complexas, muito presentes na fermentação alcoólica que atuavam como catalisadores imprescindíveis na conversão dos açúcares em álcool.

Também foram considerados, pela grande maioria dos químicos de renome da altura (caso de Justus von Liebig, Jons Berzelius e Friedrich Wohler), como outros “fermentos”,

---

<sup>6</sup>Disponível em <<https://clubevinhosportugueses.files.wordpress.com/2014/08/saccharomyces-cerevisiae2.jpg>> [Consultado em 28/12/2015].

por exemplo, o ácido láctico e o ácido acético, substâncias químicas que funcionariam, também, como catalisadores (Institut Pasteur..., 2014).

Todavia, a verdade é que começou a surgir, por volta do ano de 1837, quem defendesse que os “fermentos” eram células vivas que se multiplicavam durante a fermentação (Charles Cagniard-Latour, Theodor Schwann e Friedrich Kützing). A comprovar esta teoria estavam os resultados experimentais obtidos a partir do aquecimento do mosto, do uso de antissépticos ou de metais pesados como o arsénio, onde se verificava que a fermentação parava completamente. Mas, esta hipótese de a fermentação estar associada a um processo causado por seres vivos, não era aceite pela maioria dos químicos de então (Berche, 2012).

Em 1856, Louis Pasteur lecionava em Lille (Faculdade de Ciências) e envolveu-se nesta polémica, iniciando as suas pesquisas sobre a fermentação do álcool. Não se conformava minimamente em aceitar como um facto consumado e indiscutível a fermentação passar por uma simples reação química (Cruickshank, 1973).

Já tinha verificado que as bactérias, em multiplicação ativa, eram as responsáveis pelo fenómeno da coagulação do leite, produzindo-se ácido láctico. Então consegue converter o açúcar em álcool através da proliferação de células de levedura, usando como fonte de nutrientes, alguns sais orgânicos e amónia (Cruickshank, 1973).

Entretanto, a fama de Pasteur começa a espalhar-se. Um industrial, que estava com dificuldades na sua fábrica na produção de álcool a partir da fermentação de cerveja, pede-lhe ajuda. Suspeitava-se que a fermentação estava a ser contaminada por alguma substância indesejável e questionava-se, se fosse esse o caso, qual seria a sua origem.

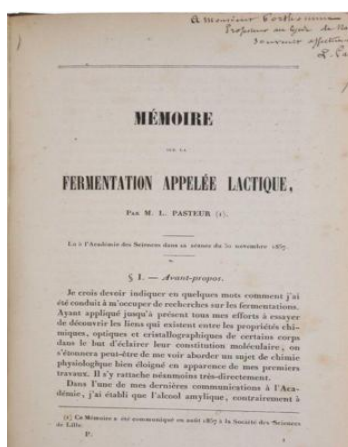
Pasteur esforçou-se para tentar descobrir a verdadeira causa deste problema e realizou vários testes experimentais na fábrica em causa. Ao microscópio observou para além dos glóbulos esféricos das leveduras (com a forma arredondada) que são responsáveis pela fermentação alcoólica (figura 6), umas estruturas finas e compridas contaminantes – bactérias (hoje chamadas acetobactérias – figura 7).



## Figura 7 – Acetobactérias<sup>7</sup>

Com o seu polarímetro verificou que o suco fermentado era, para sua surpresa, opticamente ativo. Conseguiu ainda isolar, a partir daquele suco fermentado, um componente opticamente ativo identificado como álcool amílico, substância esta que, claramente, não pode derivar da degradação do álcool etílico, sendo por isso estranha ao processo. Então concluiu que estava na presença de uma fermentação que havia sido contaminada por bactérias que poderiam estar na água, no ar ou nos aparelhos. Estes microrganismos eram os responsáveis pela deterioração do mosto, uma vez que transformavam o etanol em ácido acético (Institut Pasteur..., 2014).

Em 1857, Pasteur publica um livro sobre a fermentação láctica (figura 8) que pode ser considerado como um verdadeiro marco na teoria dos germes do futuro, onde se encontra escrito que a fermentação alcoólica é um fenômeno relacionado com a vida e a organização de glóbulos (leveduras) e não com a morte ou putrefação (Cruickshank, 1973).



**Figura 8** – “Memória Sobre a Fermentação Chamada Láctica” – Pasteur, 1857<sup>8</sup>

Concluiu que os “fermentos vivos específicos” (bactérias ou leveduras) são os responsáveis por todos os processos de fermentação.

<sup>7</sup>Disponível em <<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/a/ad/Acetobacteraceti.jpg/240px-Acetobacteraceti.jpg>> [Consultado em 28/12/2015].

<sup>8</sup>Disponível em <<http://pictures.abebooks.com/SOPHIARAREBOOKS/16909663486.jpg>> [Consultado em 30/12/2015].

Por outro lado, a descoberta por este grande pioneiro da microbiologia de que existem certas bactérias, a que chamou anaeróbicas, que só proliferam na ausência de oxigénio, foi uma revelação extraordinária, uma vez que estamos numa época em que este gás era considerado um elixir para qualquer ser vivo (Cruickshank, 1973).

De facto, é possível existir vida sem oxigénio, sendo a fermentação um mecanismo utilizado por certos microrganismos para produzir energia na sua ausência.

O sucesso destes espantosos resultados motivaram Pasteur a envolver-se no estudo da velha teoria da geração espontânea para explicar a origem da vida que perdurava há cerca de dois mil anos, desde Aristóteles, conforme adiantámos, sem ser definitivamente rebatida.

### **2.3. Investigação sobre a teoria da geração espontânea (1860)**

#### **2.3.1. Enquadramento**

O problema da origem da vida está por esclarecer há séculos, apesar das muitas hipóteses que, até aos dias de hoje, têm vindo a ser colocadas por muitos filósofos, cientistas e até doutrinas religiosas<sup>9</sup>.

Há mais de dois milhares de anos, na Antiga Grécia, o filósofo Aristóteles, acreditava fortemente que a vida podia originar-se espontaneamente a partir da matéria bruta. Por outras palavras, uma substância não viva podia tornar-se viva se existissem as condições adequadas. Esta hipótese de Aristóteles fundamentava-se na existência de um “princípio ativo” que era o responsável por originar um ser vivo, a partir da matéria bruta.

Aristóteles escreveu: *“Tais são os factos, os seres se originam não somente do cruzamento de animais, mas da decomposição da terra... E entre as plantas, a matéria procede da mesma maneira, algumas se desenvolvem de sementes, outras por geração espontânea através de forças naturais; elas se originam do apodrecimento da terra ou de certas partes vegetais”* (Abraham, 1967: 55).

---

<sup>9</sup> Uma boa síntese diacrónica do desenvolvimento teórico da biogénese pode ver-se em Wilkins, 2004.

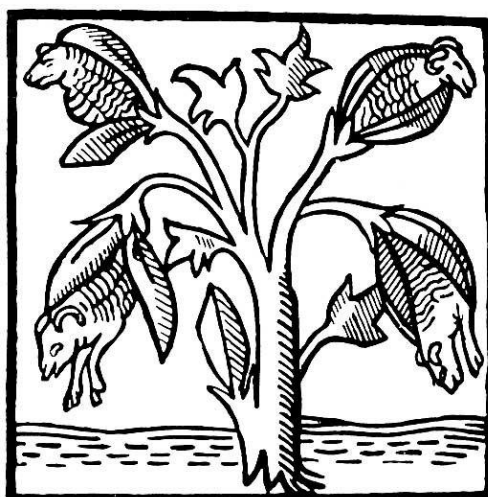
A teoria da geração espontânea passa então a ser, por muitos séculos, largamente aceita.

Por exemplo, no século XIII, considerava-se como sendo uma verdade indiscutível que certas árvores existentes à beira-mar originavam gansos (figura 9) (Abraham, 1967).



**Figura 9** – Geração espontânea – Gansos formados em certas árvores<sup>10</sup>

No século XIV, viajantes do oriente afirmavam que existiam nas suas terras umas árvores que davam uns frutos parecidos a melões, dentro dos quais eram gerados carneiros (figura 10) (Abraham, 1967).



**Figura 10** – Geração espontânea – Carneiros formados em certas árvores<sup>11</sup>

---

<sup>10</sup>Disponível em:

<<http://scienceblogs.com.br/hypercubic/files/2013/11/de0ce11fae5dc97a1219cfb45b5a7dde.jpg>>

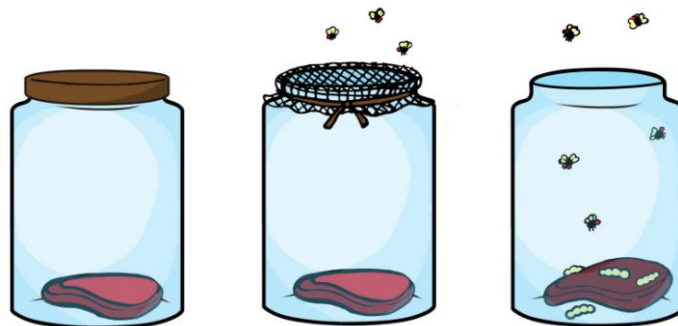
[Consultado em 02/01/2016].

No século XVI, o famoso médico Paracelso, descreveu várias observações em como se geravam animais como sapos, ratos, tartarugas e enguias, a partir, entre outras coisas, de palha, água, ar e madeira podre (Abraham, 1967).

No século XVII, um médico belga muito conceituado por ter realizado excelentes experiências em fisiologia vegetal - Van Helmont - , escreveu uma receita para gerar, em vinte e um dias, ratos-domésticos, a partir de uma camisa suja com suor humano (princípio ativo) e alguns grãos de trigo (Abraham, 1967).

Mas, foi só nos finais do século XVII com o cientista italiano, Francesco Redi (1626-1697) que a teoria da geração espontânea começou a ser devidamente posta em causa, dando-se início à moderna investigação científica sobre o problema da origem da vida.

No seu trabalho intitulado *Esperienze intorno ala generazione degl`insetti* (Experiências sobre a geração de insetos), publicado em 1668, foram feitas experiências colocando-se pedaços de carne em vários frascos, cobrindo-se com gaze alguns deles e tapando-se um para servir de controlo, como está exemplificado na figura 11 (Carvalho, 2013).



**Figura 11** – Experiência feita por Francesco Redi<sup>12</sup>

Momentos após a elaboração desta experiência, quase todos os frascos ficaram rodeados de moscas, mas elas só podiam entrar em contato com o pedaço de carne contida no frasco descoberto. Passados alguns dias, era notório que todos os pedaços de carne

---

<sup>11</sup>Disponível em: <[http://astropt.org/blog/wp-content/uploads/2014/09/mandeville\\_cotton.jpg?42842b](http://astropt.org/blog/wp-content/uploads/2014/09/mandeville_cotton.jpg?42842b)> [Consultado em 02/01/2016].

<sup>12</sup>Disponível em:

<<http://4.bp.blogspot.com/-8lQINM6Zzmg/TdFrQOOXyTI/AAAAAAAAAIc/gebEXfjuLVU/s1600/010+-+Experi%25C3%25Ancia+de+Francesco+Redi.jpg>> [Consultado em 05/02/2016].

estavam em decomposição. Contudo, apenas se registou o surgimento de larvas no frasco aberto.

Concluiu então desta famosa e convincente experiência que as larvas surgem apenas a partir do desenvolvimento de ovos colocados pelas moscas e não da carne em putrefacção, como era tradicionalmente assumido.

Contudo, não é por uma única experiência, embora com conclusões tão evidentes, que pomos de lado aquilo em que sempre acreditámos.

Em 1673, o mercador de tecidos holandês, Antony Leeuwenhoek, construiu um microscópio simples constituído por uma lente aplicada a um suporte metálico. No ano seguinte, ao observar gotas de água de poços, da chuva e de um lago, descobriu seres microscópios. Este microscópio que já permitia ampliações da imagem, com relativa nitidez, até cerca de 240 vezes, abriu o caminho à descoberta do mundo “invisível” que muitos cientistas, como Louis Pasteur, vieram a explorar. (Peralta, 2014).

Como ninguém admitia qualquer processo de reprodução destes seres tão minúsculos e numerosos que habitavam sobretudo em ambientes estagnados, voltou-se a dar importância à teoria da geração espontânea para explicar o seu aparecimento.

Em 1745, John Needham, tinha realizado umas experiências interessantes que reforçaram a origem da vida pela teoria da geração espontânea. Usou sucos nutritivos, por exemplo, caldo de galinha, colocou-os em tubos de ensaio, aqueceu-os, fechou-os para não entrar ar e voltou a aquecê-los. Passados alguns dias os sucos estavam cheios de microrganismos. Por mais que repetisse estas experiências os resultados eram sempre os mesmos. Então afirmou que a geração espontânea era realmente possível. (Abraham, 1967).

Em 1770, um padre italiano, Lazzaro Spallanzani, criticou fortemente (de uma forma quase devastadora) as conclusões de Needham, apresentando, como principais argumentos, toda uma série de experiências cuidadosamente realizadas por si. A controvérsia entre os dois foi enorme e estendida no tempo. (Carvalho, 2013).

De uma forma resumida, podemos dizer que Spallanzani, nas suas experiências colocou, em dezanove frascos, vários sucos de vegetais fechando-os e fervendo-os seguidamente

durante uma hora e deixando-os de parte vários dias. Posteriormente ao observá-los não encontrou neles qualquer organismo vivo. Concluiu assim que Needham não tinha aquecido os seus tubos de ensaio até destruir todos os seres vivos neles existentes. Então, os seres vivos que resistiram, reproduziram-se nos sucos nutritivos após o arrefecimento dos tubos, falseando os resultados. Então, Needham, reagiu com um argumento bastante simples que foi bastante convincente para a opinião pública da altura: as temperaturas muito elevadas (e prolongadas) usadas por Spallanzani enfraqueceram muito ou destruíram mesmo o “princípio ativo” (Wilkins, 2004).

Needham contestou Spallanzani do seguinte modo:

*“Nada resta a ser feito a não ser falar da última experiência de Spallanzani, que ele próprio acredita ser a única em seu trabalho todo que parece ter alguma força contra as minhas ideias. Selou hermeticamente dezanove frascos que continham diferentes substâncias vegetais e ferveu-os, fechados, pelo período de uma hora. Mas, pelo método de tratamento pelo qual ele torturou as suas 19 infusões vegetais, fica claro que enfraqueceu muito, ou talvez até destruiu, a força vegetativa [princípio ativo] das substâncias em infusão...”*(Abraham, 1967: 60).

Esta argumentação final de Needham, nos dias de hoje, parece-nos completamente descabida. Contudo, atendendo a que a mudança naquilo em que acreditamos durante muito tempo, só se faz muito lentamente, a opinião pública, depois desta controvérsia, deu razão a Needham, continuando a apoiar a teoria da geração espontânea por mais um século.

Em 1859, o médico e cientista francês Félix Pouchet (figura 12), reunindo argumentos a favor da teoria da geração espontânea, publicou uma extensa obra (“Hétérogénie ou Traité de la Génération Spontanée”) que veio a dar ainda mais credibilidade à teoria dominante (Bezerra, 2012).



### **Figura 12 – Félix Archimède Pouchet<sup>13</sup>**

Nas suas experiências, Pouchet, tinha o cuidado de destruir todos os microrganismos num dado material estudado (o que dava credibilidade) e, passado algum tempo, os mesmos (os “animálculos”) voltavam a aparecer (Martins, 2009).

Devemos fazer aqui um parêntesis para referir que a política e a religião influenciam e condicionam, em muitas situações, o trabalho dos cientistas, e nem sempre da melhor forma.

A chefiar o governo francês encontrava-se, Luís Bonaparte (Napoleão III, sobrinho do célebre Napoleão Bonaparte) – um conservador e autoritário que retomou o poder através de um Golpe de Estado e queria mantê-lo a todo o custo. Ora, a teoria da geração espontânea assim como a teoria da evolução de Charles Darwin eram vistas por Bonaparte com alguma cautela e desconfiança. Estes autores tinham uma visão anticriacionista e materialista, afastando-se, de algum modo, das ideias de criação defendidas pela Igreja Católica (eram anticlericais), facto que podia dar origem a uma certa e indesejada agitação social.

Acredita-se que esta foi a principal causa da Academia de Ciências de Paris ter criado o Prémio Alhumbert, correspondendo a um valor de 2500 francos para o vencedor, destinado a galardoar o cientista que conseguisse resolver a questão da origem dos microrganismos em infusões (Bezerra, 2012).

#### **2.3.2. As experiências conclusivas de Pasteur e a queda da teoria da geração espontânea**

Louis Pasteur, ao ter conhecimento do Prémio Alhumbert, resolveu candidatar-se já que, por um lado, como cientista que era, tinha estudado muito bem, desde Aristóteles até aos seus dias, toda a controvérsia sobre a origem da vida, assunto que o fascinava, nomeadamente, no século anterior, aquela parte respeitante à acesa argumentação entre

---

<sup>13</sup>Disponível em <[http://oncle-dom.fr/images/portraits/f\\_a\\_pouchet.jpg](http://oncle-dom.fr/images/portraits/f_a_pouchet.jpg)> [Consultado em 03/03/2016].

Needham e Spallanzani, fundamentada por experiências muito bem realizadas por ambos, tendo em conta a defesa dos seus pontos de vista.

Por outro lado, tinha consciência perfeita que a experiência e conhecimento adquiridos aquando do estudo sobre a fermentação seriam uma mais-valia enorme para este novo desafio. Havia quase uma obrigação moral (a meu ver) para que, Pasteur estudasse a geração espontânea. Por outras palavras, os trabalhos realizados, por exemplo, naquela fábrica de cerveja a pedido do industrial (onde concluiu que a fermentação havia sido contaminada por bactérias estranhas ao processo) conduziram Pasteur, de uma forma natural, a envolver-se na geração espontânea.

Mas não foi só Pasteur que se candidatou ao Prémio Alhumbert. O já referido cientista francês Félix Pouchet (e seus assistentes Joly e Musset) também tinha o trabalho adiantado e bem registado na obra que apresentou em 1859 a favor da teoria da geração espontânea e que foi bem-sucedida na opinião pública, onde se evocavam os tradicionais argumentos desta linha de pensamento (Bezerra, 2012).

Enquanto Luis Pasteur decidiu realizar as suas experiências no Monte Jura e em Montanvert, Félix Pouchet procurou fazê-las nos Pirenéus Franceses, Rencluse e Monte Maladetta, pontos todos bem altos do nosso planeta, onde os ares são puros e sem contaminação (Bezerra, 2012).

Diga-se que Pouchet foi cuidadoso e rigoroso na elaboração das suas experiências. Usou água de feno fervida nas suas infusões. Teve até o cuidado de fazer passar o ar atmosférico através de tubos contendo ácidos e substâncias cáusticas ou fortemente aquecidos. Mas, mesmo assim, os microrganismos apareciam. Daí ter concluído que nasceriam sempre “animálculos” enquanto existissem substâncias orgânicas em decomposição, água e ar (Martins, 2009).

Diga-se, em abono da verdade, que estes dois candidatos ao Prémio não tiveram por parte da Academia de Ciências de Paris, um apoio igual durante o decorrer das suas atividades experimentais, havendo uma tendência da Academia em apoiar Pasteur e considerar logo válidos os seus resultados experimentais sem analisar devidamente os do seu adversário. Refira-se que a imprensa da época também focou este facto, o que contribui para que uma

parte da opinião pública apoiasse Pouchet equilibrando, de algum modo, o apoio institucional concedido a L. Pasteur (Bezerra, 2012).

É quase certo, pensamos, que a falta de imparcialidade existente se deve às questões políticas supramencionadas, pois a Academia sabia perfeitamente que as conclusões a apresentar por Pouchet não seriam muito diferentes das publicadas na sua obra lançada em 1859, circunstância que politicamente não agradava.

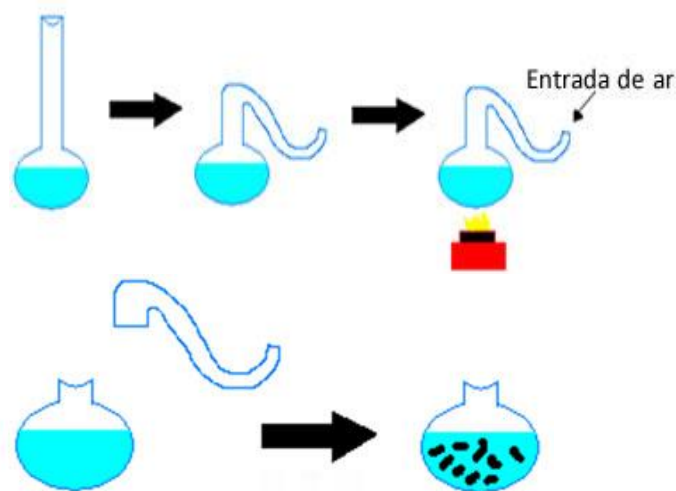
Contudo, não foi este episódio que retirou mérito aos célebres trabalhos apresentados por Louis Pasteur aquando da sua candidatura ao Prémio Alhumbert.

E ninguém poderia descrever melhor as admiráveis, simples mas completas experiências realizadas por Louis Pasteur, do que ele próprio:

*“Coloquei em frascos de vidro os seguintes líquidos, todos facilmente alteráveis em contato com o ar comum: suspensão de lêvedo de cerveja em água, suspensão de lêvedo de cerveja em água e açúcar, urina, suco de beterraba, água de pimenta; aqueci e puxei o gargalo do frasco, de maneira a dar-lhe várias curvaturas; deixei o líquido ferver durante vários minutos, até que os vapores saíssem livremente pela estreita abertura superior do gargalo, sem tomar nenhuma outra preocupação. Em seguida, deixei o frasco arrefecer. É uma coisa notável, capaz de assombrar qualquer pessoa acostuada com a delicadeza das experiências relacionadas à, assim chamada, geração espontânea, o facto de o líquido em tal frasco permanecer imutável indefinidamente (...) Parecia que o ar comum, entrando com força durante os primeiros momentos, deveria penetrar no frasco num estado de completa impureza. Isto é verdade, mas ele encontra um líquido numa temperatura ainda mais próxima do ponto de ebulição. A entrada do ar ocorre, então, mais vagarosamente e, quando o líquido arrefeceu suficientemente, a ponto de não mais ser capaz de tirar a vitalidade dos germes, a entrada do ar será suficientemente lenta, de maneira a deixar nas curvas húmidas do pescoço toda a poeira [e germes] capaz de agir nas infusões (...) Depois de um ou vários meses na incubadora, o pescoço do frasco foi removido por um golpe dado de tal modo que nada, a não ser ferramentas, o tocasse e depois de 24, 36 ou 48 horas, bolores e infusórios [bactérias] tornaram-se visíveis*

*exatamente como no frasco aberto, ou como se o frasco tivesse sido inoculado com poeira do ar” (Abraham, 1967: 60 e 61).*

O que acaba de ser exposto por Pasteur pode ser esquematizado na figura n.º 13.



**Figura 13** – Sequência de etapas das experiências feitas por Pasteur com frascos “pescoço de cisne”<sup>14</sup>

O sucesso dos argumentos contra a teoria da geração espontânea veiculados por estas convincentes experiências é devido, fundamentalmente, a dois aspetos:

1.º - Nenhuma “força vegetativa” ou “princípio ativo” foi destruído a ponto de impedir a formação de vida, já que o ar podia circular livremente;

---

<sup>14</sup>Disponível em <<http://alunosonline.uol.com.br/upload/conteudo/images/experimento-de-pasteur.jpg>> e em <<http://alunosonline.uol.com.br/upload/conteudo/images/resultado-do-experimento-de-pasteur.jpg>> [Consultado em 03/03/2016].

2.º - Os líquidos nutritivos, apesar de terem sido fervidos, continuavam a poder perfeitamente servir de meio de cultura aos microrganismos. Bastava, para isso, remover o “pescoço” do frasco e aguardar um ou dois dias.

Deste modo, foi posto um ponto final à controvérsia entre Pasteur e Pouchet e à teoria da geração espontânea, ficando claro que um germe origina-se a partir de outro germe e não de um meio inerte. Caso contrário, nas experiências de Pasteur, teriam aparecido microrganismos nos meses em que as infusões estiveram na incubadora, antes de tirar o pescoço aos frascos.

Então, em 1865, a Academia de Ciências de Paris galardoou Louis Pasteur com o prémio Prémio Alhumbert (Bezerra, 2012).

A partir daqui e até os dias de hoje, se existiu mais algum defensor da teoria da geração espontânea, o mesmo esteve em silêncio.

Contudo, no seguimento da investigação que realizei a esta parte e, em abono da ciência, é necessário referir que o desfecho desta polémica poderia ter sido diferente. Naquela altura era ponto assente que qualquer microrganismo não conseguia sobreviver após ter sido submetido a meia hora de fervura (Martins, 2009).

Desconhecia-se completamente que o feno usado nas infusões de Pouchet continha esporos muito resistentes a altas temperaturas. E foram estes mesmos esporos que germinaram e deram origem aos microrganismos que apareceram nas experiências de Pouchet. Nas infusões utilizadas por Pasteur, por mero acaso, não existem estas formas de resistência da vida.

Os membros da comissão da Academia eram todos contrários à geração espontânea, independentemente dos resultados experimentais que viessem a ser publicitados. Não se deu, portanto, a devida atenção às experiências bem realizadas por Pouchet nem, muito menos, se promoveu um verdadeiro confronto das mesmas com as de Louis Pasteur. Por outro lado, estes dois candidatos ao Prémio conheciam muito mal os trabalhos um do outro. Refira-se que cada um deles imaginava (literalmente) que o adversário estava fazendo algo de errado. Daí as várias acusações mútuas feitas e muitas delas sem fundamento (Martins, 2009).

Mas o certo é que, com os conhecimentos científicos daquela época, os resultados obtidos a partir das experiências realizadas por Pouchet, Joly e Musset, deveriam ter sido considerados como fortes evidências a favor da geração espontânea.

Então, na minha ótica, se tudo fosse feito corretamente e com a devida imparcialidade, a Academia deveria ter considerado todos os estudos apresentados como inconclusivos. E a teoria da geração espontânea teria sobrevivido mais uns anos até termos conhecimento da existência das formas esporuladas de certos microrganismos.

#### **2.4. Estudo sobre as doenças do vinho - Pasteurização (1863)**

Em 1863, a agricultura contribuía de uma forma preponderante para a economia francesa, nomeadamente, a indústria vinícola. Foi nesta mesma altura que os vinicultores, na sua generalidade, se depararam com um grave problema que não conseguiam resolver: o vinho estava a tornar-se rapidamente avinagrado apesar do cumprimento escrupuloso de todos os procedimentos que durante tantos anos originaram bons vinhos. O problema foi tão sério que a indústria vinícola francesa chegou mesmo quase a fechar pela terrível recessão existente, levando Napoleão III a intervir diretamente no assunto: ao verificar que Louis Pasteur havia ganho com mérito e lealdade às suas ideias, o Prémio da Academia de Ciências, convida-o e financia-o para estudar as doenças do vinho (Matos, 1997).

Pasteur aceitou o desafio e, a partir das vivências tidas, mormente, durante os estudos sobre a fermentação da cerveja, começou por fazer um diagnóstico paralelo entre os microrganismos existentes nos vinhos bons e nos adulterados.

Constata que a situação era de certa forma idêntica ao que tinha observado aquando dos estudos que fizera relativamente à fermentação da cerveja. Nos vinhos bons e com muito pouca acidez observavam-se, ao microscópio, praticamente só as leveduras presentes na película da uva que fermentam os seus açúcares após contato com estes, logo após o esmagamento dos cachos, para se formar o mosto. Já nos vinhos de fraca qualidade, era nítida a presença, em muito maior número, de uns seres microscópios finos e compridos – acetobactérias (Fernandes, 2009).

Pasteur afirmava também que, no fabrico do vinho, estes indesejáveis microscópicos seres vivos, com a forma de bastonete, não eram gerados pela própria bebida, mas encontravam-se no ar e contaminavam o vinho “adocendo-o” posteriormente.

Concluiu que uma seleção apropriada de microrganismos poderia garantir a produção de vinhos de qualidade consistentemente elevada.

Por outro lado, demonstrou igualmente que não há formação de vinagre sem a presença das bactérias acéticas que estão presentes, em grande número, naquele véu que se forma à superfície do vinho. Esta descoberta permitiu elaborar-se vinagres de grande qualidade.

Mas tanto o país como Napoleão III (e o próprio Louis Pasteur), não se contentavam unicamente com estas revelações. Era óbvio que se tinha de encontrar uma solução para resolver o problema.

Então, na minha ótica e após reflexão entusiasmada sobre este assunto, foi este um dos momentos que fizeram de Pasteur um génio, uma pessoa que tem capacidades intelectuais acima da grande maioria das outras. Ora vejamos o meu pensamento: conseguir destruir os micróbios indesejáveis era extremamente fácil, bastando, para isso, utilizar temperaturas à volta dos 100°C, fervendo o mosto durante alguns minutos. De facto, já se sabia há muito tempo que o calor inibia a decomposição microbiológica. Mas, estas altas temperaturas, para além de matarem também as importantes leveduras, alteravam o vinho, comprometendo o seu sabor e, assim, a reputação da indústria vinícola francesa que já não era a melhor. Então, para resolver este desafio, qualquer pessoa pensaria que o aquecimento não seria uma solução para o problema, já que a utilização de temperaturas mais baixas não destrói os micróbios. Mas, foi aqui que entrou, a meu ver, o génio de Pasteur: sabendo que só as temperaturas superiores a cerca de 60° alteravam o vinho, não era conveniente ultrapassá-las; contudo, será que o mosto ao ser aquecido e mantido durante um tempo considerável, a temperaturas próximas dos 60°C, não acabaria por matar os micróbios, já que lhes impunha um fator do meio desfavorável (a temperatura) durante tanto tempo? E se, simultaneamente, lhes impuséssemos outro fator do meio desfavorável – ausência de ar (oxigénio)? Estava encontrada a solução...

Pasteur descobre então que o aquecimento do mosto, por vários minutos, a temperaturas entre 50 e 60°C, na ausência de ar, permitia a conservação do vinho (Matos, 1997).

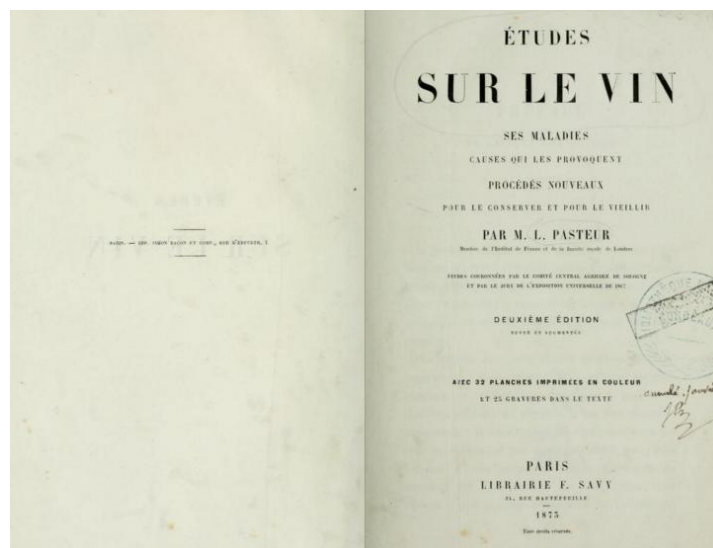
E, o que fazer relativamente à destruição simultânea das tão necessárias leveduras?

Para resolver esta situação, Pasteur deixa arrefecer o mosto e reinocula-o com mosto de umas uvas de elevada qualidade, onde estavam presentes só os microrganismos desejáveis (Fernandes, 2009).

Com estas experiências, Pasteur comprovou definitivamente que os microrganismos têm um papel de primordial importância nas fermentações, sendo possível controlar, através da temperatura, a contaminação de materiais biológicos por micróbios indesejáveis (Fernandes, 2009).

Em 1865, registou uma patente para o descrito processo usado para preservar e melhorar o vinho por aquecimento moderado em condições anaeróbicas (Institut Pasteur..., 2014).

Em 1866, publica a famosa obra “Estudos sobre o vinho” (figura 14), onde vêm discriminados os trabalhos realizados no âmbito do tema, cujas principais conclusões foram referidas anteriormente (Institut Pasteur..., 2014).



## **Figura 14** – “Estudos sobre o vinho” – Louis Pasteur<sup>15</sup>

Em suma, esta autêntica *“monografia e a demonstração do valor do aquecimento diferencial (ou pasteurização, como atualmente se designa) modificaram completamente toda a indústria europeia do vinho e cerveja e estabeleceram a importância da microbiologia na indústria.”* (Cruickshank, 1973: 13).

Foi assim que nasceu a pasteurização (termo em homenagem a Pasteur), muito difundida hoje em dia no ramo agroalimentar, por ser um bom método para preservar a qualidade de muitos produtos alimentares (como o leite), com uma repercussão extraordinária na saúde dos consumidores.

Em 1867, Pasteur é premiado com o Grande Prémio da Exposição Universal pela sua pesquisa sobre o vinho (Institut Pasteur..., 2014).

### **2.5. Estudo sobre as doenças infecciosas**

#### **2.5.1. A pebrina do bicho-da-seda**

A criação de bichos-da-seda, na primeira metade do século XIX, teve uma evolução muito grande, passando a ser bastante importante na economia francesa. No período de 1821 a 1830 produziram-se 10 milhões de quilogramas de casulos. Nos anos seguintes, esta produção foi sempre aumentando até que, só em 1853, a produção de casulos atingiu os 26 milhões de quilogramas. Pasteur afirmou que se esta evolução continuasse assim durante o resto do século, estimava que a França chegaria a ter uma produção anual de 50 milhões de quilogramas de casulos deste ser vivo. Todavia, a partir de 1853 (recolha mais abundante do século), a produção começou a decair drasticamente registrando-se, em 1865, apenas 4 milhões de quilogramas de casulos. Havia uma doença séria que estava a matar este animal e a originar o colapso da sericicultura (arte de criar o bicho-da-seda) francesa (Ferreira, 1996).

---

<sup>15</sup>Disponível em <<https://archive.org/stream/tudessurlevins00past#page/n5/mode/2up>> [Consultado em 07/03/2016].

Hoje sabemos que essa doença é a pebrina (protozoário – *Nosema bombycis*), na qual a infecção é transmitida aos ovos pela mariposa-mãe e também às lagartas, por via oral, por exemplo, pelas folhas infestadas. As lagartas doentes ficam inativas, pálidas, deixam de se alimentar e morrem. Apresentam pequenas manchas pretas na sua pele e, dentro do seu corpo, têm uns corpúsculos microscópicos descobertos e estudados por um pesquisador naturalista chamado Armand de Quatrefages de Bréau (1810-1892) que deu o nome de pebrina à doença e afirmava tratar-se de um problema hereditário (pelo que os ovos dos animais doentes deveriam ser excluídos) e epidémico. Quatrefages defendia igualmente que, para se evitar e diminuir os casos de pebrina nos bichos-da-seda, era necessário, para além de lhes proporcionar uma alimentação adequada, adotar cuidadosas medidas de higiene, já que a doença atingia no mesmo lugar um grande número de indivíduos. Devia-se ainda trabalhar em ambientes bem arejados e com culturas pequenas (Rodrigues, 2010).

Os sericicultores franceses seguiram os conselhos de Quatrefages e começaram a importar bichos-da-seda saudáveis o que, num curto espaço de tempo, conduziu a uma melhoria da situação. Contudo, a doença para além de estar instalada em França e ir contaminar as lagartas chegadas, acabou por atingir também, naquela época, a Espanha, Itália e outros países vizinhos, pelo que não se sabia o que fazer (Ferreira, 1996).

Em 1865, porque a situação era alarmante, Louis Pasteur, a pedido do Senado (e do próprio imperador Napoleão III), decidiu dedicar-se ao estudo da pebrina, tendo sido a primeira doença por si estudada (Institut Pasteur..., 2014).

Pasteur, estudou (em Alais) durante algumas semanas esta enfermidade dos bichos-da-seda, após ler cuidadosamente os relatórios de Quatrefages e divulgou os seus primeiros estudos, tendo o cuidado de referir que os mesmos se baseavam muito nas investigações feitas pelo seu colega. Nas suas primeiras observações microscópicas, Pasteur, assumiu imediatamente como premissa básica (e válida) nas investigações sobre a pebrina que os corpúsculos deviam ser considerados como um sinal físico da existência desta doença-da-mancha como também Quatrefages lhe chamava. Procurando estabelecer, logo desde o início deste seu trabalho, um paralelismo entre a pebrina e certas doenças humanas como a tuberculose, defendia que os corpúsculos não eram ser vivos animais nem vegetais, mas corpos mais ou menos parecidos com as granulações dos tubérculos pulmonares. Estas afirmações indicam que Pasteur, inicialmente (num período de quase dois anos), estava

completamente convencido que os corpúsculos não eram a causa da doença mas um efeito da mesma, pelo que permitiam diagnosticar a evolução da pebrina (Ferreira, 1996).

A primeira e principal preocupação de Pasteur era descobrir a causa da pebrina e não a cura das lagartas doentes. Quanto à contaminação dos ovos pelas lagartas, Pasteur elaborou as seguintes hipóteses:

*“Toda a borboleta que tenha corpúsculos deve dar lugar a uma semente doente. Se uma borboleta está pouco carregada de corpúsculos, a sua semente fornecerá bichos que não os apresentarão ou que só excepcionalmente os apresentarão no fim da sua vida. Se a borboleta está supercarregada de corpúsculos, desde a primeira idade do bicho, poderá o mal se acusar pelos corpúsculos ou por estes sintomas que permitem prever o mau êxito de uma ninhada”* (Rodrigues, 2010: 11).

Em 1866, depois de algum tempo de interrupção, Pasteur divulgou à Academia novos estudos, na sequência de mais cinco meses de investigação. Reafirmando que a presença de corpúsculos era um sinal da doença, acrescentou um novo dado, a esta parte: a pebrina pode existir nos bichos-da seda, sem se verificar a existência de corpúsculos. Acrescentou que a doença é hereditária uma vez que os ovos das borboletas doentes estão contaminados. Além disso pode surgir, também, de uma forma “acidental” pelo que são necessários muitos cuidados de higiene e atenção (Ferreira, 1996).

Seguidamente, Pasteur, acrescenta uma nova hipótese, com base num conjunto de evidências reunidas, por esta altura, em Alais, argumentando que os corpúsculos, para além de representarem um sinal físico da doença, são também uma fonte de infeção. Esta afirmação deve-se ao facto de ele ter manipulado poeiras (onde tinha observado, microscopicamente, a existência de um elevado número de corpúsculos), junto a animais sãos que logo adoeceram. De facto, nas experiências que realizou, ao alimentar vermes com folhas de amoreira pulverizadas com essa poeira, verificava-se, em apenas alguns dias, uma mortalidade entre 20 a 80% dos mesmos, sem haver tempo de se observar qualquer corpúsculo nos insetos mortos. Foi deste modo que Pasteur concluiu que as matérias com muitos corpúsculos são tóxicas para este verme. E acrescentou ainda que, se as folhas fossem humedecidas com gotículas de água contendo elementos líquidos ou sólidos do corpo de uma borboleta ou crisálida com muitos corpúsculos, todos os insetos

morriam em poucos dias. Mas, Pasteur continuava a defender nestes segundos estudos que os corpúsculos eram pequenos corpos incapazes de se reproduzir, pelo que não se tratavam de quaisquer seres vivos (Ferreira, 1996).

Em 1867, o químico e biólogo francês Pierre Béchamp (1816 - 1908), apresentou à Academia os resultados dos seus inteligentes trabalhos experimentais que realizara também sobre a pebrina. Após retirar corpúsculos de duas crisálidas e os ter introduzido numa solução à base de açúcar de cana, o meio ficou acidificado observando-se a inversão do açúcar. O corpúsculo havia consumido o açúcar formando-se, nomeadamente, álcool e ácido acético. Após esta experiência que durou seis meses, os corpúsculos eram os únicos organismos que se podiam observar na solução; atuavam como fermentos podendo ser considerados seres vivos (Ferreira, 1996).

Alertado pelas conclusões de Béchamp, cujo trabalho, do seu ponto de vista, lhe “parecia inconclusivo”, Pasteur realizou então mais uma série de experiências onde observou a divisão dos corpúsculos e dos seus núcleos, por cissiparidade, no estômago de bichos-da-seda (Ferreira, 1996).

Béchamp, em várias experiências, também observa a divisão dos corpúsculos por cissiparidade (Ferreira, 1996).

Ora a cissiparidade é um tipo de reprodução assexuada por separação em duas ou mais partes iguais.

Portanto, a verdade é que foi o trabalho de Béchamp que conduziu Pasteur a realizar novas experiências e a mudar completamente de opinião. Pasteur afirma então: “*os novos estudos que realizei deram-me a oportunidade de constatar rigorosamente a geração dos corpúsculos por cissiparidade*” (Ferreira, 1996: 158).

Pasteur comunica, igualmente, todas as suas novas investigações à Academia estando implícito nos seus argumentos que o mérito desta descoberta era praticamente seu. Então, Béchamp, entra outra vez em contato com a Academia, dirigindo-lhe uma carta onde lembrava que foi ele o primeiro a defender, nomeadamente, a hipótese parasitária da pebrina e a resistência feita por Pasteur, na altura, à mesma teoria.

Todavia, a Academia de Ciências de Paris põe fim a esta controvérsia, dando as honras das descobertas, mormente de que os corpúsculos são microrganismos responsáveis pela pebrina, a Louis Pasteur que publica, em 1870, toda a sua investigação sobre as doenças do bicho-da-seda (Institut Pasteur..., 2014).

Pasteur ensinou os sericicultores: sobre a forma de proteger as folhas das amoreiras da presença dos microrganismos; como podiam identificar ao microscópio os ovos saudáveis; que deviam destruir os ovos e as larvas doentes.

*“Pasteur, após trabalho aturado que passava pela eliminação dos ovos atacados conseguiu extinguir a doença, revalorizando, assim, a indústria francesa dos bichos-da-seda que se encontrava arruinada.”* (Pita, 2000: 214).

O que acaba de ser descrito neste ponto da presente dissertação é mais um exemplo em como várias descobertas científicas só foram possíveis graças ao trabalho conjunto de muitos. A partir das investigações que fiz, deixo aqui uma palavra de apreço, nomeadamente a Quatrefages de Bréau e a Pierre Béchamp que ficaram na sombra do grande génio Pasteur (quase ninguém os conhece) mas, a realidade é que todos foram imprescindíveis para estes estudos iniciais que serviram de base a uma teoria científica cada vez mais valorizada – A Teoria Microbiana das Doenças.

De facto, a meu ver, são os seres vivos “infinitamente” pequenos, muitas vezes, os nossos maiores inimigos. E muito ainda está para descobrir neste campo...

Foi unicamente após a investigação da pebrina dos bichos-da-seda que Pasteur se dedicou ao estudo de outras doenças.

### **2.5.2. A cólera das galinhas**

Por volta de 1875, em França e noutros países da Europa, uma epidemia devastadora matava as galinhas, com diarreia, em cerca de dois dias. Diferente da cólera que se manifesta no ser humano, esta doença estava a causar preocupantes problemas económicos. Sensível a este acontecimento, Louis Pasteur resolveu dedicar-se ao seu estudo.

Em 1878, apresenta as conclusões dos seus primeiros trabalhos realizados sobre a cólera das galinhas: faz referência ao programa de pesquisa seguido e ao ponto de situação respeitante ao isolamento do microrganismo causador da doença que era observado também no sangue de pássaros infetados. O meio de cultura utilizado tinha como base um caldo de galinha, sendo necessário vir a provar que o agente identificado se mantinha, desta forma, virulento no laboratório, adoecendo aves sadias, após ser injetado nelas. Diga-se que o fio condutor do pensamento foi, em linhas gerais, idêntico ao adotado para resolver o problema da pebrina do bicho-da-seda (Matos, 1997).

No seguimento destes trabalhos, Pasteur consegue isolar perfeitamente o microrganismo causador da cólera das galinhas, obtendo culturas puras do agente que uns anos mais tarde se viria a chamar, em sua homenagem, *Pasteurella multocida*. (Arosa, 2007).

Isolado convenientemente o ser vivo causador desta enfermidade, Pasteur começou a inoculá-lo em frangos saudáveis, na esperança de descobrir algo durante a observação cuidadosa da evolução da doença que pudesse dar uma luz quanto à forma de a curar ou, pelo menos, a evitar. Mas, os frangos inoculados adoeciam e morriam não havendo quaisquer progressos na resolução do problema.

Foi então que, fruto do acaso (mas, há quem afirme que nada acontece por acaso), mais uma vez a Ciência recebe uma ajuda inesperada e maravilhosa, tendo em conta a repercussão desta descoberta no futuro da humanidade – vacinação, como seguidamente se expõe.

Pasteur resolve interromper todos os seus trabalhos científicos que foram realizados em Arbois, para tirar umas férias de julho a setembro de 1879 na Europa (nomeadamente, no seu país e em Portugal). Quando retornou das férias de verão, decidiu utilizar umas culturas do agente da cólera que tinham ficado abandonadas no seu laboratório, com as quais injetou um lote de aves sadias. Verificou então que, embora os frangos adoecessem numa fase inicial, passados alguns dias começaram a melhorar recuperando totalmente. Pasteur não ficou muito surpreendido com este acontecimento: estas culturas estavam “estragadas” uma vez que tinham perdido a sua virulência e não eram minimamente fidedignas para serem utilizadas nesta investigação.

Após ter rejeitado estas culturas, Pasteur fez o que tinha a fazer: preparar culturas frescas para estar na posse de bactérias o mais virulentas possível, de forma a testar nelas os “remédios” que viesse a considerar serem passíveis de sucesso. Com o uso de bactérias enfraquecidas os resultados eram falseados, manipulados, não interessando a ninguém uma “vitória nesta luta” nas condições referidas.

Obtiveram-se as culturas frescas e era necessário injetá-las em frangos como já se havia feito várias vezes. Contudo, um colaborador de Louis Pasteur informou-o que o número de aves disponíveis era reduzido, pois as verbas eram insuficientes. Então, Pasteur, embora um pouco contra a sua vontade, resolveu injetar também, para além de novos frangos, algumas aves que tinham sobrevivido à cultura envelhecida. Para sua grande surpresa, um acontecimento científico extraordinário ocorrera: os animais que haviam sido injetados anteriormente com as bactérias enfraquecidas mal adoeceram e recuperaram rapidamente; ao mesmo tempo, os frangos inoculados pela primeira vez com as bactérias virulentas adoeceram e morreram (Arosa, 2007).

Foi então que Pasteur se lembrou dos trabalhos do médico naturalista britânico Edward Jenner (1749 – 1823). Certo dia, este médico rural foi chamado para ver uma rapariga que tinha sintomas semelhantes aos da varíola propriamente dita (smallpox), numa fase inicial: febre, dores nas costas e vômitos. Como esta temível doença era frequente naquela região, Jenner disse à rapariga que ela podia estar a sofrer desta enfermidade. Todavia, a jovem contou ao médico (de uma forma convicta) que se tinha como verdade entre as várias pessoas com quem convivia, o facto de a varíola bovina (cowpox) proteger contra a varíola propriamente dita (smallpox). E ela já tinha sido contaminada com varíola bovina (doença pouco fatal no ser humano), pois trabalhava numa vacaria, apresentando, na altura, nomeadamente, pústulas na pele muito semelhantes às que surgem nos úberes das vacas. Jenner, perante aquelas palavras seguras e proferidas com tanta simplicidade, mas, como é óbvio, sem qualquer fundamento científico, fez um inquérito naquela região, constatando, como sendo totalmente verdadeira a afirmação narrada pela jovem. Havia que esclarecer devidamente este assunto, nem que fosse por caminhos pouco éticos. Mas, no século XVIII, quase ninguém se preocupava com a ética. Então procedeu da seguinte forma: uma trabalhadora de uma vacaria (Sarah Nelmes) estava com varíola bovina. Jenner, retirou algum material existente numa pústula da mão da doente e injetou-o no braço de um rapaz de dezoito anos perfeitamente saudável

(James Phipps). Passadas seis semanas, após este rapaz ter recuperado da varíola bovina como era esperado, principalmente por ser uma pessoa jovem e saudável, o médico injeta-lhe o pus contido numa pústula de um doente que estava com varíola propriamente dita (nos dias de hoje este procedimento é verdadeiramente chocante e penso que, na altura, também teria sido, no mínimo, preocupante). Mas, na verdade, o facto é que o rapaz recuperou rapidamente ficando imune à varíola. Outras experiências foram feitas com idênticos resultados. Em 1778, Jenner publica pormenorizadamente estes seus estudos dando o nome de vacinação à técnica por si utilizada, termo vindo do latim - “*vacca*” - que deu origem a “vaca” em português (Arosa, 2007).

Com já se disse, Louis Pasteur, lembrou-se dos estudos que havia realizado sobre estes trabalhos de Jenner, ocorridos há cerca de um século. Lembrou-se e constatou que as suas importantes descobertas relativamente à cólera das galinhas eram bastante semelhantes às do seu colega. Então fez questão de o homenagear (e diga-se muito justamente, pois, mesmo assim, o nome - Edward Jenner - não é suficiente conhecido perante o contributo que deu à Ciência) chamando vacina às culturas envelhecidas (atenuadas e enfraquecidas) de bactérias causadoras da cólera das galinhas, termo este que depois se generalizou, talvez até ao fim da humanidade.

A partir destas descobertas, o pensamento original de Pasteur só se dirigia no sentido de encontrar vacinas para outras doenças infecciosas. Estava descoberta a imunidade em relação à qual Pasteur sabia muito bem que havia de ter os seus mecanismos, os seus porquês (só depois dele se começou a falar em antígenos, anticorpos,...). Mas, esta tarefa que não o preocupava era para os seus continuadores. Não se pode, nem se consegue, fazer tudo no curto espaço de tempo de uma vida humana.

### **2.5.3. O carbúnculo do gado ovino**

O carbúnculo é uma enfermidade que devasta rebanhos e contagia o ser humano há milhares de anos. Na Bíblia, no Êxodo, esta doença conhecida por “peste dos animais” vem referida como a quinta praga do Egito (século XV a. C.).

Em 1849, os médicos franceses Davaine (1812 - 1882) e Rayet (1793 - 1867), observam ao microscópio o microrganismo designado nos dias de hoje por *Bacillus anthracis* (figura 15), responsável pelo carbúnculo. Este agente foi o primeiro bacilo patogénico a



ser visto ao microscópio, pelo que tem um lugar de relevo na história da bacteriologia e da imunologia (Sartwell, 1965).

### **Figura 15 – Bacillus anthracis<sup>16</sup>**

Em 1850, os mesmos médicos inocularam amostras de sangue com esta doença em carneiros sãos, tendo depois conseguido encontrar, na corrente sanguínea dos animais inoculados, o *Bacillus anthracis* (Sartwell, 1965).

Por esta altura, o carbúnculo estava a ser também um problema muito sério, nomeadamente, em França, matando um grande número de animais e homens que lidavam e moravam perto deles, como os pastores. A doença era fulminante e estava a destruir a riqueza pecuária francesa. Já se tinham experimentado muitos remédios, mas sem qualquer êxito.

Em 1875, o médico alemão Robert Koch (1843 - 1910) consegue obter uma cultura pura do agente do carbúnculo. Ao mesmo tempo verificou que a bactéria esporulava, conservando os esporos toda a vitalidade e virulência: era só esperar pelas condições favoráveis (Sartwell, 1965).

Louis Pasteur começou por prestar muita atenção aos sensacionais trabalhos de Koch. Verificou que as pastagens bem regadas que estavam cheias de esporos e que tinham muitas plantas com espinhos, feriam os animais na boca e estes morriam. Mas havia

---

<sup>16</sup>Disponível em:

<[http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula\\_bacillus.pdf](http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_bacillus.pdf)>

[Consultado em 01/05/2016].

pastagens em que só lá tinham sido enterrados, profundamente, animais mortos. Não deviam ter, à partida, esporos. Todavia, verificava-se nelas também a contaminação do gado ovino. Então, Pasteur faz uma descoberta muito interessante: são as minhocas que trazem à superfície os esporos, lançando-os com os seus dejetos (Silva, 1938).

Pasteur possuía culturas puras do *Bacillus anthracis* responsáveis pela doença do carbúnculo também chamada antraz, obtidas pelos métodos de Robert Kock; observava sem cessar os animais nas pastagens; falava com pastores. Foi então que lhe surgiu a ideia em proceder de modo análogo ao realizado aquando os trabalhos que conduziram à descoberta da vacina da cólera das galinhas. Começou por expor ao ar, durante dias, de forma a “abandonar” culturas puras do agente do carbúnculo, para ver se este perdia também a sua virulência. Obteve alguns resultados satisfatórios nas suas experiências (Silva, 1938).

Mas, a atenuação dos bacilos que veio a considerar mais adequada era obtida por incubação a 42-43° C (Cruickshank, 1973).

Injetou primeiro cobaias, tendo verificado que as mesmas não morriam quando, posteriormente, lhes era introduzida a bactéria ativa: produzira-se imunidade. Passou a carneiros e os resultados das experiências foram precisamente os mesmos. A emoção foi, com certeza, enorme. Pasteur estava convencido que o carbúnculo ia ser dominado. Agora era necessário provar publicamente as conclusões destes trabalhos, realizando novas experiências desta vez à vista de todos. As pessoas estavam amedrontadas, desconfiadas, desanimadas, cansadas e até mesmo revoltadas perante a calamidade, em relação à qual as poucas soluções encontradas tinham-se demonstrado completamente ineficazes. Mas, Pasteur estava bem convicto da validade das suas descobertas (Silva, 1938).

Um famoso e muito influente veterinário francês chamado Rossignol (juntamente com outros colegas seus), resolveu envolver-se neste assunto. Não acreditava no êxito destes trabalhos, pelo que, mesmo antes de ver os resultados experimentais, declarou publicamente que era impossível conseguir-se uma imunização contra o antraz e que Pasteur iria ter um desastre público.

Rossignol abordou Pasteur e fez questão de ser ele a designar a localidade de Pouilly-le-Fort como local das experiências, bem como de tratar da seleção dos animais, condições que Pasteur aceitou. Posto isto, Rossignol elaborou e mandou imprimir um programa onde constava, nomeadamente, o local dos trabalhos e a data do seu início, o número dos diferentes animais envolvidos nas experiências (sessenta), a data das inoculações, os animais que escapariam e os que haviam de morrer. O programa foi largamente espalhado por toda a região (Silva, 1938).

E assim aconteceu: no dia 5 de maio de 1881, em Pouilly-le-Fort, na presença de toda a publicidade da época que, diga-se, sempre acompanhou a carreira de Pasteur, reúne-se muita gente para assistir ao início das referidas experiências (figura 16) e ver o grande sábio de Paris. A controvérsia Pasteur/Rossignol também aqueceu o acontecimento. Foram, então, neste dia, inoculados com uma cultura atenuada de antraz, 31 animais: 24 ovelhas, 1 cabra, e 6 vacas (Matos, 1997).



### **Figura 16** – Experiências realizadas por Pasteur em Pouilly-le-Fort (antraz)<sup>17</sup>

No dia 31 de maio, inoculou-se com uma cultura virulenta de carbúnculo, novamente o lote dos 31 animais vacinados há 26 dias e mais 29 animais (vacas e ovelhas) não vacinados. (Matos, 1997).

No dia 2 de junho daquele ano, observou-se, no lote dos 29 animais não vacinados que todas as ovelhas estavam mortas e as vacas muito doentes. Por outro lado, os 31 animais vacinados do primeiro lote estavam de perfeita saúde (Matos, 1997).

Rossignol e os seus colegas renderam-se perante as evidências e saudaram-no. Na rua muitas eram as aclamações e formou-se um enorme cortejo, onde iam, nomeadamente, autoridades, veterinários, médicos, notáveis da terra e proprietários de gado, acompanhando Pasteur. Das janelas ouviam-se vivas. Foi um dia esplêndido de Verão, inesquecível para toda a humanidade. A consagração de Louis Pasteur começara. De todos os lados chegavam pedidos para que curasse doenças. Mas, as suas forças já não eram muitas (Silva, 1938).

#### **2.5.4. A vacina contra a raiva**

A raiva é conhecida na Europa há muitos séculos, não sendo possível determinar, com exatidão, a época em que surgiu. Demócrito (400 anos a.C.) é o primeiro escritor que se refere à doença como algo que “incendeia” o sistema nervoso, dado que provoca delírio, fúria e violência. Aristóteles (384 anos a. C.) descreve, detalhadamente, a transmissão da raiva entre os cães a outros animais, sem referir o Homem, o que leva a crer que esta doença no ser humano seria explicada por outras razões. Mas a raiva humana só foi verdadeiramente identificada no ser humano pela Escola de Alexandria (ca. de 300 anos a. C.) que a considera como a mais cruel de todas as doenças. Celso, filósofo grego do

---

<sup>17</sup>Disponível

em<[http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula\\_bacillus.pdf](http://www.ibb.unesp.br/Home/Departamentos/MicrobiologiaeImunologia/aula_bacillus.pdf)>

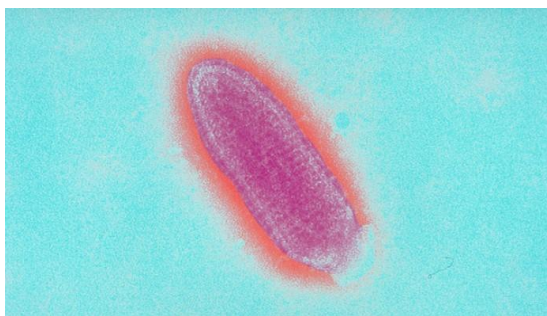
[Consultado em 07/05/2016].

século II d. C., propunha como tratamento imediato à ferida de uma pessoa mordida por um animal raivoso, a sua sucção com uma ventosa, seguida de queimadura imediata com um ferro em brasa. A partir daqui, muitos mais foram os autores, por todo o mundo, que opinaram sobre esta terrível enfermidade, mas sempre sem resolver o problema (Moreira, 1897).

No dia 11 de dezembro de 1880, Pasteur assiste à morte de uma criança de 5 anos atacada por raiva. Este trágico incidente que ocorreu no hospital de Santa Eugénia de Paris, marcou bastante o cientista, a ponto de decidir lutar contra a doença (Moreira, 1897).

Como sempre fizera, começou por estudar tudo o que havia sido publicado sobre o assunto. Arranjou cães raivosos (indiferente ao risco) e saudáveis, coelhos saudáveis, cobaias saudáveis e as respetivas gaiolas para os colocar e todo o material necessário para as experiências a realizar. Tinha como colaboradores os cientistas Chamberland e Roux. Extraiu a baba de um cão doente, injetou-a noutros cães e verificou que quase todos morriam. Ao tentar isolar a agente infeccioso responsável pela enfermidade, surgia-lhe sempre um micróbio na forma de 8 que inoculado em cobaias e coelhos os matavam sempre, mas com outros sintomas. Alguma coisa lhe estava a escapar, pois este microrganismo também aparecia na saliva de pessoas sãs. Só uns anos mais tarde, se veio a descobrir (por Talamon e Fraenkel) que este micróbio, em forma de 8, era o pneumococo (Moreira, 1897).

Mas, no tempo de Pasteur, não existia tecnologia suficiente para observar vírus (figura 17), pois o microscópio eletrónico só foi inventado em 1933, pelo físico alemão Ernst Ruska, utilizando um feixe de eletrões que atravessa os objetos a alta velocidade (Peralta, 2015).



### **Figura 17 – Vírus da raiva<sup>18</sup>**

Todavia, apesar de não conseguir isolar o agente da raiva, Pasteur sabia que ele estava presente nas amostras utilizadas. As pesquisas levaram-no a concluir que a doença estava relacionada com o sistema nervoso central e ele sabia também que o contágio se fazia, primordialmente, através do contato da saliva com feridas. Então, continuou os seus trabalhos usando o fio condutor do raciocínio idêntico ao seguido no combate que realizara contra as doenças que anteriormente tinha vencido (cólera das galinhas e carbúnculo). Um raciocínio idêntico, mas por caminhos bem diferentes e que só ele tinha a intuição de seguir. Ora veja-se a genialidade, dividida em vários pontos para sintetizar os princípios que nortearam os muitos trabalhos realizados por Pasteur e facilitar a compreensão da mensagem:

- a espinal medula de um coelho com raiva apresenta virulência constante em toda a sua extensão;
- se retirarmos a espinal medula a um coelho morto com raiva, a dividirmos em partes sensivelmente iguais, as dessecarmos e as suspendermos num lugar seco em frascos, tendo no fundo um fragmento de hidróxido de potássio (também conhecido como potassa cáustica – KOH, para manter o ar ainda mais seco), a sua virulência desaparece com o tempo, variando um pouco com a temperatura (quanto mais baixa for a temperatura mais tempo se mantém a virulência) e a grossura dos segmentos (Moreira, 1897);
- inoculando coelhos com medula com 2 dias de dessecação, os coelhos morrem quase no tempo igual ao do vírus ativo (7 dias);
- injetando coelhos com medula com 4 dias de dessecação os coelhos morrem, mas duram mais tempo;
- até ao 13.º dia de dessecação verifica-se um gradual aumento do tempo de vida dos coelhos;
- com 14 dias de dessecação a medula é inofensiva, pelo que os coelhos sobrevivem, não ficando, contudo, imunizados (Silva, 1938);

---

<sup>18</sup>Disponível em <<http://3.bp.blogspot.com/-SqxRTcA5mec/Tygb9KBeQyI/AAAAAAAAEjg/IbBZ4U8-bdY/s1600/rabies+virus.jpg>> [Consultado em 07/06/2016].

- para imunizar os coelhos (ou cães) “*começa-se por medulas submetidas à dessecação durante 14 dias, inoculando-se depois sucessivamente medulas submetidas a períodos de dessecação cada vez mais curtos*” (Sartwell, 1965: 804).

Com estes primeiros trabalhos, Pasteur ficou ciente da sua vitória, mas só comunicou os seus resultados à Academia após ter repetido as experiências em cães, utilizando, também, animais sem qualquer vacinação (para controlo) que morreram todos ao fim de, aproximadamente, 7 dias após a inoculação (Moreira, 1897).

Apresentados e confirmados pela Academia de Ciências de Paris todos os estudos realizados por Pasteur sobre a raiva, as felicitações, reconhecimentos, homenagens e recompensas foram enormes, vindas das mais altas individualidades das diversas partes do mundo.

*“A 6 de Julho de 1885 chegava a Paris José Meister, rapazito de nove annos de idade, mordido dois dias antes na Alsacia por um cão raivoso, e apresentava-se no laboratório de Pasteur”* (Moreira, 1897: 38).

Foram ter com Pasteur dois conceituados professores de medicina - Vulpian e Grancher -, pois queriam também ver o rapaz. O número e a profundidade das feridas eram no mínimo chocantes, pelo que concluíram que o pequeno Meister não tinha quase nenhuma possibilidade de sobrevivência. Perante este facto, Pasteur resolveu fazer a sua primeira experiência num ser humano, certamente com muita preocupação, embora o método nunca lhe falhara nos coelhos e cães. Sessenta horas após a mordedura, na presença de Vulpian e Grancher, debaixo de uma prega feita na pele do hipocôndrio direito da criança (região do corpo localizada sensivelmente por cima do fígado e da vesícula biliar), deu uma injeção elaborada a partir de uma medula de coelho (morto pela raiva) com 16 dias de dessecação. Nos dias seguintes o plano de tratamento foi o que consta na figura 18 (Moreira, 1897).

7 de Julho,	9 h. da m.—	Medulla de 23 de Junho.	Med. de 14 d.
7 »	» 6 h. da t. —	» » 25 »	» » 12 »
8 »	» 9 h. da m.—	» » 27 »	» » 11 »
8 »	» 6 h. da t. —	» » 29 »	» » 9 »
9 »	» 11 h. da m.—	» » 1 de Julho.	» » 8 »
10 »	» 11 h. da m.—	» » 3 »	» » 7 »
11 »	» 11 h. da m.—	» » 5 »	» » 6 »
12 »	» 11 h. da m.—	» » 7 »	» » 5 »
13 »	» 11 h. da m.—	» » 9 »	» » 4 »

**Figura 18** – Plano de tratamento à raiva submetido a José Meister nos dias subsequentes ao primeiro (Moreira, 1897: 39).

José Meister, entre a vida e a morte, lá ia sobrevivendo com os tratamentos, até que começou a recuperar gradualmente. Terminados os tratamentos e perante as evidentes melhoras, Pasteur diz à família de Meister (figura 19) que pode ir para a sua terra, pois já tinha feito tudo o que podia. Mas as preocupações do sábio ainda não tinham terminado, pelo que entrega à família da criança uma quantidade de sobrescritos selados para que lhe escreva todos os dias.

Os meses de agosto e setembro passaram muito devagar. Contudo, à medida que as cartas iam anunciando contínuas melhoras, a esperança aumentava. Até que no dia 26 de outubro de 1885, Pasteur comunica à Academia a descoberta da cura da raiva no ser humano (Silva, 1938).



### **Figura 19** – Pasteur e o menino curado da raiva<sup>19</sup>

Termino este subcapítulo transcrevendo umas palavras da dissertação apresentada (apenas 12 anos após a cura de José Meister), por Miguel Carlos Moreira, em 1897, à Escola Médico Cirúrgica do Porto e facultada a doutor Joaquim Abrantes Pereira, distinto bacteriologista e diretor do Instituto Pasteur do Porto:

*“Só quem tem estado n'um serviço anti-rabico e que assiste ás scenas commoventes de reconhecimento e gratidão dos mordidos pela sua cura é que pode avaliar e sentir a grandiosidade da descoberta de Pasteur. Quantas lagrimas de alegria têm cahido já sobre a santa memoria do grande Mestre! e bem merecidas ellas são. Eu mesmo, ao ver expandir-se o sentimento dos mordidos que procuravam a cura no Instituto Pasteur do Porto sentia-me satisfeito por ver extender-se mais e mais o culto do nosso Patrono, que sorrindo me robustecia, quando fazia as inoculações, com o bafo do seu saber e com a sombra da sua authoridade. Honra e gloria, pois, ao illustre sábio Pasteur”* (Moreira, 1897: 40 e 41).

### **Conclusão**

Louis Pasteur é, sem dúvida, um dos cientistas mais célebres do mundo, reconhecido universalmente como um Humanista, um benfeitor da humanidade, pois todo o seu trabalho foi realizado com o intuito de melhorar a condição da vida humana. As suas descobertas mudaram o mundo científico para sempre no âmbito da microbiologia e da estereoquímica, nomeadamente. De origem humilde, nada fazia prever o futuro

---

<sup>19</sup>Disponível em

<<https://www.awesomestories.com/images/user/5518245d1c97ef578b5b9497dc270004.jpg>> [Consultado em 08/06/2016].

excepcional de L. Pasteur, e a enorme projeção como cientista de relevo internacional. Observador, estudioso, imaginativo e hábil experimentador, Louis Pasteur procedeu a algumas das mais importantes ruturas com o modelo tradicional de ciência. Adepto do experimentalismo e da prática laboratorial procurou fundamentar todas as suas teses do ponto de vista prático e teórico, associando experiência e observação à relação cognitiva dos fenómenos estudados.

Para a ciência do seu tempo, as suas ideias foram ousadas, tendo os seus trabalhos sido realizados com uma clarividência extraordinária, conforme tivemos oportunidade de referir. Havia nele uma intuição experimental invulgar, uma capacidade de trabalho e um espírito de sacrifício notáveis. Era também um pouco obstinado, não querendo abandonar facilmente as suas convicções. Todas estas qualidades permitiram-lhe abrir uma nova era na medicina e na biologia, proporcionando o desenvolvimento de práticas medicinais e farmacológicas que salvaram inúmeras vidas, v.g. o caso da vacina da raiva.

Porventura o autor desta dissertação, que durante a realização da mesma teve de parar alguns momentos para pensar, por estar deslumbrado com determinados raciocínios que desconhecia do sábio, deva a sua existência às suas descobertas.

Os seus princípios revolucionários, mormente sobre a geração espontânea, concederam uma nova visão e explicação para a vida.

No campo da sua contribuição para a prática da cirurgia, L. Pasteur ao efectuar a identificação dos microrganismos e a respetiva propagação, o autor proporcionou uma nova forma de tratar os pacientes, havendo condições de controlo para uma diminuição na disseminação de doenças hospitalares causadas por inúmeros microrganismos.

Pasteur provoca uma verdadeira revolução na metodologia científica. Demonstrou, para a posteridade, que devemos utilizar a imaginação e a criatividade com liberdade de pensamento, mas nunca esquecendo a necessidade de uma experimentação e análise rigorosas. Na verdade, considerava que nunca se devia dar continuidade a um trabalho caso não se conseguisse prová-lo experimentalmente. Dava um valor extraordinário ao conhecimento existente (do qual aliás muitas das vezes partia), estudando-o e aprendendo com ele, de forma a poder estabelecer novas relações com as hipóteses que lhe iam surgindo, para encontrar as melhores respostas aos problemas que tentava solucionar.

Este também foi um dos maiores ensinamentos de Louis Pasteur, o de que toda a ciência inova a partir de um saber ancestral adquirido, ou seja o conhecimento científico é constantemente passível de revisão, e por conseguinte provisório!

O Instituto Pasteur e, nomeadamente, o Museu Pasteur nele situado, é uma das maiores homenagens ao sábio, uma vez que se trata de um enorme ícone representativo da luta da humanidade pela sobrevivência, luta esta em que Pasteur deu uma contribuição sem limites.

Em suma, a obra deste génio foi completamente extraordinária e, a última descoberta, a vacinação contra a raiva, imortalizou-o.

## **Bibliografia**

Abraham, N. B. (1976). *Biologia das Moléculas ao Homem*. São Paulo: Edart – Livraria Editora Ltda.

Arosa, F. A. *et al.* (2007). *Fundamentos de Imunologia*. Lousã: Edições Técnicas Lda.

Arroio, A. (2006). *Louis Pasteur um Cientista Humanista*. *Revista Eletrónica de Ciências*, n.º 31. [Em linha].

Disponível em <[http://www.cdcc.sc.usp.br/ciencia/artigos/art\\_31/EraUmaVez.html](http://www.cdcc.sc.usp.br/ciencia/artigos/art_31/EraUmaVez.html)>. [Consultado em 28/12/2015].

Berche, P. (2012). *Louis Pasteur, from crystals of life to vaccination*. Paris, Faculdade de Medicina de Paris Descartes. [Em linha].

Disponível em

<<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1469-0691.2012.03945.x/full>>.

[Consultado em 31/12/2015]).

Bezerra, E. C. M. (2012). *A Geração Espontânea nos Livros Didáticos: Análise Crítica na Perspetiva da História da Ciência*. São Paulo. [Em linha].

Disponível em

<[http://www.mackenzie.br/fileadmin/Graduacao/CCBS/Cursos/Ciencias\\_Biologicas/1o\\_2012/Biblioteca\\_TCC\\_Lic/2012/1o\\_SEM.12/ELISAMA\\_CARNEIRO.pdf](http://www.mackenzie.br/fileadmin/Graduacao/CCBS/Cursos/Ciencias_Biologicas/1o_2012/Biblioteca_TCC_Lic/2012/1o_SEM.12/ELISAMA_CARNEIRO.pdf)>. [Consultado em 2/2/2016]).

Cardoso, P. M. L. (2010). *Síntese de Derivados de aminoácidos: Ligandos Quirais Para Catálise Enantiosselectiva*. Coimbra. [Em linha].

Disponível em

<[https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/15301/1/TeseMestrado\\_PedroCardoso.pdf](https://estudogeral.sib.uc.pt/bitstream/10316/15301/1/TeseMestrado_PedroCardoso.pdf)>. [Consultado em 30/12/2015].

Carneiro, A. (1995). Louis Pasteur (1822-1895) Homenagem no centenário da sua morte. Boletim da Sociedade Portuguesa de Química, n.º 59. [Em linha]. Disponível em <<http://www.spq.pt/magazines/BSPQ/583/pdf>>. [Consultado em 27/12/2015].

Carvalho, E. C. (2013). *A Controvérsia Sobre a Geração Espontânea Entre Needham e Spallanzani: Implicações para o Ensino de Biologia*. São Paulo. [Em linha].

Disponível em

< <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/81/81133/tde-25062013-103329/pt-br.php>>.

[Consultado em 2/2/2016]).

Coelho, F. A. S. (2001). *Fármacos e Quiralidade. Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola, n.º 3* [Em linha].

Disponível em

<<http://qnesc.sbq.org.br/online/cadernos/03/quiral.pdf>>. [Consultado em 29/12/2015].

Cruickshank, R. *et al.* (1973). *Microbiologia Médica*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Fernandes, C. S. V. (2009). *Optimização do Projecto e Desempenho de Permutadores de Calor de Placas para Fluídos Alimentares*. Braga. [Em linha].

Disponível em

<<http://repositorium.sdum.uminho.pt/bitstream/1822/9930/1/Optimiza%C3%A7%C3%A3o%20do%20projecto%20e%20desempenho%20de%20PHEs%20para%20fluidos%20alimentares.pdf>>. [Consultado em 28/3/2016]).

Ferreira, R. R. (1996). *Os estudos de Pasteur sobre os bichos-da-seda e a gênese da teoria microbiana das doenças*. Rio de Janeiro. [Em linha].

Disponível em

<[http://www.academia.edu/1589487/Os\\_estudos\\_de\\_Pasteur\\_sobre\\_os\\_bichos-da-seda\\_e\\_a\\_g%C3%AAnese\\_da\\_teor%C3%A7a\\_microbiana\\_das\\_doen%C3%A7as.\\_FERREIRA\\_Renata\\_Rivera\\_and\\_MARTINS\\_Roberto\\_de\\_Andrade](http://www.academia.edu/1589487/Os_estudos_de_Pasteur_sobre_os_bichos-da-seda_e_a_g%C3%AAnese_da_teor%C3%A7a_microbiana_das_doen%C3%A7as._FERREIRA_Renata_Rivera_and_MARTINS_Roberto_de_Andrade)>. [Consultado em 3/2/2016]).

Institut Pasteur (2014). Louis Pasteur's biography. Paris. [Em linha].

Disponível em

<<http://www.pasteur.fr/en/institut-pasteur/history/louis-pasteur/louis-pasteur-s-biography>>. [Consultado em 26/12/2015]).

Martins, L. A. P. (2009). *Pasteur e a geração espontânea: uma história equivocada*. São Paulo. [Em linha].

Disponível em

<<http://www.abfhib.org/FHB/FHB-04/FHB-v04-03-Lilian-Martins.pdf>>. [Consultado em 2/2/2016]).

Matos, J. A. M. G. (1997), *Pasteur – Ciência para Ajudar a Vida*. Rio de Janeiro, Instituto de Química do Centro de Ciências Matemáticas e da Natureza. [Em linha].

Disponível em

< <http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc06/historia.pdf>>. [Consultado em 26/12/2015]).

Moreira, M. C. (1897). *A Raiva*. Porto: Imprensa Commercial.

Peralta, C. R. *et al.* (2015). *Páginas da Terra*. Porto: Porto Editora.

Pita, J. R. (2000). *História da Farmácia*. Coimbra: Minerva.

Rodrigues, S. P. (2010), *Galtier, Pasteur e Roux: estudos sobre a raiva (1879-1885)*. São Paulo. [Em linha].

Disponível em

<[http://www.sapientia.pucsp.br/tde\\_arquivos/18/TDE-2010-07-07T11:50:21Z-9443/Publico/Sabrina%20Pascoli%20Rodrigues.pdf](http://www.sapientia.pucsp.br/tde_arquivos/18/TDE-2010-07-07T11:50:21Z-9443/Publico/Sabrina%20Pascoli%20Rodrigues.pdf)>. [Consultado em 3/2/2016]).

Sartwell, P. *et al.* (1965). *Medicina Preventiva e Saúde Pública*. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian.

Silva, A. (1938). *A Vida de Pasteur*. Lisboa: Seara Nova.

[Em linha].

Disponível em: <http://pt.calameo.com/read/000039711f9c176260541>

[Consultado em 2/6/2016]).

Wilkins, John S. (2004). *Spontaneous Generation and the Origin of Life*. [Em linha].

Disponível em

<<http://www.talkorigins.org/faqs/abioprob/spontaneous-generation.html>>.

[Consultado em 24/5/2016]).

Toledo-Pereyra, L.H. (2009). *Journal of Investigative Surgery*. [Em linha].

Disponível em

<<http://www.sisd.net/cms/lib/TX01001452/Centricity/Domain/1297/Louis%20Pasteur%20Surgical%20Revolution.pdf>>. [Consultado em 29/3/2016].