

MARIO MENDES CAMPOS

Da Reacção de Kellogg
e da Anatoxina Diphtherica

THESE

DE LIVRE DOCENCIA APRESEN-
TADA Á FACULDADE DE
MEDICINA DE BELLO
HORIZONTE

*Guide pratique pour l'analyse
du sang de R. Douris*



BELLO HORIZONTE
IMPRESA OFFICIAL

— 1928 —

~~Pl. de flosculosa~~
~~Método Ehrlich~~
~~Phenomeno Artus~~
Anatemia **como** curativo
Surgimento sanguíneo
Edema gelatinoso
Coeficientes
Passagem de anticorpo via placentar
Processo de Van Slyke ^a dosar ácido
ácido aminado



Mét. novo Standard americano p^a prep. de toxina dipht.

p^a prod. de toxina, culturas de amostras standard são feitas em crescimento durante 7 dias em frascos de Erlenmeyer de 2 litros contendo 700 cc de caldo. Depois de 7 dias a cultura em caldo é filtrada em papel e vela.

Finalmente se recebem 28 frascos. Dois dias antes da inoculação, fazer 3 ou 4 transplantes para extra de cultura de 24 h. da cultura que dá prod. de toxina. Na véspera fazer esfregaços corados pelo frasco e registrar qualquer cultura de forma atípica. Inocular alguns tubos e incubar durante 24 horas. Examinar antes de tirar na estufa e desprezados que não tiverem aspecto característico.

Inocular os frascos, colocar um tubo de cultura e um tubo contendo conteúdo sol. de dextrina. Depois de flambear o bico do tubo, de se ramar os conteúdos de ambos os tubos num frasco. Flambear imediatamente o gargalo do frasco e por a rolha e o papel.

Depois de inocular cada frasco roletas e datar. Deixar na estufa os frascos inoculados por 7 dias a temp. de 34°C. Se a estufa é frequentemente aberta proteger os frascos da luz com um pano escuro.

No 7^o dia remover os frascos

ch
er
tica
da
tura
(Lign)
toxina
ca
f.
elli
tro
tico
a
ca
e Biol
(o)

a o quarto de filtrar tocinha e com
quando hem.
Se o caldo alvaico da pellicula nao e perfeita-
mente claro e brilhante ou n'ha apparencia
da pellicula nao e usual, fazer preparaçoes
da pellicula e do caldo subjacente. Colar
a prepido caldo pelo frasco e a pellicula
com a gul acetylbeno. Registar todo frasco conta-
minado.

Apistar a cada frasco o preservativo:
70 cc. de sol. de phenol a 5% p^a dar
uma vol. aproximada de 0,5%.

Misturar, rodando o frasco, depois deixar a
pellicula depositar-se.

Dessempar o fluido que sobrepae em garrafas esterili-
zadas de 8 litros.
Filtrar, de preferencia no ^{mesmo} dia

A filtraçao faz-se 1^o em polpa de papel com
fundo de Buchner p^a remover a pellicula
e depois um filtro de vela. A filtraçao
e feita em sala propria formada p^a evitar
raios solares. Dois dias antes da filtra-
çao esterilizar garrafas de 4 a 8 litros. Um dia antes
da filtraçao, esterilizar no autoclave um
filtro de vela (2 por 10)

Mario Mendes Campos

DIPLOMADO PELA FACULDADE DE
MEDICINA DE BELLO HORIZONTE.
MEDICO DA INSPECTORIA DE DEMO-
GRAPHIA E EDUCACAO SANITARIA
DO ESTADO

met. hod. de Ehrlich
" " Römer

~~Spolverini
Fleming e Hopkins~~

Associação hipolitica

Mecanismo da flocculacao

~~Occao do formal sobre a toxina~~

~~Permeabilidade timbar do rato (Fagin)~~

~~Met. hod. de Jolly p. det. o pH da toxina~~

~~Dama gdaturoso~~

~~Coefficientes quinquennales~~

~~Toluol~~

~~Prep. da toxina dift.~~

~~Sig. no uso (Sordelli)~~

~~Met. hod. colorimetrico~~

~~de det. pH~~

~~Met. hod. electrolitico~~

~~Processo de Roux p. a~~

~~inunissar ca
vallos~~

Calculo a ver quantos
N. de Kellogg se pode fazer
uma coltura com a toxina
Da Reacção de Kellogg e da Anatoxina Difterica

Passagem de
anticorpos na placenta
por ~~Barnes~~ ~~Barato~~ sobre
a difteria no ~~priz~~
T.A.F. de Schmidt

livre docencia apresentada á Faculdade
de Medicina de Bello Horizonte

Levar p. o concurso o livro:

~~Det. o L + dama toxina~~

~~Det. S.M.M. " "~~

~~exp. de Chalapina~~

~~controlando os exp. de Madison pag 39~~

Wells
Christensen
Calmette
e os cadavros
Lemos Monteiro

BELLO HORIZONTE
1928

Toluol?

anat. como curativo (archivos de Biol)

Phenomenon de Arthus

Inunissar cao do lactente (caderno 32)

ergotulina - insolvel em agua em seu ponto
isoelectrico em agua polve de 12.1.
Precipitada pelo sulf. de amonio
ao terço e pelo sulf. de sódio a 1/2%
& contém phosphorus.

Pseudo-ergotulina - insolvel na agua em seu ponto
isoelectrico, precipitada pelo
sulf. de amonio a meta
saturação e pelo sulf. de sódio
a 20% e contém phosphorus.

3 proteínas do uró

Prima - sulf. crystallina, não é
precipitada pelo sulf. amonio
mas saturado nem pelo
sulf. sódio a 20%.

a ergotulina, a pseudo. e a prima
se comportam diff. como antigens
diff. Cada um delle sensibiliza
especificamente e é toxico q^o
animas sensibilizado com
uró total e com o antigen
corresp. Os antigen anti
qualisam após periodo de
sensibilização differentes.

Hypodermia na diphtheria maligna. (signal de
virescence supra
bancal)

Serebroulet e Piernot viram *Hypodermia* (0,8759, 0,8771
0,8777 - 0,8779 0,8774) em cam de diphtheria

Radioelectrico da proteina
e a concentracao critica dos ions H
na qual os particulos nao
vao p^o o anodo nem p^o o cathodo,
e nao podem combinar nem

Queremos, na primeira pagina deste trabalho, accentuar que a escassez de material (anatoxina e soro-padrão antitoxico) e a falta de animaes de experiencia contribuíram uma e outra coisa para limitar e restringir a amplitude das investigações experimentaes, em cujo programma desejamos incluir especialmente a reacção de flocculação para determinar o valor antigenico da anatoxina e a methodica verificação da curva de immunidade dos animaes inoculados, pela dosagem systematica da antitoxina.

Todavia, queremos desde logo assinalado que a finalidade dos nossos trabalhos não visou uma prova global e numerica do valor prophylactico da anatoxina de Ramon, justamente porque tal objectivo se enquadraria melhor dentro da esphera mais especializada de hygiene publica.

Temos, agora, o decidido empenho de completar muito em breve esta serie de experiencias, sobremaneira suggestivas, de palpitante actualidade, que transcendem os limites da especulação doutrinaria assumindo uma feição eminentemente pratica da medicina preventiva.

Confessamo-nos particularmente grato á generosidade do Prof. Carlos Chagas e Drs. Alcides Godoy, Afranio do Amaral e Lemos Monteiro que forneceram o material para o nosso trabalho de laboratorio.

Destacamos, igualmente, os nossos melhores agradecimentos ao Prof. Octavio Magalhães, espirito de viva irradição mental, sob cuja orientação technica pudemos realizar a parte experimental de nossos estudos no Instituto «Ezequiel Dias».

O nosso trabalho versa principalmente sobre a pratica da reacção de Kellogg e o valor da anatoxina de Ramon na immunização experimental.

com o anodo
nem com
os lases
No ponto
isoelectrico
a proteina
emte nao
ionizada.

medios 295 m
Curtis 223 m

anginae affectam o appn in ago est
medios, Or B. curtis enroultan de
em 3% do can

Para completar o estudo de laboratorio approu-
ve-nos effectuar um limitado numero de vaccina-
ções humanas pela anatoxina, comprovando a mar-
cha do processo immunologico pelas reacções de
Kellogg feitas previamente e ulteriormente ás in-
jecções de vaccina. Embora não fosse nosso intui-
to acumular estatisticas de vaccinações, em rela-
ção mais directa com a questão sanitaria da diphteria,
o numero de individuos vaccinados seria muito
maior si não tivessem escasseado, á ultima hora,
os materiaes necessarios á pratica das reacções.

O estudo da diphteria, reflectido e examinado
através de todas as acquisições scientificas, no do-
minio dos laboratorios de pesquisas experimentaes
e no illimitado campo da observação clinica, ostenta
um dos capitulos mais fecundos e brilhantes da
medicina scientifica.

Desde Samuel Bard (1771) que affirmára a
identidade da angina maligna e do croup até ás
ultimas conquistas no terreno da immunologia di-
phtherica, uma serie de sabios, partindo de inducções
racionaes e investigações technicas, permittiu á
sciencia medica a edificação de um corpo de doutri-
nas da mais alta valia theorica, ao lado de noções
praticas definitivas, no dominio da therapeutica
especifica.

Realçaram-se, dentre outros, os nomes de Bre-
tonneau, que affirmára a especificidade da molestia,
Klebs-Löffler que estabeleceram a physiomorpho-
logia do bacillo diphterico, Behring, Roux e Yer-
sin que firmaram os fundamentos da sorotherapia.
Os trabalhos de Ramon e seus collaboradores sobre
a anatoxina vieram esclarecer o problema da immu-
nização antidiphterica, resolvendo-o, ao que parece,
de maneira difinitiva.

Do que se sabe de
Behring e Roux
do que se sabe de
Klebs-Löffler, com
caracteres
de lactado, em
uma cor ou afilado,
na ponta, em cor
laeille e quando se
mostra e ramifica
em certos cultivos
B. D. (Corynebacterium
diphtheriae)
B. D. Löffleri (Cory-
nebacterium commune)
B. Curtisi commune
Corynebacterium culis
commune)

A diph. sem falsas membranas ali se sobretudo
o lactente alado de 5 mes.
A ma expressa mais frequente é o coryza (imitat)

Soro sanguineo de Löffler: 3 partes de soro
e 1 parte de caldo de vitella levemente
alcalino e glicosado a 1%.

Cultura

Em vaso coagulado as colônias aparecem após 18 h. de cultura e são bem cresidas, após 24 h., como peg, murchas do tamanho de uma calvea de alface e redondas, brancas ou pardas, de superfície seca.

Em caldo de vitella peptônica formam-se grânulos ao longo das paredes e no fundo do tubo, o meio fica claro e raramente turvo. Ao calor de 24 a 36 h, formam-se 1 vez na superf. do caldo, o qual cai ao fundo

O B.D. não passa p^a o meio (sem cultura sempre neg)

O B. Park n^o 8 é conservado em tubo de roseo coagulado, ao abrigo da luz, na temp. ordinária, há mais de 30 anos.

X 1

O B. de Hoffmann é curto, 1 a 1,5 μ , mais grosso que o B.D. forma o Gram + fortemente que o B.D. as suas colônias no roseo coag. são transparentes, húmidas, em caldo não forma vez na superf. Não faz fermentar nenhum açúcar.

anat. Pathol. da falsa membrana

tem de 3 zonas:

- 1) zona do germão, a + superficial, B.D. multivida e a prophytes de base
- 2) zona das células mortas, rede de fibrina de filamentos muito finos, dissociados deixando-se para trás elementos cell. pouco abundantes (cell. epiteliaes, seus núcleos, e leucocytos regenerados)
- 3) zona de cell. vit^{is} ou alteradas - reliculo espesso de fibrina de largos traços, bem corada com leucocytos, hemalías e cell. epiteliaes

Tipos de Bacillo difteri

det. pela aglutinação

W. Scott, (1923) obteve soro aglutinante antidifteria pela imunização de coelhos, de 3 a 6 meses de duração.

Chega-se a uma taxa de aglutinação a 1:1600 e a amostra homologa atinge-se de 4 a 6 meses a 1p. 2000.

A diferenciação dos tipos só pode ser feita no poder de aglutinação.

Estes exames 265 amostras provenientes de difteria aguda (82), com 45 contos (45) portadores não são. Elas foram repartidas em 8 tipos para cada um dos quais o soro foi preparado.

No grupo dos difteria aguda, encontra-se sobretudo o tipo III e IV. Nos comitantes o tipo VII e VIII.

O B. Park 8 é a amostra que serviu para definir o tipo I. Os 6 tipos são virulentos e toxigenos, o VII e VIII não o são.

As amostras não virulentas se acharam quase todas em partes de bacilos. Todos os representantes do tipo VIII são longos. Os tipos IV e V tem formas longas e curvas, culturas pobres, solúveis e leve. Parece que certos tipos predominam numa epidemia

Admittem que os pseudo-difteria são os próprios difteria
atenuados: Roux, Jernin, Comrouf.
Admittem que são diferentes: Hoffmann, Loettler etc

A difteria
o lacto
a ma

Soro
de
al

Typus de B. D.

Pela fermentação se distingue o Typus de B. D.

	Maltose	Dextrina	Glycerol	Lactose	Sucrose
I) Typus americano —	+	+	-	-	-
#) " Durand —	-	-	-	-	-
III) " Nodet —	+	+	+	+	-
IV) " Benjamin —	+	+	+	+	-
V) " Sirheaux —	+	+	+	+	-

A Diptheria em Bello Horizonte

Este capitulo não visa um estudo epidemiológico da diptheria.

Limitamo-nos a publicar, aqui, tres graphicos elucidativos; (*) o primeiro comprehende a curva da diptheria no periodo de 1911 a 1925, exprimindo simultaneamente os coefficients annuaes e quinquennaes de mortalidade, em 100.000 habitantes.

O segundo indica os coefficients quinquennaes de mortalidade em Bello Horizonte e outras cidades nacionaes, de 1917 a 1921 e de 1922 a 1926.

O terceiro graphico revela os coefficients de mortalidade de nossa capital comparados aos de outras cidades, em 1920.

E' sabido que o cyclo epidemico da diptheria (1) se caracteriza essencialmente pela regularidade de sua propagação que desenha uma curva de duração multi-annual.

Aos surtos epidemicos precede sempre um estado de endemia que póde permanecer latente ou de area reduzida durante muitos annos.

Os focos endemicos vão se propagando e progressivamente, lentamente, começa a linha ascensional da curva epidemica que toca ao seu apice depois de alguns annos; attingido o auge da curva, não tarda a desenhar-se a linha descendente que exprime com regularidade ou pequenas irregularidades intercurrentes, o declinio lento da invasão epidemica até ao estado primitivo de endemia.

*) Devemos estes graphicos á gentileza do academico Pedro de Almeida Magalhães.

1) DOPTER ET LAVERGNE: Epidemiologie—1925.

Em Boston a Diphtheria foi epidêmica em 1800-01, 1826, 1880, 81, 89-90, em N. York: 1876, 78, 1880-82, 1888-88, 1895-94.
 Em Chicago em 1866-65, 1867-70, 1876-78 etc.
 As epidemias nas Índias a 3 países: honam, bacillo, ueno (amun pecco).

Merecem apontados, neste particular, os dados de Rosenau (2) pelos quaes se verifica a periodicidade assáz regular do cyclo das epidemias causadas pelo bacillo de Loeffler, nas grandes cidades norte-americanas.

O primeiro graphico illustra perfeitamente a curva de propagação da diptheria, com a sua linha ascendente, o periodo de culminancia relativamente demorado, succedido pelo declinio até algarismos pouco elevados, como os que se verificam desde alguns annos, conforme os dados que possuímos na Inspectoria de Demographia Sanitaria.

Este periodo latente não significa a impossibilidade de um surto epidemico originado dos casos endemo-esporadicos, sempre existentes.

Não ha muito, Deicher, Agulnik (3) e Friedeman (4) assignalaram o incremento da diptheria em Berlim, depois de alguns annos, durante os quaes a molestia, pelo seu character e sua extensão, não apresentára grande interesse no ponto de vista clinico e sanitario. Desde 1925 e sobretudo em 1926, elevaram-se consideravelmente os coefficients de morbidade e lethalidade e a molestia assumiu em alguns mezes de 1926 uma feição particularmente grave, acarretando alto percentual de obitos. Entre nós, como aliás em toda a parte, mesmo na America do Norte onde o serviço de estatistica vital representa uma das mais cuidadas organizações de hygiene publica, não temos ainda elementos para estabelecermos um quadro dos coefficients de morbidade da diptheria, ou de outras quaesquer molestias infectuosas e toda a tentativa que se quizesse fazer em tal sentido não teria a necessaria exactidão numerica.

Dose de soro

Bote do Hospital
 I Blegdam de Cope
 nhague, diz que
 em caso de varicella
 a mortalidade era
 de 50%. Augmentava
 or doses, reduzua
 mortalidade de 22%.
 Park e Briggs estudaram
 a dose de antit.
 necessaria p.e. palato
 a vide de uma es
 lencia previamente
 injectada com 10
 di. mínimas mortas de
 toxina, encontraram:

- 10' de pinha inj - 5 u.a. - 1925.
- 20 " " " - 200 u.a.
- 30 " " " - 2000 u.a.
- 45 " " " - 4000 u.a.
- 60 " " " - 5000 u.a.
- 90 " " " - morre apesar de antit.

Di u at
 uara
 o que
 elerie
 i, 945
 atade
 e cor
 e pou
 ill'rc
 uis e
 certo
 am n
 D. (co
 hteria
 de Hoff
 acbrin
 .cutis
 ptebaed
 umu
 e dig
 lac
 a m
 soro
 f
 a

São combinados complexos de ácidos amino

Det. do grupo sang. dum individuo

- 5% pertencem ao grupo I (seu soro não aglutina nenhum gl. vermelho humano, seus hemáticos são aglutinados pelos soro dos grupos I, II e III.)
- 40% pertencem ao grupo II (seu soro aglutina os hemáticos dos grupos I, II, seus hemáticos são aglutinados pelo soro dos grupos IV e III.)
- 10% pertencem ao grupo III (seu soro aglutina os gl. vermelhos dos grupos II e III, seus hemáticos não são aglutinados pelo soro dos grupos II e IV.)
- 45% ao grupo IV (seu soro aglutina os glóbulos vermelhos dos grupos I, II e III, seus hemáticos não são aglutinados por nenhum soro.)

é a clarif. de lbrs, adaptada em França.

Det. do grupo sang. dum indiv.

— Si se põe 1 gta de sangue com os soro dos 4 grupos, obtém-se re de aglut. p^a caract. o sangue examinado.

Prep. e conservação dos soro II e III como

reactivos p^a a det. dos grupo sang.

Retira-se 20 cc. de sangue a um indiv. já coarado como pertencente ao grupo desejado, decaula-se o soro após coag. e opita-se

citrate de sodio 1 gr^o
Osmiosol a 10% 1 gtt

é possível det. minus por meio dos soro II e III o grupo sang. a' que pertence o sangue examinado.

Pesquisa extemporanea da aglut. por um gl. branco

o olho nu, tecnica de Beth-Vincent, quando si tem soro II e III.

Sobre 1 lamina de vidro, deposita-se a' vez 1 gtt de soro II e a' direita 1 gta de soro III. Por picada do dedo tira-se 1 gta de sangue do indiv. Com 1 bastão lavar 1 gtt de sangue no gta de soro II e mais tarde com o bastão. Fazer o mesmo p^a o soro III, mudando o bastão. Quando a mistura fica igualmente turva, imprime-se a lamina 1 de grãos de alamp^o p^a impedir a sedimentação dos hemáticos. Ao fim de 5 minutos, examinamos a lamina sobre um fundo claro. Si ha aglutinação, ha precip. dos hemáticos em grumos que nadam no sero do liq. claro. Quando não ha aglut. o liq. fica límpido.

Resultados:

Se o sangue é aglutinado pelo soro II e III	—	sangue do grupo I
" " " " pelo soro III e não sendo pelo II	—	" " " " II
" " " " pelo soro II e não sendo pelo III	—	" " " " III

Acção das inj. de cultura sobre os animais

Coelha. Inj. subcut.

A inj. subcut. de 1/2 a 1cc. de cultura de B.D. de 24 h. det. edema local com prolif. dos bacilos nos 13 horas. Temp. sobe, pellos ericados, dyspnœa, estupor, morte em 24 a 62 h. Conforme a dose
Na necropsia: edema tumork. Viscerz congestas, derrame pleural, nos tuda gravos. hyp. suprari. ganglios hypert. Segumento sup. do intestino congestionado.
Alguns citam paralyis tardis, outros nada a veram.

Coel. Inj. peritoneal. Menos severa que sob a pelle, morte em 4 a 10 dias. Derrame perit. com bacilos. Lesões visceras e meninges.

Coelho. 8' + resistente que a coel. a inj subcut.

a inj. subcut. de 2 a 4 cc. det. a morte em 4 a 5 dias.
Edema local, ganglios regionaes congestionados, fígado nullo, fígado com deg. gordurosa, pulmões tumores congestos. A inj. perit. no coelho e' menos severa.

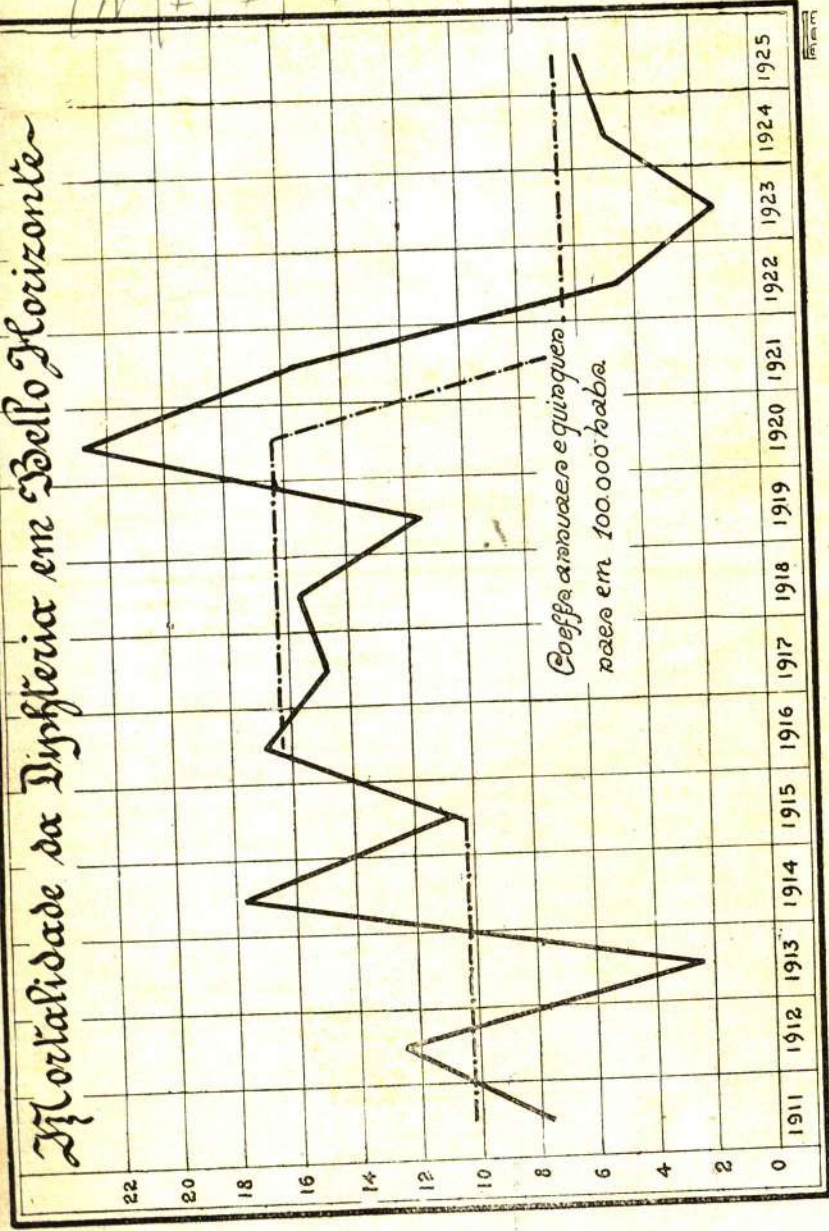
Recolha de Bact. Vincent para simplificação por Joubert e Girard, ni não se tem uso dos grupos II e III
Coher do futuro receptor alguns cc. de sangue e derramar num tubo secco de 3 a 4 cent. de altura. Coagular.

Coher rosoliforme seringa de 2 a 5 cc. aspirar citrato de sodio 1/10% e faz-se mover o embolo p' molhar bem a seringa em a sol. de citrato. ~~Aplica-se em~~ Aplica-se em ~~pegete.~~ Aspirar o soro que no contacto do liq. adquire propr. colitica. 2 gotas de soro são p'nts sobre 1 deriv. de lãmmis sem seccas.

sem perder tempo, colher picada de do do doador, 1 gota de sangue que é transportada sobre a agulha e misturada a' gota de soro. Misturas rapidamente. No caso em que não ha aglut. tem-se o color. rosca homogem e a homogeneidade persiste durante a dessecacao da gota. Si ha aglut. a dessecacao e' quasi immediata, tem-se a impressão de 2 liquida não misciveis.

Recolha do doador
a pratica da transf.

Mortalidade da Difteria em Bello Horizonte



kaution

	I	II	III	IV
I	0	0	0	0
II	+	0	+	0
III	+	+	0	0
IV	+	+	+	0

Corrigo de Janiky sobre grupo 1911

Graphico nº 1

Presp. de toxina seg. Roux e Jiroin

Balões de Torulach com 500cc. de caldo de vitella numa cambucha de vidro
de espessura. Coloca-se num balão de algodão ~~na~~ tubuladura
lateral, Balão esterilizado autoclave. Após resfriar, semear
pela tubuladura superior e levar a estufa a 37°, começando
a cultura e tirar o calor, na 24.ª hora, organizar o dispositivo
1.º passo, a corrente de ar na superfície da cultura. Colocar
na tubuladura sup. acima do tanjão de algodão, um
tubo de folha de brassica branco, num tubo que se
e levam a ... Ligeiramente a tubu-
ladura lateral do balão a fração de água, e de modo que
esta fracção, o ar atraído p.º o balão a brasa
e fresco com a água, humedece a água
e vai passar na superf. da cultura. Ao cabo
de 3 a 4 semanas, a cultura s' eleva na tampa
e se no fundo do balão que um depósito de
germes, e na superfície um ar formado
pelos bacillos mais novos. a cultura s' filtra de
novo. Chamberland

Processo Martin

Caldo de vitella peptonizado. Após 24 h. na estufa a 37°
num vaso se forma na superfície, aumenta no
2.º dia, no 3.º dia cae ao fundo do vaso. No
4.º dia seguintes novo vaso se forma que cae p.º o 6.º dia.
Halitice levante no 8.º dia a toxina atinge o
máximo, filtrar pela Chamberland

Vela Chamberland

Vela Berkefeld

Seg. MAYER e FALCK (The J. of Immunology n.º 4-1907)
as toxina e a antitoxina são colóides, amfotericos e

se são proteínas. Seg. FIELD e TRAGUE são colóides proteicos
que migram p.º o cátodo, tanto nos soluções acídicas
como alcalinas. Se isto fosse verdade, seria um meio
de separação da toxina e da antitoxina, das proteínas, visto
que estas em sol. alcalina migram p.º o anodo.
A antitoxina migra p.º o anodo nos soluções de pH 13,5
9,0 8,2 e 6,0 e p.º o cátodo nos sol. de
pH 4,6 e 3,5.

Baldo MARTIN: Maceração de carne de vitela, rita carne, completamente superior de
gorduras, tendões, aponeuroses. A carne picada é misturada
com o dobro de seu peso de água, aquecida a 37º, durante
20 dias horas.

Devido à natureza, por causa de fermentação espontânea, a maior
parte da carne fica na superfície do líquido a guisa de chapéu, de que
se desentramam sem exporem. O liq. constitui a maceração
de carne.

A sol. de peptona é prep. por meio de estomago de porco, lavado
e picado, misturado com água acidulada aquecida a 50º na seq.
prop.

Água a 50º ————— 1000 cc
Estomago de porco ————— 200 grs
HCl ————— 10 cc.

A água é mantida a 50º durante 15 a 18 horas. Depois
desso aquece-se a 100º p.º destruír a pepsina em excesso e de-
se-se separar. O liq. ácido é uma sol. de peptona a 4%,
que clarifica-se pelo resfriamento. Deantando 2 ou 3 dias depois p.º uso,
prep. o caldo, neutralizar a sol. de peptona com bicarbonato
de sódio a quente, como indicador o papel de tornassol. Filtrar
a maceração de carne é misturada em parte igual com

de sol. de peptona neutralizada, a temp. de 100º depois filtrar em
etapas. O liq. filtrado, mantido a 80º p.º alcalinizado com uma
sol. de soda (phenolphth. indicador) até o início da viragem.
caldo alcal. visado é filtrado em papel Chardin aquecido
autoclave por 15' a 30' a 120º, filtrado em papel
cunha, distribuído em baldes de Ferrelbach e mantido
sterilizado ao autoclave.

Smith (1899) suggeriu que os ácidos da cultura resultam
de uma hydrolyse do açúcar muscular de carne durante o
processo de esterilização, ao passo que a reação alcalina ul-
teriormente podia ser devido a amoníaco e aos carbonatos formados
no curso do metabolismo.

Alcance de pH 6,0 dá filhos e crescimento é escasso.
A pH 7,3 e pH 7,6 abundantes, certos braços se formam em 7 dias,
pH 7,3 e 7,6 formam 1ª filhos os pontos óptimos, a pH 8,5
é apenas ligeiro véo. Além de pH 8,5, filhos não conseguem crescer
nem mais.

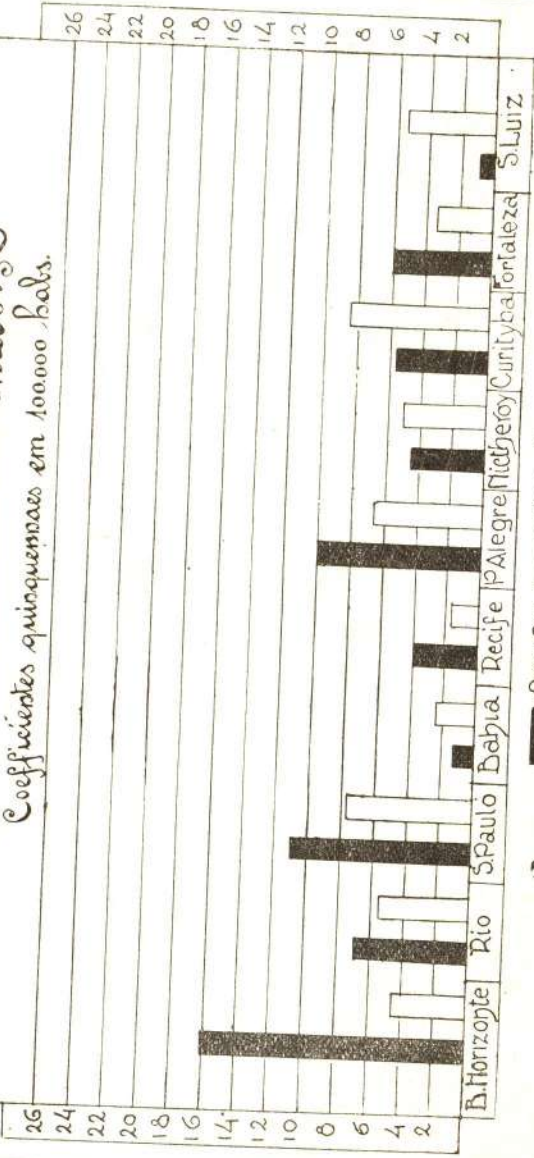
Se a r. inicial é pH 7,2, a actividade máxima
da toxina é atingida no 8º dia. Se o meio é
mais ácido, (pH 6,8) a toxina é formada
e a toxina é obtida no 11º dia.

O pH do caldo esterilizado pode mudar por vários factores:

- 1) Se o meio é rico em sais amoniacais e fortemente alcalino
ele perde amoníaco.
- 2) Pode-se formar amoníaco por reacção de certos ele-
mentos nocivos do meio sobre os proteicos.
- 3) Se o meio contém anidrido carb. livre ou bicarbon-
to alcalino, elle se alcaliniza por perda de CO_2
- 4) O equilibrio que mantinha em solução os ions
calcio e magnésio, sob a forma de sais é destruído
de pela esterilização. Precipitam-se os sais tríplices,
e ficando em solução os sais monobásicos de
reacção ácida.
- 5) Os açúcares se unem a matérias amyláceas, formam
produtos ácidos, se o meio é alcalino.

Mortalidade da Diphtheria em Dello Horizonte

e outras cidades nacionais
 Coefficientes quinzenaes em 100,000 hab.



Graphico nº 2

Trinias dipht., baculo orique a una bacilla d'ignominiosa

J. Hauduroy (C. S. Acad. Sci. Paris, 1822)

Forma fistulosa de tubo...
 127 forma fistulosa...
 128 bacilla d'ignominiosa...
 129 bacilla d'ignominiosa...
 130 bacilla d'ignominiosa...
 131 bacilla d'ignominiosa...
 132 bacilla d'ignominiosa...
 133 bacilla d'ignominiosa...
 134 bacilla d'ignominiosa...
 135 bacilla d'ignominiosa...
 136 bacilla d'ignominiosa...
 137 bacilla d'ignominiosa...
 138 bacilla d'ignominiosa...
 139 bacilla d'ignominiosa...
 140 bacilla d'ignominiosa...
 141 bacilla d'ignominiosa...
 142 bacilla d'ignominiosa...
 143 bacilla d'ignominiosa...
 144 bacilla d'ignominiosa...
 145 bacilla d'ignominiosa...
 146 bacilla d'ignominiosa...
 147 bacilla d'ignominiosa...
 148 bacilla d'ignominiosa...
 149 bacilla d'ignominiosa...
 150 bacilla d'ignominiosa...
 151 bacilla d'ignominiosa...
 152 bacilla d'ignominiosa...
 153 bacilla d'ignominiosa...
 154 bacilla d'ignominiosa...
 155 bacilla d'ignominiosa...
 156 bacilla d'ignominiosa...
 157 bacilla d'ignominiosa...
 158 bacilla d'ignominiosa...
 159 bacilla d'ignominiosa...
 160 bacilla d'ignominiosa...
 161 bacilla d'ignominiosa...
 162 bacilla d'ignominiosa...
 163 bacilla d'ignominiosa...
 164 bacilla d'ignominiosa...
 165 bacilla d'ignominiosa...
 166 bacilla d'ignominiosa...
 167 bacilla d'ignominiosa...
 168 bacilla d'ignominiosa...
 169 bacilla d'ignominiosa...
 170 bacilla d'ignominiosa...
 171 bacilla d'ignominiosa...
 172 bacilla d'ignominiosa...
 173 bacilla d'ignominiosa...
 174 bacilla d'ignominiosa...
 175 bacilla d'ignominiosa...
 176 bacilla d'ignominiosa...
 177 bacilla d'ignominiosa...
 178 bacilla d'ignominiosa...
 179 bacilla d'ignominiosa...
 180 bacilla d'ignominiosa...
 181 bacilla d'ignominiosa...
 182 bacilla d'ignominiosa...
 183 bacilla d'ignominiosa...
 184 bacilla d'ignominiosa...
 185 bacilla d'ignominiosa...
 186 bacilla d'ignominiosa...
 187 bacilla d'ignominiosa...
 188 bacilla d'ignominiosa...
 189 bacilla d'ignominiosa...
 190 bacilla d'ignominiosa...
 191 bacilla d'ignominiosa...
 192 bacilla d'ignominiosa...
 193 bacilla d'ignominiosa...
 194 bacilla d'ignominiosa...
 195 bacilla d'ignominiosa...
 196 bacilla d'ignominiosa...
 197 bacilla d'ignominiosa...
 198 bacilla d'ignominiosa...
 199 bacilla d'ignominiosa...
 200 bacilla d'ignominiosa...

Lesões causadas por Bacillus de Fichtl

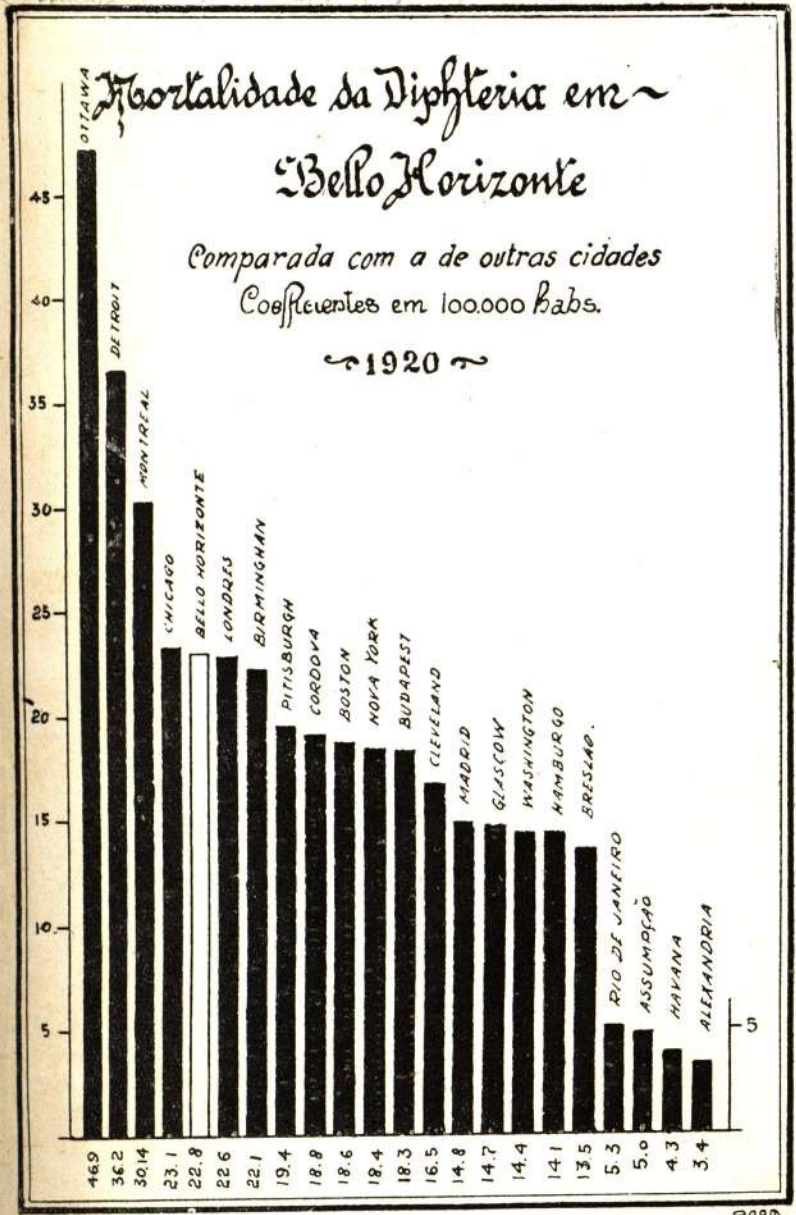
Tirchow distinuiu 3 formas de exulceração: 1) superficial, 2) profunda, 3) em forma de chancre. A primeira é superficial de mucosa com necrose, com exudato fibrinoso e falsos membranos frequentemente ressecados. A segunda é profunda e inflamação da mucosa e da membrana mucosa subjacente do choroion mucoso subjacente.

Associação de germes no Sifilite

Associação do colibacillo: falsos membranos espessos, odor nauseabundo, alguns grãos azules, outros verdes sempre fetais. Certo número aderem com auto-purificação ao vidro entre os 2 primeiros, acompanhando a pincelagem do segundo com culturas de colibacillo.
 Associação com o proteus vulgaris: argenteo subilhos quase sempre mortuos.
 " " o saccharomyces alliiensis
 " " o the pseudococcus

1) Soro coagulado (súcio de cothos), p. 18 h. na estufa a 57° colorido app. em forma de pap. manchas brancas, lezírias-partes, como estago de alfente

2) Soro p. plowto ^{um pouco} (súcio) p. 18 h. na estufa a 57° colorido app. em forma de pap. manchas brancas, lezírias-partes, como estago de alfente



PARR

Graphico nº 3

Diphtheria maligna (Ravina)

Letras de Marfan incrementaram o papel dos germes nessas
circunstâncias. Mas não diz que existe a toxina diph. que
condiciona quase sempre uma miocardite aguda, pseudogripal
ou intersticial. Observa-se uma grande frequência do cora-
ção com tachycardia, bulhas elásticas, hipertrofia, hepato-megalia,
mas também, além do febre de 40°C.
Mas a miocardite não pode explicar todos os ^{casos} ^{característicos} da diph.
maligna. Ela não explica os ^{signos} ^{de} ^{intoxicação}.
Tem-se invocado lesões bulhares, lesando a eficiência do traqueo diph.
p.e. a ulc. necros. seria o abalo muscular do tórax e que explicaria
por paralisia dos nervos, as perit., gastroint. e cardíacas ou
síndrome cardio-gástrico de Levetre. Mas a nat. pathol.
não demonstra isso, pois um ^{autor} ^{não} ^{estava}
nel lesão.

Chalier e Brochier propõem interpretar o phenomenon toxico
por 2 factores essenciais: insuficiência renal com atonia
e insuf. suprarenal com perda dos funções ulteriores e adrena-
linogénica. Marfan viu alter. nervos quase constantes na
diph. maligna. Astrucq et Weil-Hallé acham
que os ^{lesões} ^{de} ^{suprarenas} são mais discretas
no ^{homem}, só visíveis pelo exame histológico.
Sergut atribue a ^{insuf. suprarenal} um papel im-
port. na diph. maligna.

Chalier e outros em 11 observações, viram 7 dentro d'elles,
uma nephrite aguda acompanhada de evolução de
diph. terminada pelo óbito. A agotemia seria de 1899

1898 80.
Chalier atribue o ^{maior} ^{incremento} ^{frequente} na diph. grave,
a uma deterioração ^{tissular} ^{renal}, ^{causada} ^{nada} ^{de} ^{ver} ^{da}
agotemia, por ^{impermeabilidade} ^{renal}.

Diph. dos animais

Excepcionalmente certos animais (aves, cad., gats) podem
contrair a diph. com falsas membranas, por contagio
humano, pelo B. de Klebs.

Na ^{1ª} ^{maioria} ^{dos} ^{casos} a diph. dos ^{animais} ^é ^{devida}
a outros germes que ^{antigamente} ^o ^{B.} ^{de} ^{Klebs.} A diph. das aves
tem sido filiada a certos germes: "Bacterium diphtheriae
columbarum" de Soffer, "Bacterium diphtheriae avium" e outros.

Soro anti-microbiano

Martin obtete um soro anti-microbiano injectando
cavallo (na veia ou sob pelle) com emulsão de
bacillos de Soffer aquecida a 100° durante 1 h.

Segundo adquire-se, nos lugares livres, a 8% de port
 nos lugares onde a dipht. e endêmica, 12%
 nos hospitais, 25%
 nos creches onde houve caso, 30 a 35%
 Nos casos onde ha morte, 30 a 35%

Ora, é claro que do ponto de vista sanitario, o conhecimento perfeito das estatisticas de morbidade tem um alto valor na organização systematica dos serviços de prophylaxia, mormente no caso concreto da diphteria, onde a noção dos portadores de germes tem capital interesse epidemiologico.

O segundo graphico que copiamos (á excepção dos numeros referentes á nossa capital) de notavel conferencia de Barros Barreto, (5) documenta a situação de Bello Horizonte no que concerne á lethalidade por diphteria, em comparação a algumas cidades nacionaes. Este quadro mostra, coincidindo com a curva do cyclo epidemiologico do graphico n. 1, que no quinquennio 1917-1921 o co-efficiente elevou-se a 16 por 100.000 habitantes, bem superior aos algarismos de S. Paulo e Porto Alegre, respectivamente 11 e 10.

No periodo 1922-1926, ainda de conformidade com a curva antecedente, verifica-se o decrescimo do co-efficiente, pouco acima de 4, inferior, portanto, ao de Curitiba, São Paulo e Porto Alegre.

O terceiro graphico exprime o co-efficiente de Bello Horizonte, comparado ao de algumas cidades estrangeiras, no anno de 1920.

Na clareza dos algarismos fica, por consequente, focalizada a importancia da diphteria em Bello Horizonte, sob o ponto de vista medico-social.

Seg. Hoeller, D
 port. de germes no
 esse meio completa
 mente immunitado,
 não mais ates, que
 noct. ou pois refor
 cam a immuni-
 dade vacinal, com
 liquan substituto um
 perfeito p. o collecti
 vidade, vizinhos immu-
 nes.
 A vacinação pela
 anal. med. supprime
 os augmas bacilos
 nem o bacillus
 Dipht.

União processo de combater o port. de germes
 (lig. anti-septico em gargalim, pulverisa-
 ções, inalações), uso de soros contendo
 aglutininas. Gummerich propoz a poyocya
 nase, sobre o contendo um fermento da cultura
 em caldo do *Bacillus pyocyaneus*, applicada in
 loco. Methodo de Schiotz consiste em introduzir na
 garganta e nariz cultura de *Staphylococcus aureus*

5) J. BARROS BARRETO: Praticas modernas de immu-
 nização em infecções peculiares á infancia—Archivos de Hy-
 giene n.º 1, 1928.

Port. de germes

- 1) uso de anti-septicos locais
- 2) uso de antibacterios sob a forma de pastilhas (de Martin)
- 3) appl. local da cultura de *Bacillus pyocyaneus* p. por. inflau. do amygdalas.
- 4) immunitad activa e passiva (Behring, Neisser, etc) (Wheller)
- 5) amygdalotomia, aconselhada por Friedberg

em 1884, Doffer verificou a denotação de Klebs e dizia: Os séculos pulmonares, os bacillos, as células, as pleurais, os condensados pulmonares, sem a presença de bacillo, demonstram que deve haver um veneno produzido no núcleo da inoculação e que circula no sangue quando accia sobre as paredes vasculares.

Muitos outros são em lactis reunitos ao calor, a luz, e a base. Uma toxina pura não se coagula. A natureza dela, se existe a 68 a 65°. O oxigénio e o ácido carbónico, e todos os outros gasos são de grande importância. Segundo Pittier, o lacte moído dos bacillos, não filiação ao seu poder de reduzir a capacidade de coagulação. Exaceta mais conhecida das concubinas. Parece que são toxalluminos, albuminos, ou proteínas (Kolmer).

Toxina Diphterica

Parece-nos útil, antes de abordarmos o estudo da anatoxina, resumirmos algumas noções a respeito da toxina diphterica.

Data de 1888, o aparecimento da memoria de Roux e Yersin "CONTRIBUTION A L'ETUDE DE LA DIPHTERIE" onde se estabeleceu de modo definitivo a prova experimental da toxina diphterica, já entrevista por Loeffler, porquanto a inoculação de velhas culturas de bacillo diphterico, submettidas á rigorosa filtração, provocava nos animais sensíveis lesões especificas de intoxicação diphterica.

Tal verificação vinha explicar, no dominio da clinica, o mecanismo pathogenico da molestia e constituia o elemento fundamental das pesquisas em torno da sorotheapia.

Roux e Yersin, nas suas primeiras experiencias, só conseguiram obter toxinas muito fracas que só matavam cobaias na dose de alguns centímetros cúbicos, muito inferiores, portanto, ás toxinas actualmente preparadas, capazes de matar cobaias adultas na extrema diluição de 1 por 600 e até mesmo 1 por 1.000.

A produção da toxina é funcção de dois factores essenciaes: a virulencia do bacillo e a reacção do meio de cultura.

A facultade toxigenica do germe geralmente mostra-se parallela ao seu grau de virulencia, embora tal relação não se verifique sempre de modo absoluto.

Para verificação do grau de virulencia bacillar haja vista, d'entre outros, o processo de Zingher, injectão intracutanea de cultura nova.

alg. Field e Waque
de água coada
colôidos electropositivos, mas de Humboldt
mais rapidamente
que as proteínas.
A precipitação da toxina, assim se
alg. cristais de sulf.
ammonia em largo
excesso annua do
pulo de natação
e quando se temo
a 57° por 18 h.
A toxina é precipitada.
ficando na superfície
de albuminos e peptomas.
O residuo é reduzido a pó
fmo guardado em
teller no mesmo
suu temperadura baixa
em lugares secos.
Seg. Ehrlich a toxina
é formada de lacto
citrato ou rodral
com o largo no de
cadeta lattrea organica
Cada cada lactul
é composta de 2 por
teos, uma o grupo
chapt. poro fud
há a natureza
chomica azarim
constituido o grupo
de oxid. amoniac.
te a cultura a proteo
toxophora.
Os toxios são coloides
nume reunitos al
enqueim. São produ
cto sint nellos de acti
vidade bacteriana.

tra...
o pillo
duma
colôid
e inje
fa-se no
dose de
0,015
duma
mullin
de cultura
de 24 h
na injec
tura da
pella.
Si a injec
micao é
vinda a
Ra n...
mullin
7-2 h...
8 min
novo act
bacillo
no toxi
masum
que injec

Toxins e germs. Ambos são protidos do metab. do
celulo, amoniac e neg. e podem ser intracelulares, ou in
tracelularon. Ambos são coloides, ambos passam através
do filtro de proteclom por 1/2 largamente bello
por membranas dializadoras. Ambos são abietos
por temp. acima de 70°. Em solucão amoniac. de protem
com a propriedade de coagulaç. e germinoloides.
Amos exhibem um periodo ambo de inactividade
na actividade intracelular. Ambos possuem
amioniac e prot. multicorpos. Mas uma diferença
sobre o de 1. e a maior actividade das enqueim, que a
em dose minimo, uma enqueim ataca a uma mullin
alvora água, a molecula se rompe e a enqueim se libera.

Natureza da Toxina

Field & Teague, em 1907, tinham dito que as toxinas aut. eram coloides e bem
positivos que emigravam p^o o cathorio quer a soluc^oes que as continham
fosse acida ou alcalina. Mas, ora verdade, os tox. s^o colloides
autophoretos, ora emigram p^o o cathorio ora p^o o anodio.

Loche acha que e' difficil considerar a toxina como uma
secreta^o continua do organismo vivos. A toxina dipht.
atravessa certos tipos de membrana semi-permeavel
pois e' excretada na urina do rato, indicando que
nao pode ser uma molecula m^o grande p^a per-
mitir secreta^o.

Denuly & Wallum (1923) sugeriram que a toxina pode ser
um producto intermediario da act^o das enzimas solas
as proteases. Mas e' difficil conciliar esta hypothese
com a actividade antigenica das toxinas,
pois os proteases e os seus productos s^o m^o m^o anti-
genos.

Haudumy acredita que a toxina seja uma forma fillo-
vel do organismo dipht., talvez produzida ao
tempo da divis^o celular.

Warden (1921) considera a toxina como uma emulsa^o
de gorduras derivadas de bacilos dipht. mortos tornada
estavel pelos proteases do caldo. Elle acha que as pro-
teinas bacillares nao s^o parte necessarias da toxina.
A hypothese de que a toxina seja um producto de des-
integra^o de bacillos mortos e' incompativel com o
facto que se nao consegue preparar extractos altamente
toxicos de bacillos mortos artificialmente.

Kolmer

Toxinas e Fermentos

Ambos s^o prod. do metab. cell. animais e vegetaes e podem ser
extracelulares ou intracelulares. Ambos coloides, passam filtros porcelan-
mas s^o em m^o parte retidos pelas membranas dialisadoras.
Ambos se alteram a 70^o, deterioram em sol. com prod.
de toxoides e fermentoides. Ambos exigem incubac^oes.
Ambos prov. anticorpos. Coca admite tox. s^o fermentos.

1^a Roussau s^o do bacillus.
2^a Lewis, s^o mlt. secretados em presenca de certos amin-
acidos e factores accessorios com o caracter de vitamines.

Teste de virulencia

Besson aconselha p^a saber a virulencia (Inj.) de
duma cultura em caldo sob a pelle duma cobai^a de 400 grs.

Si o B. e' mui virulento, morte em 24 a 36 h

" " " e' medianamente " — morte em 2 a 6 dias

" " " pouco " — " em 8 a 10 dias

" " " mui pouco " — nao morre, necrose

Color. pelo Boveri

- 1) Espalhar e fregar, Passar a lamina sobre a chama 2 vez,
- 2) alcool na lamina, por fogo.
- 3) azul methyleno, 1'
- 4) lavar agua corrente
- 5) Lugol 1'
- 6) agua corrente
- 7) Louca 1 ou 2'. Lavar.

Prod. de Toxina

Loche

A prod. de toxina esta sujeita aos factores de variacao toxicologica do grume e aos factores fisico-quimicos: caracter da carne usada, seu teor em gordura, e ^{capaci} ~~gr~~ de produzir sales que diminuam a tensao superf., a temper., o pH, o teor mineral da agua usada.

Parece provavel que a principal funcao do caldo de carne seja suprimir os exigencias inorg. e o crescimento bacteriano.

O pH optimo e de 7,8 ±. Além de pH 8,5 não se forma toxina.

Na prod. de toxina, ha um duplo processo de formacao e destruição. a principal causa de destruição esta ligada a aççao lytica dos enzimos extracel. do tipo trypsin. A quant. de toxina qe pode ser destruida por uma concentra de suspenso extracel., seria grandemente reduzida pela presenca de outros subit. capazes de atrair a suspenso, impedindo sua aççao sobre a toxina.

Os avoids como proteoses são avoídos pelos suspenso. A condicao essencial p^o cultivo de grume e prod. de toxina e a presenca de uma buffer com risque p^o atrair a suspenso.

Acidos da Cultura

Smith, diz que os acidos da cultura resultam de uma hidrolise do assucar muscular da carne durante o processo de esterilizacao da carne, no passo que a N. alk pode ser devida a amoniacal e aos carbonatos formados no cu do metabolismo.

9
 Apresentando uma p^a cultura (sumente o caldo de vitella
 coagulado e como corante, a coloração do B^{id}:
 Faz-se o exame microscópico em pouco de colônia numa gota
 de solução corante sobre lamina, resolve-se lamina
 e espalha-se no estado húmido. Note métodos mostra
 granuladas.

Presentemente, quase todos os Institutos soro-
 terapeuticos utilizam o bacillo americano, raça de bacillo
 de Loeffler, isolada em 1894, em New York, o
 bacillo de Park-Williams n. 8, amostra que tem
 conservado a sua toxidez ha mais de trinta annos.

Roux e Yersin já haviam notado que as culturas
 de bacillo diphterico no caldo de vitella ligeiramente
 alcalino se tornavam acidas logo nos primeiros dias
 e perdiam concomitantemente a sua vitalidade de
 crescimento; alguns dias depois, o caldo tornava-se
 novamente alcalino, coincidindo esta mudança de
 reacção do meio com o vigor de crescimento da cul-
 tura. Verificaram mais, que na phase de acidez as
 culturas se mostravam pouco toxicas ao passo que
 demonstravam maxima actividade quando a reacção
 se fazia alcalina.

Esta observação parecia indicar que o metabo-
 lismo do bacillo diphterico era capaz de provocar
 modificações bioquímicas do meio, afim de tornal-o
 favoravel ao seu desenvolvimento normal.

Baseados na constancia daquella verificação, os
 experimentadores procuraram processos para sup-
 primir a phase de acidificação das culturas, crentes
 de que a produção de toxina dependia da persis-
 tencia da alcalinidade primitiva do meio.

Roux e Yersin (6) serviam-se de balões de
 Fernbach contendo pequena quantidade de caldo
 de vitella esterilizado e peptonizado a 2% sobre
 o qual se fazia a sementeira do bacillo virulento,
 conservando-se os balões a 37°, sob a acção constan-
 te duma corrente de ar humido.

Park e Williams, com o fim de evitar a phase
 de acidez, suggeriram o emprego dum caldo neutro,
 alcalinizado por 7 cc. de soda normal por litro, o
 que não impedia, no testemunho de Martin (7), a

a alcalini-
 sacão do caldo
 é devido em
 parte a formação
 de carbonato de
 sódio o qual pro-
 vem da reacção de
 de acido orgânico
 acetico, lutyrico,
 etc que o B. id.
 transforma em
 carbonato a guisa
 duma calcinação.
 (L'air eau)
 A alcalinização das
 culturas de bacillo
 diphterico, a consequência
 da acção org. em lactico
 do acido org. em lactico
 natos e transfer do
 phosfato purpurinis
 em secundario

papel de
 que o B. n.º 8 pro-
 vem de 1 eau
 de media gravidade
 e hoje é o mais
 torçudo que
 se conhece.
 em cam frays
 de dipht. isolave
 frequentemente
 bacillos de pouca
 poder pathogenico
 e vice-versa.

(6) ROUX ET YERSIN: "Annales de l'Inst. Pasteur"
 1894, pag. 611.
 7) GILBERT ET P. CARNOT: Bactério therapie, Vac-
 cination, Sérotherapie, 1909.

mais inj. de vir. de 250 unidades, de acido toxico e inj. muscular de
 500 unidades, de acido toxico. 7 dias depois, 0,9 cc. de emul-
 são de bacillos vivos e uni inj. de 500 unidades anti. pe-
 ven. etc etc inj. 1 cc. de emulsão de bacillos vivos
 é difícil conseguir anti.

segundo Pitini ~~estes~~ os effectos das toxinas são
 devidos ao seu poder de reduzir a capacidade de oxidação do tecido.

Dipht.
 Bacillo
 de Loeffler
 de Park-Williams
 Roux e Yersin
 Fernbach
 Martin
 Gilbert e Carnot

acidez
 de vitella
 de acido lactico
 de acido
 de bacillo

Ch. Sillés & Røtger estudaram a influencia do amino-acido na prod. de toxina. A adic. de 0,5% de cystina a infus. de vitella permitte a prod. d'uma toxina relativamente forte. Mas se aguntar 1% de cystina a prod. de toxina e retardada. O tryptophane estimula o crescimento em pag. de mo. diminui a prod. de toxina. O tryptophan in vitro a prod. de toxina. A tyrosina e a leucina quando aguntadas ao caldo de vitella com peptona não podem influir. 1/2% de glycocolla não influe, no 1% de inhibindo.

Leg. Sillés & Røtger não ha relação entre uma quant. de col. e um pH determinado. A acidez nas primeiras 24 horas, acarretando irregularidades na produç. de toxina.

A B. Diph. produz acido organico que reagiu sobre os carbonatos. Mas o papel do bicarbonato sobre a H. do meio sugere a possibilidade de sucres a responsabilidade da phase de acidez, e d'ahi a escolha de meios de cultura em que hydratos de carbono fossem eliminados, embora mais modernamente outros experimentadores (Sordelli e Wernike) tenham preconizado a utilidade de um pouco de glycose (1%.) depois da esterilisaç. do caldo (8).

her no verso da pag. seg.

o minimo de tempo para servir de meio quando o metalo for usado para produzir acido org. e sobretudo para formar os phos. fosforicos secundarios

No Instituto Pasteur de Paris, a tecnica usada é o processo de Martin, em o qual se utiliza o caldo peptonizado, com a particularidade de que a peptona è obtida por verdadeiro processo de auto-digestão, por meio de estomagos de porco submettidos à acção proteolytica de sua propria pepsina, em presença de agua acidulada.

Pelo processo de Martin, depois de uma estada de oito ou dez dias da cultura, na estufa a 37°, opera-se a filtração do caldo em vela Chamberland.

No Laboratorio de Hygiene do Serviço de Saude Publica de Washington (9) usa-se na preparaç. de toxina diptherica o caldo de Smith, feito com carne fresca de boi submettida à fermentaça. por uma cultura de *Bacillus coli communis*, afim de eliminar os assucres e depois adicionado de 1% de peptona, 1/2% de chloreto de sodio e 0,1% de dextrose.

Desde 1898, Madsen estudara a influencia da reacção inicial dos meios de cultura na produç. de toxina, concluindo pelo efeito desfavoravel dos meios acidos.

Bunker (10) estabeleceu um quadro dos limites extremos da produç. de toxina, marcando a data

Sillés fala em *Bacterium coli*

8) A. SORDELLI y R. WERNICKE: Influencia de los azucres sobre la produccion de toxina difterica—"Rev. del Inst. Bact. del Dep. de Hig." n. 6, vol. II—1921.

9) J. KOLMER: Infection, Immunity and Biologic Therapy--1925.

10) ABT ET LOISEAU; "Annales de l'Inst. Pasteur" n. 7, 1922.

Sillés verificou que a cultura de stock não mantiveram sua virulencia quando inculhada continuamente a temp. optima para a prod. de toxina seja no caldo de vitella ou no soro de boffer. Parte toxina se produz quando amotas são transferidas para o soro de boffer para inculcadas a 36°C por 1 dia e depois guardadas a 20°C por 3 dias antes de fazer nova inoculada e nova inculcadas.

Schmit admite na formaca. de toxina 2 processos, um de produç. e um de deturbaç. No inicio da pag. prod. e a toxina se dissolve no liq. e se deturba obliqua-se ao mesmo tempo um abastamento do pH. Uti factor é muito favoravel ao processo deturador. Dias depois q. a cultura e a elevaç. do pH o processo formador sobrevive

Smith sugere em 1899 que a acido de cultura de vitella com glycose de assucar secundario a esterilizaç. de carne durante a fermentaça. do proteo de cultura de dextrose de carne de a esterilizaç. de cultura de assucar secundario de cultura de assucar secundario de cultura de assucar secundario

Activação a toxina deph. em caldo Martin até pH 4,7 de Sedallian
 viu que ella se torna opalescente em 2 e 3 minutos. ap. 24 h. a nuca
 ponto ou flocculada que se solta por centrifugação.
 A parte antigenica da toxina está ligada a parte instavel que se
 precipita. O flocculado precipitado dá uma acção immu-
 nante tão activa quanto a natural.

Segundo Gillet (11), abaixo de pH 6,0 o crescimento do B. D.
 em caldo é mui escasso. A pH 6,5 forma-se um fino
 de formação inicial e total do véo, segundo a reacção
 do meio e determinou o valor toxico-lethal da toxina a pH 7,3 e 7,6, for-
 tanto menor quanto mais se afasta dos limites opti-
 mos de crescimento. *brancas em 7 dias.*
 De pH 7,8 a pH 8,4 o cresci-
 mento é menor.

A zona dentro da qual se opera a produção de
 toxina vai do Ph 5, 6 ao Ph 8, 8 com um ponto opti-
 mo entre Ph 7, 8 e Ph 8, 2 (Bunker).

Charles Gibbs e Geo Rettger (11) no que tange
 ao ponto optimo da concentração inicial de ions H
 na produção de toxina, determinaram-no com alga-
 rismos inferiores aos de Bunker, no estreito limite de
 Ph 7, 3, a 7, 6.

Recentemente, Leulier, Sedallian e Gaumont (12)
 fizeram pesquisas mui interessantes a respeito do
 isolamento da fracção activa da toxina diptherica.
 Verificaram que a toxina obtida em caldo Martin
 precipita-se desde seja acidificada até ao Ph 4,
 7. Obtem-se nestas condições um precipitado floccoso
 que encerra toda ou quase toda a porção toxica,
 pois recolhido este flocculado, emulsionado com agua
 physiologica, neutralizada a acidez até Ph 7, 2 ve-
 rifica-se experimentalmente que elle é altamente
 toxico como a propria toxina. O liquido que sobre-
 nada é completamente atoxico, o que se verifica
 tambem por meio experimental.

Ha, por conseguinte, concluem aquelles auto-
 res, na toxina diptherica duas porções distinctas:
 uma, estavel á acidificação, destituida de actividade
 toxica; outra, instavel, precipitando-se sob a acção
 dos acidos e dotada de toxidez, representando a frac-
 ção activa da toxina á qual se incorpora a funcção
 antigenica. *Kolmer diz que não ha nenhuma
 relação directa entre a concentr.
 de ions H do meio e a toxidez.*

11) CH. GIBBS AND G. RETTGER: Some factors go-
 verning of the production of Diptheria toxin in artificial cul-
 ture media--"The Journal of Immunology" n. 5, 1927.

12) A. LEULIER, P. SEDALLIAN ET GAUMONT:
 Etude analytique de la toxine diphtérique--"Comptes Rendus
 de la Soc. de Biol" n. 34--1927.

Sedallian's
 uma outra
 feita longa e
 para oughtamente
 de elementos precipi-
 tado activo
 liquido inactivo
 este facto se pro-
 ve com qualquer
 acido que abate o
 pH. Mas não se
 obtém precipitado
 acidificado o filtra-
 do de streptococo,
 pneumo coes etc.
 O flocculado de pH. é
 solúvel no alcalis
 mui diluidos.
 encerra cor ou phospha-
 no de 0,50 gr a 1,50
 o que mostra que a
 toxina é uma
 nucleo-proteina.
 até flocculada emul-
 sionada em agua disti-
 lada e submetida a dialyse
 não se que o seu poder
 toxico vai baixando até
 desaparecer depois de alguns
 dias. É como si o poder
 toxico fixado sobre
 a nucleina allumina de
 tivesse precipitado da
 presença de um
 crystalóide que desapp.
 pela dialyse. Sedallian e Gaumont
 o poder antigenico do flocculado de pH. é
 nullo. Sedallian acha que
 poder antigenico do flocculado está ligado a pre-
 sença de um crystalóide que desapp. pela
 dialyse.

Schmidt diz
 que o streptococo
 não precipita

Billard: Toxina tet. inactiva contra o veneno da colera mas o inverso não se realisa.
 O soro anti-ophidico torna os coelhos mais resistentes a toxina. Billard viu que o soro de espartina na dose de 5 milligrs. por 100 grs de animal, inactiva a toxina dipht., mas não a toxina tetânica. As neurotoxinas agem a nível do euzere. O veneno curarionul (como a espartina) em heterochromismo, aumenta a cronaxia do músculo. A neurotoxina impregna o syst. nervoso a guisa de uma materia corante. É possível que no caso de mistura in vitro de espartina e veneno, a velocidade de diffusão da toxina espartina ultrapasse a do veneno quando se lê sobre o tecido nervoso.

Billard por meio da toxina tet. inactiva contra a toxina dipht. O soro anti-tetânico protege contra a toxina dipht., mas o inverso não se verifica.

Reacção de Schick e Imunidade Anti-diphtherica

Antes de estudarmos os diversos processos de immunização activa contra a diphteria, seja-nos permitido relembrar alguns dados de immunologia em que se focalise o problema da immunidade anti-diphtherica.

Schickell era que a dipht. só provoca immunidade nos seres que tem o grupo sanguineo de pais sensíveis, resistentes, e nunca no que tem o grupo sang. do pai sensível.

A observação clinica firmara, desde muito, o conceito de que a doença de Bretonneau atacava, de preferencia, as creanças de um a sete annos, poupando geralmente os adultos, estabelecendo assim a importancia do factor pessoal na genese da infecção pelo bacillo de Loeffler.

Metchnikoff chama a immunidade histogenica congenita quando se trata do animal e de cões para a fixação da toxina. As tartarugas e tartarugas podem ser injectadas com doses de tox. tet. que permanecem no sangue muitos meses sem se fixar nos cel. Metchnikoff chama a immunidade por falta de re-

A pathologia experimental havia já demonstrado o effeito neutralizante de um anticorpo especifico com que os animaes injectados com doses crescentes de toxina diphterica se defendiam da aggressão toxica determinada artificialmente. Verificaram os experimentadores que certos animaes, mormente os cavallos, contêm em seu soro quantidades apreciaveis de antitoxina diphterica, independentemente de soffrerem immunizações artificiaes.

Estas observações suggeriram pesquisas no sentido de demonstrar si a immunidade anti-diphtherica do homem resulta da presença de antitoxina especifica no sangue. Deixando, á margem, a questão da immunidade anti-diphtherica de certos animaes, como o rato, de mecanismo todo especial, filiado a processos intimos de permeabilidade tissular, podemos concluir que todos os individuos cujo sangue encerra antitoxina especifica, em sufficiente quantidade, são refractarios ou pouco sensiveis á infecção pelo bacillo de Loeffler.

Seg. experimentos de Coea. No rato, apesar de não conter antitoxina, a toxina injectada não se fixa sobre o tecido, pois sangrando o animal obtém-se quase toda a quant. de toxina injectada. Na colera, a toxina injectada desaparece logo do sangue por fixar-se no tecido. Isto differença de permeabilidade, seriam seg. Bordet dependentes da differença chimica dos epitelios.

mas não se fixa

*Seg. Keller, a r. de Schick e' fundamental na
a autif. humoral, como tambem da reactividade
do individuo, que ajunta d' autif.
real um supplemento de autif. reaccional produzida
localmente. Sabe se explica o facto que ind. positivos
meios de 1/50 de unidades de autif. nms das re. neg. outras a
13
dad positiva*

Mas a theoria da immundade antitoxica, basea-
da exclusivamente na antitoxina humoral, de-
para grandes dificuldades para a explicação
de factos especiaes, taes como os revelados por Kel-
logg (13), em que os mesmos individuos reagindo
negativamente á intra-dermo reaccção de Schick, res-
pondiam de modo positivo ao methodo de Kellogg.

*Rey dij: degra
com um ro
lulo.
Moras e denuncia
o verho separar
com o sentido
de encontrar.*

De facto, não ha sempre concordancia entre a
dosagem de antitoxina dos individuos immunes e os
resultados da reaccção de Schick, coincidindo provas
negativas na ausencia quase total de antitoxina men-
suravel no soro. Pag 57.

Rohmer acredita que haja na diptheria duas es-
pecies de immundade; uma, humoral, subordinada
presença de antitoxina, outra, cellular, que reali-
za, na expressão de P. Marie, um verdadeiro estado
de allergia, capaz de reagir intensamente á acção do
antigeno especifico, por uma producção elevada e ra-
pida de antitoxina.

Esta noção de allergia diptherica constitue a
base da doutrina de Zoeller (14) sobre a "reactivi-
dade especifica", de que fallaremos mais adiante.

Zoeller e Ramon (15) chamaram a atenção para
o mecanismo da immunização occulta, em que os con-
tactos frequentes com o germe cream lentamente o
estado refractario, sem manifestação clinica da mo-
lestia.

Por outro lado, Friedeman, (16) discutindo a
questão das diferenças de sensibilidade á diptheria
entre as creanças de Schick-positivo, admite que
possam intervir na immundade antidiptherica dois

*poster e ten.
Bookel dizem
que não curam
com antitoxina
am creancas e
emuz após uma
vaccinação com
toxina aut. Mes
Rohmer uma unidade
mg. pa a autif.
Uma reaparecer
2 dias depois, ao
passo que num ind.
novo é preciso um
phase de 20 dias.*

13) W. KELLOGG AND IDA STEVENS: Some obser-
vations regarding Diphtheria Immunity—"The Journal of the
Amer. Med. Assoc". n. 4, vol. 89, 1927.

14) CHR. ZOELLER: La réactivité spécifique naturelle
ou acquise—"La Presse Médicale" n. 59—1925.

15) CHR. ZOELLER ET RAMON: "La Presse médica-
lé" n. 69, 1927.

16) FRIEDEMANN: Das diphtherieproblem "Klinische
Wochenschrift" n. 11—1928.

*Vaccinar um individuo e' crear ou aug-
mentar a sua reactividade especifica
e' a aptidão reaccional do organismo*

*para
testes d
de
toxina
a) em
rotorina
sua
local
uo,
de
r-
m
i-
o
e
-
a
o
e
-
a
a
e
a
e
a
e
a
e
a*

Processo de Marx. Dilua-se uma dose de toxina de modo que se produza sobre a pelle um edema ligeiro fugaz logo a injecção. Misture-se esta dose com 100 cc. de soro in vitro. Este observação e si na antitoxina a inj. de dita mistura produz o edema local. Este facto que o poder antitoxico do soro em que seja de 1/240 de unidade por cc.

ver opiniões de Moller no alto da pag 13

Quando se injeta a pelle de cobaias, areas de edema e vermelhidão em 48 h. Primariamente se determinam a dose em libras, necrosas duma toxina, e a quant. de soro que juntamente com 1/1000 de unidade antitoxica e ainda capaz de produzir uma necrose em 48 h. Faz-se uma serie de diluções da dose em 1/1000 a 1/100. Mistura-se 0,2 cc. de cada diluição com 0,2 cc. de antitoxina. Diferença de tal modo que cada 0,1 cc. contenha 1/1000 de unidade. Estas misturas são feitas em pag. talles e cubos talles, e levado a estufa a 37° por 24 h. e depois colorado no refrigerador por 48 h. (Paris) inf. não feitas em cada cubeta. Quando a dose em da toxina foi feita determinando esta quant. misturada de igual modo com soro in vitro. Do mesmo modo que juntamente neutraliza a toxina contém 1/1000 de unidade antitoxica. Por 24 h. se acha que 0,003 cc. de soro em in vitro. Sch. neg. neutralizam em da toxina, 1 cc. de soro deve conter 0,33 de unidade antitoxica

factores essenciaes: Defesa local nas mucosas e a capacidade de produção rapida de antitoxina.

Depois das primeiras pesquisas de Marx para dosar a antitoxina humoral e separar assim os individuos sensiveis dos refractarios, vieram os trabalhos de Romer que estabeleceu um rigoroso methodo para medir a antitoxina diphterica, baseado na observação de que injecções intradermicas de pequenas quantidades de toxina em cobaia, provocam, no prazo de 48 horas, uma zona de edema ou de necrose; aquella, determinada por 1/500 da dose minima lethal, emquanto a dose necrosante seria equivalente a 1/25 de D.M.M. De sorte que a injecção de mistura toxina-antitoxina, de accordo com as doses e diluições estabelecidas pelo methodo de Romer, permite medir o teor antitoxico do soro, em quantidades minimas.

Em 1913, Schick e Mitchiel divulgaram as suas observações sobre a pesquisa directa de antitoxina no homem.

A reacção de Schick, de caracter especifico, realizava assim, um grande passo de incalculavel utilidade para a verificação do indice de immumidade, de immediato valor sanitario nas campanhas de immunização anti-diphterica.

A prova de Schick pratica-se pela injecção intradermica duma dose de toxina activa, equivalente a 1/50 da dose minima lethal para cobaia de 250 grs. de peso.

Faz-se uma diluição de toxina em solução physiologica de tal modo que em 0,1 ou 0,2 cc. exista justamente aquella dose (1/50 de D.M.M.).

A reacção negativa, indice da presença de antitoxina diphterica em dose igual ou superior a 1/30 de unidade antitoxica por centimetro cubico de soro, (x) não provoca o minimo phenomeno de reacção local. ver pag 57

(x) Veremos, mais adiante, que tal conceito não é sempre verdadeiro.

Delille e Marie dizem que quando ha diphteria com Schick neg. pode-se deixar o doente sem tratamento e alguns autores (Paris) aconselham a cura septica e alguns outros (Paris) aconselham a cura de Schick como indice do trat. serologico ou de Schick. Sustentam que a cura diphterica deve-se praticar ao mesmo tempo que a inj. de soro a re. de Sch. e si esta e neg. certamente se curara sem soro inf.

Método Roux e Saures (1909)

Quando peg. quantidades de toxina são injetadas na pelle de cobaias, pequenas areas de edema e de necrose resultam em 48 horas. Primeiro se determina a dose L₁ (límites necroses) duma toxina, e a quant. de toxina que juntamente com 1/1000 de u. a. e' ainda capaz de prod. necrose em 48h. em coli. Faz-se 1 serie de diluições da dose L₁ duma toxina, desde 1 p. 5 a 1 p. 100 e 0,2 cc. de cada diluição são misturados com 0,2 cc. de autot. diluida de tal modo que 1/1000 de u. a. contenha 1/1000 de u. a. Estas misturas são feitas em peg. Tubos de ensaio os quais são levados á estufa durante 3 horas, depois de colocados na geladeira por 2 h. Depois disso, 0,2 cc. de cada mistura são injectadas em cobaias despojadas de pelle. Varias inj. podem ser feitas em cada cobaiá. Com isto determina-se a dose L₁. Determinada esta dose, esta quant. e' misturada de igual modo com quant. variáveis de soro do paciente, a quant. de soro que justamente neutralisa a toxina contém 1/1000 de unidade de autitoxina.

Si, p. ex. se encontra que 0,003 cc. de soro neutraliza a dose L₁, temos que o teor autitoxico do soro por cc. e' de 0,33 cc. de unidade.

* * *

Como Explicar a R. de Schick

Thurival e Nelis explicam a t. de Sch. por uma accão local da tox. sobre os capilares sang. e que ella suprime a tonicidade, o que provoca uma vaso-dilat. seguida de transudação etc.

sem-
Schick
elle
conheciamos
decente.
como tem pro
clamante

al
e
com
se
-
Huan
726
1.
na
rela
torn
e
vome
ga
dua
pau
multi
n.
m
da
va
mu
e
al
la
1
a
eg,
to
e
ia.

R. Schick immunisante

Genney e Allen estudaram o efeito de peq.
doses de toxina sobre a imunidade. Eles
acham que uma simples r. de Schick age
como estimulo secundario em
organismos que possuem uma peq. quant. de
antitoxina. ~~Kardatta~~

Baransky Pseudo-Reações
(C.R.S.B 1926)

Baransky e Brockman estudaram a ps. r. e viuam que ela aug-
menta com a idade, tanto dos receptivos como dos refractarios.
Brockman julga que ela representa uma prop. estavel do organismo
provaclmente hereditaria e constitucional. A ausencia de
ps. r. e de antit. caracteriza a p. idade. A medida que o organis-
mo cresce, a antit. e a ps. r. apparece. De 7 a 13 annos, viuam
17% de ps. r. De 13 a 20 annos 35%, acima de 20 annos 48%.

Papiro Quant. de Antitoxina p. dar Schick neg.

Gluseval e Clevers estudaram a quant. de antit. necessaria
p. neutralisar 1/50 de D.M.M. p. cohaia. Considerando que
na cohaia se ~~possa~~ a quant. de sangue equivale a 1/20 do
peso, eles calculam a quant. de antitoxina necessaria
p. obter no sangue uma concentr. desde 1/20 ate 1/1000
de unidade antit.

Praticando a r. de Sch. com 1/50 de D.M.M. viuam que
e neg. ate tres cohaies com 1/200 de u.a. por co.
com quant. muito inferior a exigida por Schick

Pseudo reacção

Schick considerava os ps. K. como K. de hypersensibilidade da toxina. São as proteínas bacterianas, que sensibilizam e não as proteínas do caldo, pois o caldo antes da sementeira e esterilizado a 115°. Rosenau e Anderson demonstraram que as proteínas aquecidas a 100° perdem a prop. de sensibilizar.

A reacção positiva, indice de receptividade, exprime que o teor em antitoxina é inferior a 1/30 de unidade por cc. de sôro. Manifesta-se por uma area de rubor intenso, de meio a dois centímetros de diametro, de limites muito nitidos, com ligeira infiltração central, separada da pelle normal por uma linha peripherica bem delimitada. A reacção apparece 24 ou 48 horas depois da injeccção, augmenta gradativamente de intensidade, alcançando o seu maximo grau no 4.º dia; em seguida, attenua-se pouco e pouco até desaparecer por completo, depois de soffrer um processo de descamação e pigmentação mais ou menos duradoura.

Praticada deste modo, a prova de Schick offerecia frequentemente grandes difficuldades na leitura de seus resultados, porquanto ao lado das verdadeiras reacções positivas, havia em muitos casos falsas reacções, devidas á hypersensibilidade individual ás proteínas do bacillo diphterico.

Estas proteino-reacções apparecem mais precocemente que as verdadeiras reacções, attingem o seu maximo grau de intensidade dentro de 48 horas, desaparecendo no terceiro ou quarto dia, sem deixar traço.

Por isso mesmo, a technica da reacção de Schick modificou-se de conformidade com as observações de Park e Zingher, na America do Norte.

Presentemente, quando se inocula a dose de toxina diluida (1/50 de D. M. M.) injecta-se tambem a mesma quantidade de toxina, diluida na mesma proporção, inactivada pelo aquecimento a 75°. Injecta-se, de um lado, no ante-braço direito, a toxina não aquecida, e no ante-braço esquerdo, a toxina aquecida, como testemunha das pseudo-reacções.

Deste modo, os resultados podem revestir tres modalidades (17):

(17) P. LERBOULLET, BOULANGER-PILET: Manuel clinique et thérapeutique de la diphtérie, 1928.

Valor da P. de Schick

Capria
Guthrie, Marshall e Moss introduziram 20 indivíduos na garganta de 4 indiv. com K. neg. de Schick e os 4 indiv. não adoeceram. Outros 4 indiv. de Schick positivos tratados do mesmo modo ~~se~~ adoeceram com diphteria.

Parasitologia
E. P. B. D. n.º 27, 1926
situação e vida
reacção e vida
pa da augmenta com a
idade, tanto no respectivo
sistema como do receptor
qualora houveram de ser
como plaga, prova de immu-
nidade, (proteina) julga
que ella se apresenta nua
e pura, intacta do orga-
nismo, para o qual existe con-
dição e hereditaria,
analog a immu-
nizabilidade de antitoxina
e de p. 1.º. Na cara clinica a
reacção a medida
que o organismo surte
chaco, que a reacção
se realisa, e antit. e
a p. 1.º. apparecem.

Zingher
aconselha usar
a toxina aquecida
50 vezes mais
concentrada
que a toxina
não aquecida,
o que seria
necessario seg.
Glenny et c.

Schick viu que pessoas de Sch. positivo recebendo soro de soro antidiphth., a K. se torna neg. mas 4 a 5 dias depois torna-se de novo positivo, embora haja ainda antitoxina. Busacchi viu que a inj. de soro torna a K. neg. mas dois dias depois a K. volta a ser pos. embora se faça nova inj. de soro.

Spolverini acha difícil explicar 16 porque 90% dos recém-nascidos dão K. neg. enquanto só 50% das mães são neg.

Delmisch e Schick fizeram o Sch. neg. em crianças com diphth. maligna na ausência de antit. no soro. Injetando col. com 1/2000. em 6, 24, 48, 72 horas depois fizeram a K. de Sch. e viram que a K. era pos. nos 6 horas e + tarde neg.

a) Reacção positiva á direita (toxina não aquecida) e reacção negativa á esquerda (toxina aquecida)—reacção positiva.

b) Ausencia de reacção á direita e á esquerda—reacção negativa.

c) Presença de reacção bi-lateral que póde revelar uma dupla pseudo-reacção ou uma reacção verdadeira, associada a uma pseudo-reacção.

O diagnostico se fará nesse caso no 4.º dia, de accordo com os caracteres evolutivos da reacção local.

A pseudo-reacção seria, segundo Dudley, (18) um estado transitorio de immunização, em relação com um passado diphterico, o que explica a sua maior frequencia nos individuos de Schick-negativo.

Como todo o processo biologico, a prova de Schick tem as suas falhas e não tardaram a apparecer curiosas divergencias no dominio experimental e no da observação clinica, que tiveram a sua mais interessante expressão nas experiencias de Busacchi e Spolverini, (19) a respeito da variação das reacções em certos individuos receptivos, sob a influencia de injecções de sôros não especificos.

Mas, praticamente, o valor da reacção de Schick assenta-se no grande numero de verificações, especialmente de Park e Zingher, que a executaram em varias centenas de milhares de individuos, com o fim de comprovar os serviços de immunização anti-diphtherica pela mistura de toxina-antitoxina. A prova de Schick permittiu determinar a curva de receptividade á diphteria conforme a idade, e, revelou, desde logo, o estado immune dos recém-nascidos, entre os quaes a reacção se manifesta negativa em 93 % dos casos.

A passagem de anticorpos através da placenta foi experimentalmente demonstrada pelas pesquisas de Ramon e seus collaboradores. (20)

(18) SCHELDON DUDLEY: Réaction de Schick, Diphtérie et Scarlatine—"Office Int. d'Hyg. Publique" n° 5, 1923.

(19) M. TAPIA: Profilaxis de la difteria, 1925.

Dr. Doria (H. Policlínico) diz que a immidade dos recém-nascidos pode ser devida a uma immidade congênita de origem placentar ou a uma immidade histogénica, uma vez que a receptividade dos recém-nascidos pela toxina dipht., o que é provado pelos K. neg. de Schick na ausência de antitoxina no soro.

Piladeau Duval
procurou provocar a
immunização acuta
de recém-nascidos e
obteve, misturando
múltiplas unidades a antitoxina
em partes de proporção
uma notável K. local
(teste e propágion)
mas não se obteve resultados.

Besseman diz que a prova de fixação de complexão é um processo que deve ser rejeitado p^a verificar a imunidade antídift. (qualquer que seja o antígeno empregado, emulsão bacilar, trina ou anatómica)

Depois do nascimento, cresce o numero das reacções positivas traduzindo a perda progressiva da imunidade hereditaria, a partir de tres mezes de idade.

O contacto com o germe durante a infancia, determinando processos morbidos typicos ou frustos vae estabelecer, pouco e pouco, um estado refractario mais ou menos solido.

O processo vaccinante das pequenas infecções, muita vez clinicamente imperceptiveis, é um preponderante factor de imunização e por isso são razoaveis as conclusões Zingher neste sentido, que a frequencia das reacções negativas de Schick tem ligações directas com a super-população. Assim, nos bairros proletarios onde se multiplicam as circumstancias favoraveis á infecção diphterica, Zingher encontrou um numero de reacções negativas superiores ao das classes mais abastadas, vivendo em meios de população menos densa, e, por isso mesmo e por motivos de ordem sanitaria, mais poupados pelas infecções.

Kelly e Stevens (21) chamaram a atenção para o facto dos percentuaes de reacção positiva mais altos entre as mulheres, justamente pela menor frequencia de contacto infectuoso no sexo feminino.

Ramon e Zoeller, estudando a rhino-vaccinação pela anatoxina diphterica frisaram justamente o papel das contaminações ligeiras, os ataques insignificantes da molestia no mecanismo da imunização espontanea, tão frequente na diphteria. Tal verificação resulta igualmente das observações de Dudley, na Escola Naval de Greenwich, onde a prova de Schick mostrou uma proporção de resultados positivos no valor de 45 % por occasião da entrada na

como Bickel,
Certos autores
allemaes
negam que o
condição do
meio social in-
fluam sobre a
morbilidade de pro-
dipht.

Bignellmuth cita o caso
da familia do duque
de Saxe-Darmstadt
em que os pais
5 filhos e duque os pais
ao passo que 60 pessoas
estranhos sob o mesmo
teto nada tiveram

é possível que
a toxina dipht.
seja absorvida
em quantidades
infimas na mucosa
nasal talvez
modificada na
ma toxides seja
pela proporção
mucosa seja
pela secreção de
germes associados

(20) J. NATTAN LARRIER, G. RAMON ET E. GRASSET: Contribution a l'étude du passage des antigènes et des anticorps a travers le placenta—"Annales de L'Inst. Pasteur" n° 8, t. XLI-927.

(21) FRANK KELLY, IDA STEVENS AND MARGARET BEATIE: Results of Schick Tests in California—"Public Health Reports" n° 49, vol. 40, 1925.

Zingher diz que o factor hereditario familiar e o factor racial parecem ter importancia nos resultados. Assim, elle viu grupos de crianças pertencentes a uma familia m^{te} e outros grupos de crianças pertencentes a outra familia mas vindo sob as mesmas condições.

que-
ueci-
rda-
e re-
ccção
, de
cal.
um
com
aior
de
re-
tal
ais
chi
ões
de
ck
e-
m
o
ti-
o-
e-
1,
s,
n
a
s
um
ge
dade
rab

Segundo Kolmer, não ha relucão entre a porcentagem de portadores de Bacillo diph. e a % de Schick. Um in dir. pode ter bacilo virulento na garganta, sem symptomas de diph. e dar r. neg., por causa da presença de sufficiente antitoxinas no sangue pa protegê-lo contra a toxina produzida pelo bacilo e neutralizar a toxina injectada na pelle.

Na Índia, portadores de Bacillo Schick Escola, ao passo que o percentual de casos positivos do caso não bacillo tabecimento onde houvera, pouco antes, doentes não virulentos de diphteria.

Por isso a r. de Sch. Semelhante immunização occulta foi descripta concorre a revelar por Lereboullet e Joannon (22), no meio hospitalar, onde o numero de reacções negativas de Schick era proporcional ao tempo de permanencia no hospital.

As estatisticas de reacções de Schick são assaz variaveis, havendo grandes divergencias nos resultados obtidos pelos diversos pesquisadores.

Merece apontada a curva de receptividade encontrada por Zingher, de accordo com a idade:

O grau de estado de Schick neg. no velho, pode ser devido tambem a insensibilidade da pelle, pois a r. pode tornar-se por si se augmenta a quantidade de toxina (Record)	3 a 6 mezes	3 %
	6 a 12 mezes	60 %
	1 a 2 annos	70 %
	2 a 3 annos	60 %
	3 a 5 annos	40 %
	5 a 10 annos	30 %
	10 a 20 annos	20 %
	Acima de 20 annos	10 %

Entre nós, a pratica da reacção de Schick ainda não se generalizou, e, neste particular, são assaz reduzidas as contribuições brasileiras.

No Rio de Janeiro contam-se as verificações de Decio Parreiras, Doull e Manoel Ferreira, cerca de 1000 reacções, e na Capital de S. Paulo, as provas effectuadas pelo dr. Borges Vieira, em numero de 790. Os percentuaes de S. Paulo concordam com os de Zingher, ao passo que os da Capital Federal são sensivelmente inferiores aos norte-americanos (23).

(22) P. LEREBoulLET ET JOANNON: Immunisation antidiphtherique de l'enfant par l'anatoxine diphtérique— "Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris" n° 26, 1924.

(23) J. BARROS BARRETO: "Archivos de Hygiene" n° 1 - 1928.

Manoel Ferreira e Decio Parreiras verificaram que os percentuaes positivos de Schick no Rio de Janeiro são inferiores aos americanos. Concluem que a imm. diph. é mais commum no Rio que nos Estados Unidos americanos, mais estubsa por ser mais mitigada.

Vertical text in the left margin, possibly a page number or index reference.

R. Anaphylactica pelo soro

Soro do soro pela 1ª inj. É raro no homem (hebreo), mormente os ^{homens} ^{grávidos}
dos locais prurido, dormência dos extremos, edemas,
mediatos, typhus dois depois urticária localizada
ou generalizada, febre, arthralgia, cephalea.

2ª inj. feita varias semanas ou meses depois da 1ª.

Os acidentes são geralmente imediatos ou nos 12 horas depois
da inj, mais raramente alguns dias depois.

Alcal, melior edema local, ganglios supurgitados,
urticaria, febre, dores articulares, vomitos, dyspnea,
angustia, disturbios do sistema card. A morte em caso
de reações citadas por Roseau e Anderson, Piquet & Richet.

Diz Arthus que não ha a especificidade chimica da anaphyl. no coelho
na qual se pode prov. o choque pela poptona e pela clara de ovo,
ambas sensibilizadas com soro.

Antianaphylaxia

Uma 2ª injeção recominda, foi o aquecimento do soro. Berard ha mostrado que
o soro aquecido a 76° durante 20' perde o poder toxico, mas tambem perde o
valor therap. aconselhou-se aquecer o soro a 56° tres dias seguidos durante 1 h.
e assim consideram o poder therap. Tambem a refrigeração age no mesmo
sentido, outro usam o aquecimento e a refrigeração combinados.

Outros quizeram atenuar o soro pelo agudo chimico, chlorof. formal, agua cozida
etc. Nitter aconselhou a ingestão de chlorof. calcio, 1 ou 2 dias antes da inj
do soro. Friedberger mostrou que colias sensibilizadas que receberam pouco
antes da inj. de succinato de sódio, na via de sol. sat. de NaCl não apresen-
tam acidentes mortaes. Auer e Lewis aconselhou a atropina.

Methodo dos inj. substituintes de Berard Ka. Acoli propoz o uso de
soro de amíndas de especies diff. Outros aconselharão o oleato de
sódio que diminui a tensão superf. as aguas minerais de Billard, que agem
pelo sul, bicarb. e carb. de sodio que augmentam a viscosidade do soro.

Theorias da Anaphyl.

1. O complemento não ha anaphylaxia. O compl. é responsável pelos ^{accid.} ^{anaphyl.}
accid. O complexo antigeno-anticorpo, avião de alexina, forca a uma reação
lucida e reparada, daí o choque. Friedberger inoculou colias com bacillus prodigiatus e
culturis corresp. e viu que o resultado perit. no fim de 20 a 30' era idêntico si injecta-
do nas veias. Bordet diz que isoladamente anty e anticorpo são inopacuos, seu encon-
tro faz dar lugar a intervenção duma subst. nociva, que é o compl. O melhores avis
mas pro fornecimento da alexina são os + sensiveis ao choque.

2. Os experimentadores falau da necessidade de soro fresco na prep. da anaphyl.
Kauma. Friedberger viu que o complexo. O papel de desintegrar o antigeno libertando
subst. albuminoides toxicas. Ailha tem alexina e anaphylotoxina como epítopos.

caran
Rio
ada

Stells Natureza da antitoxina

Parece que as antitoxinas são proteínas, pelo menos e impossível separar as das proteínas.

A mol. da ant. é mais volumosa que a da toxina pois as ant. são retidas pelos filtros de gelatina que deixam passar as toxinas.

Elas não atravessam facilmente as membranas dialysadoras, se alteradas a 70°, e a 100° são rapidamente destruídas, são destruídas pelos álcalis e oxid.

As ant. se separam com as pt. globulinas.

Todas as cell., nomeadamente os macrophages, as cel. do syst. ret. e endoth. parecem prod. anticorpos.

Não sabemos se a ant. é uma subst. adherente às pt. glob. ou se é uma variedade de pt. glob., diferenciando da pt. glob. normal por alguma propr. física ou . São colloidos electropositivos.

Em geral no curso da immunit. activa, ha augmento da taxa de pseudo-globulina no sangue.

R. anaphyl.

Richet: 12 inj. successivas no cão de 0,4 por kilo de uma sol. a 0,05% de actino-cong. tinha não prov. de perit. Si duas depois, o cão recebe 1 dose do mesmo immo., tem immo. e por vezes mortaes.

Seg. Belfanti (1923) - o veneno anaphyl. - a anaphylotoxina é um producto de desagregação da mult. proteina anaphylatoxica, pela accção do anticorpo e do complemento em seguida a digestão parentera.

Soro e Sengron verificaram por meio de *Re. de Schick* que a *quantidade* dose de soro anti-diph. precisa *immunizar* o individuo, que a dose acima de 2,5 unidades por kilo a *Re.* de Sch. e sempre neg. Com 1,5 unidades por kilo expresso a *Re.* e sempre pos.

Julien diz: Parece invernal que a aquisição de tanto valor como a da *motropia* 19 anti-dif. e autotet. *Tambem* *modo* neg. violentas.

Incontestavelmente, depois da diffusão da soro-terapia especifica os coefficients de lethalidade por diptheria baixaram consideravelmente em todos os paizes, desde 1895.

Entretanto a sorotherapia não resolvera o problema prophylactico da diptheria, pois as estatisticas de morbidade permaneceram sem modificação, demonstrando a necessidade de novos meios de combate mais efficiente á diptheria, particularmente sob o ponto de vista sanitario.

Dahi nasceu a idéa da vacinação activa anti-diphtherica. Certo é que desde os primeiros annos da era sorotherapica, lançou-se mão do soro anti-diphtherico como recurso de prophylaxia especifica, de alto valor preventivo.

Numerosas estatisticas (Biggs, Lohr, Netter, etc.) (24) comprovaram a efficacia do methodo nos periodos epidemicos, quando a necessidade de immunização rapida não permittia o emprego da vacinação activa.

Infelizmente, a immunização passiva encerra dois inconvenientes: a curta duração da immunidade que se desfaz com a eliminação da antitoxina injectada e a possibilidade dos accidentes sericos.

Moody (25) estudou a duração da immunidade passiva no homem por meio da reacção de Schick, avaliando-a em 28 dias no caso de primeira injeção e 8 a 10 dias no caso duma segunda injeção de soro. Schick acha a autot. *de soro* em 14 dias.

E' claro que a via de administração e a quantidade injectada são factores que influem sobre a marcha do desaparecimento da antitoxina. Experimentalmente, Glenny e Hopkins (26) estudaram a curva de eliminação da antitoxina nos animaes, confirmando a noção classica que os sôros heterologos

Superioris no *dos* *nos* *questão* que *mas* *ha* *relação* *entre* *a* *rigidez* *do* *soro* *em* *relação* *à* *toxina* *e* *o* *valor* *curativo*. *Freuel* *refere* *que* *no* *Hosp.* *Bretagne* *criaram* *em* *estado* *grave* *catarras* *com* *soro* *de* *300* *unidades* *por* *cc.* *apresentaram* *uma* *mortalidade* *de* *23,5%* *enquanto* *no* *mesmo* *periodo*, *em* *outros* *estados* *com* *soro* *de* *150* *u.a.* *mostraram* *uma* *mortalidade* *de* *13,5%*.

vam *de* *morte* *e* *o* *raffio* *Da* *de* *que* *aprimo* *o* *altri* *quanto* *da* *naiz* *da* *palavra* *que* *se* *appõe* *è* *regia* *que* *no* *pal* *uto* *terminados* *que* *è* *nao* *preciso* *de* *100* *e* *mostram* *a* *beta* *sem* *è* *quando* *as* *llas* *agrega* *aguale* *infizo*.

elles *injectaram* *quant.* *de* *10* *de* *antitoxina* *em* *coelho* *por* *via* *rectora* *e* *três* *vezes* *a* *eliminação* *se* *foz* *em* *3* *periodos*.

No *1º* *per.* *em* *que* *ha* *uma* *perda* *inicial* *que* *ocorre* *dentro* *das* *1-2* *24* *hr.* *de* *50%* *da* *quant.* *maxima* *que* *se* *desenvolve* *em* *15* *minutos*. *No* *2º* *per.* *em* *que* *se* *elimina* *69* *7* *di.* *durante* *o* *qual* *se* *elimina* *25%* *da* *quant.* *de* *antitoxina* *existente* *no* *dia* *ante* *rior*.

(24) M. TAPIA: Profilaxis de la difteria, 1925, Madrid.

(25) LESNE', BOUTELLIER et LANGERON: Application de la diptherino-réaction a l'étude de l'immunité passive chez l'enfant - "Archives de Med. des Enfants" n° 8, 1924.

(26) M. TAPIA: Obra citada. *perde* *cada* *dia* *a* *metade* *ou* *2/3* *de* *anti* *reg. 71*

Glenny *e* *Hopkins* *applicam* *a* *phase* *A* *por* *um* *phenomeno* *de* *precipitação* *de* *soro* *è* *precipitado* *que* *o* *soro* *de* *coelho* *tem* *normalmente* *p* *o* *soro* *de* *coelho*. *A* *phase* *B* *por* *um* *processo* *de* *eliminação* *lenta* *de* *proteinas* *extranhas* *e* *a* *ultima* *perda* *lenta* *da* *phase* *C* *pela* *precipitação* *de* *perda* *d* *precipitinas* *e* *precipitinas* *formadas* *com* *regista* *a* *injeção* *de* *antígeno*. *Quando* *se* *injecta* *animas* *com* *antitoxina* *homologa*, *o* *processo* *fica* *reduzido*. *Como* *è* *logico* *as* *phas* *A* *e* *B*, *a* *ultima* *aut* *mais* *lenta* *e* *portanto* *a* *dura* *de* *immunidade* *è* *maior*.

Kammerer Histopatologia da urticaria

Neiker considera a como effeito duma angioneurose, de um estimulo vaso-dilatador, produzindo vaso-dilat., hyperemia, e exudacao plasmatica. Outros creem que seja uma inflam. mação pagas dos vasos cutaneos. Nix cre que a urticaria e um processo activo de defesa da pelle com o fim de destruir muitos nocivos na torrente circulatoria.

Podex curativo de soro purificado

Letim. Hospital em 568 casos com mortalidade de 6% Outros querem que o soro purif. seja mais activo.

se eliminam mais rapidamente que os sôros homologos.

Praticamente, pode-se dizer que a immunidade determinada pelo soro anti-diphtherico dura, em media, quatro semanas, prazo realmente muito curto para a segurança prophylactica. Outro inconveniente da serotherapie preventiva está na possibilidade das reacções anaphylacticas, que, embora benignas ou nullas na grande maioria dos casos, constituem uma restricção ao emprego repetido do soro.

Neste ponto de vista, um numero já avultado de observações fala em abono do soro purificado, libertado das substancias responsaveis pelos accidentes de anaphylaxia.

Rey escreve: falar com Dr. M. Mario Barreto com!

Seg. Ramon:

pa. liberter e soro das parotidas nocivos ha mais meios: Pode-se concentrar o soro sob um volume minimo ou entao precipitadas fraccionada das proteinae por certo volume de alcool. Precipitadas fraccionada das proteinae sulfato de magnesia (Alkinson), sulfato de amonio (Pick), sulfato de sôro (Bruner) chamada duma do soro precipitado, Ha precipitadas da globulina que e fraccão mais solúvel da soro-globulina. Ate precip. de globulina que e avaria uma quant. despresada de antitoxina, e eliminado após filtração. O filtrado submetido a acção duma proporção maior de sal usado, filtração, uma precipitada de pseudo-globulina que arrasta toda antitoxina. O liquido restante e uma solução de soro-albumina, sem traço apreciavel de antitoxina. Resolúe-se o precipitado de pseudo-globulina que se redissolve em agua e a precipitadas fraccionada e outros como da soro e electrica de Ruppel, de ultrafiltração de Roussel e outros como da soro e coagulação (Bauer), e da precipitadas pela acção de benzocaina soro im perfeito por não dar antitoxina isenta de impureza por solgestam proteinas nocivas no soro

O Inst. P. de Paris vende soro anti-diph purificado em ampoullas de 1cc, contendo 1000 unidades antitoxicas, a titulo presuntivo e em amp. de 10cc, contendo 5000 unidades, como curativo.

Na questao do soro purificado discute-se si o soro purificado em o mesmo papel therap. que os não purificados, e nella questao saber si o effeito therap. depende não só da quant. de unidades antitoxicas como tambem da therap. si depende da quant. de unidades, e não da quant. de albumina especifica.

R. Floeuli com soro purificado

Ramon: O soro purificado e uma sol. de pseudo-globulina. Esta pseudo-glob. antitoxica em presença de toina diphth., a floe. id. app. muito retardada ou não se produz. Mas se se produz si se agnuta seja globulina, seja soro fresco. O soro purif. e diluido a 1/2 de agua physiol. A sol. albumina e misturada a partes iguaes a um soro anti-diph. de valor considerado. Com esta mistura faz-se a technica habitual da dosagem pela floe.

Donnamaroff concentra o soro por meio do sulf. de sôro. O producto ultimo contém 7% de sulf. de sôro. Trata-se o producto por chlorato de calca, obtém precip. de sulfato de calca que e eliminado, por centrifugação, o teor em chlorato de calca e seq. no producto final.

que se permitia a absorção de toxina diphterica
pela applicação de tampones pulverizados de toxina diphterica
pura sobre a mucosa nasal a fim de obter a toxina diphterica
de antitoxina. Em 1911, Blumenthal apoiando-se sobre os factos
deu a vacina nasal excipiente tox. Dipht. por via nasal tampones
na mucosa nasal durante 30'. Depois da 2ª applicação
o soro ja tinha 1 ou 2 unidades.

Em 1925, Pockels tentou vacinar crianças por via oral dando varias vezes
uma mistura de toxina-antitoxina

Imunização activa contra a Diphteria

A dosagem systematica do soro dos cavallos inoculados para a producção de soro antitoxico patenta um augmento progressivo de sua riqueza em antitoxina.

Concluíram dahi os experimentadores que a propria toxina seria o verdadeiro antigeno immunizante contra a diphteria, capaz de assegurar um estado duradouro de immunidadade. Devem-se os primeiros ensaios, nesse sentido, a Dziergowsky, em 1902, com toxina pura, por injectão sub-cutanea ou instillação nasal, e a Th. Smith, com a mistura toxina-antitoxina, já preconizada para a vaccinação de animaes.

A immunização activa pela toxina foi anteriormente praticada por Bieber, Bauer e Opitz, mas os resultados obtidos foram contradictorios.

Em 1921, Bieber accentuára que a toxina pura, por via cutanea, em fricções, podia immunizar animaes, desde que tal processo fosse precedido duma unica injectão de toxina.

Mais recentemente, Frans de Potter (27) tentou a vaccinação experimental pela toxina aquecida, mas o aquecimento superior a 80° inutiliza o valor antigenico. Alguns autores preferiram ensaiar processos de vaccinação activa lançando mão de culturas bacillares, como o fizera Petruschky, em 1912, com o fim especial de esterilisar os portadores de germes.

Bohme e Riebold tentaram a vaccinação por meio duma cultura de 24 horas de bacillos pouco

(27) F. DE POTTER: La vaccination antidiphtérique a l'aide de la toxine chauffée «Comtes R. de Soc. Biol.» n.º 29, t. XCL, 1924.

contém
de
be

inj. p. o. de 1 u. a. por cc.

Os americanos e Loewenstein, Kassowitz, Renault e Levy usam a vacina por via subcutanea. Behring ^{equivale} preferem a via intradermica.

Friedemann diz que 70% dos criangas de 10 annos se tornaram Schick neg. pela immiscao latente

virulentos, isolados de casos recentes e cuja actividade pathogenica fôra previamente medida por inoculações em cobaias. A applicação da vaccina fez-se por meio de multiplas escarificações e a dosagem do sôro dos individuos vaccinados revelou em 30% dos casos, notavel augmento do seu teor em antitoxina. Todos estes methodos, porém, não tiveram a sancção pratica.

Em 1913, Behring, applicando ao homem verificações experimentaes já perfeitamente documentadas, introduziu o emprego das misturas toxina-antitoxina na vaccinação anti-diphtherica. Depois de experiencias em animaes, conseguiu preparar duas misturas de toxina-antitoxina para a applicação no homem, ambas de duas encerrando um ligeiro excesso de toxina e que elle denominara T. A. VI e T. A. VII, a primeira, mais toxica, preferivel para os lactentes e creanças mais novas; a segunda, mais fraca, para creanças maiores e adultos.

A mistura T. A. VI continha um excesso de 1000 doses Ln de toxina por centimetro cubico, ao passo que a T. A. VII encerrava um excesso de toxina equivalente a 100 doses Ln. (Tapia)

Como a sensibilidade individual á vaccina é assáz variavel, Behring aconselhava começar a vaccinação pela formula mais fraca, por inoculação intradermica, em diluições a 1/20; seguidamente, uma injecção de 2 em 2 dias, em diluições mais concentradas até obter uma reacção local caracterisada por edema e vermelhidão, numa area de 2 centimetros de diametro. Esta dose que Behring chamára sensibilizadora, era repetida dez ou doze dias depois, afim de consolidar a immuniidade. Como se vê, o methodo de Behring não era de todo, accessivel ao emprego quotidiano, nem tampouco isento de perigos. O sabio allemião, não obstante, annunciára em 1914, no congresso de Vienna, a larga messe de resultados da sua vaccina em cerca de tres mil pessoas, mas não faltou quem lhe reprochasse a te-

As actuaes misturas e doses são practicas (Friedemann)

Cuicillo e Lorenzano etc. Frey, Blumenthal etc. Contraceção é peculiar a Finlândia romanes.

Infactos são menos sensibilidade a toxina

Harbin J. Marie (Bull n. 17, 1911) diz que a T.A. VI encerra 100 doses Ln e a T.A. VII. 10 doses Ln.

Uma dose Ln produz no homem uma reacção cutanea.

10 doses Ln em indit. sem antitoxina podem dar necrose

Seg. Rouer, 500 doses Ln equivalem a 1 dose mortal de colera.

Uso de toxina aut. na Alemanha

Diz Friedemann (em artigo de 1908) que a immunição cad delta de Behring não pôde se impor na Alemanha, até não se o lvido, no agora reerguida graças a Degwitz.

Friedemann diz que a anti. produz mais pouca reacção que a misturas toxina-antitoxina porque nelle se contém mais proteina.

tox-ant.
 Koller For. Bales o tempo em 1895 injetou
 experimentalmente misturas de tox-ant. p^a
 imunizar animais, as mesmas p^a
 por K em N. York fez a mesma experiencia
 p^a immunizacao de cavallos p^a prodi
 de soro. Lucif. nigerica o metodo na
 immunizacao do homem.

Mecanismo da Immunizacao Tox-ant.

O metodo de Behring e baseado em que a uniao
 da toxina-antit. nao e octavel e a toxina se
 dissocia no organismo p^a unioe-se com
 as cellulas estimulando a prodi de antitoxina.
 O metodo nao pode ser tomado como uma
 combinacao de immundade passiva e activa pois a
 quant. de antit. e umi peg. p^a conferir im-
 mundade.

Prop. da Mistura de Tringher

Uma toxina cujs L seja de 0,4 a 0,2 cc
 Antitoxina concentrada de modo que 85% de cada L
 de toxina seja neutralizada por uma unidade de
 antitoxina. A quant. actual de antit. p^a cada L de
 toxina e 1,17 unidades. Por ex. uma toxina com L = 0,4 cc,
 contem 2,5 L por cc. e requererá 2,5 x 1,17 ou 2,9 unidades de
 antitoxina p^a cada cc. de toxina ou 2900 unidades p^a 1
 litro de toxina.

Uso de Vacina Behring

(T.A.V) usa-se pura e diluida a 1/5 1/16 1/40, de inj. a ad.
 na pelle na dose de 0,1 cc da sol. + frac. Si nos 48 h. depois
 nos he 7. de 20 dias pelo menos, injecta-se igual dose de sol.
 seguinte e assim ate chegar a mistura pura. Si 48 h. depois
 de inj. de qualquer solucão se obtem repositiva, deixa-se passar
 um intervalo de 10 a 15 dias ao fim do qual torna-se a se
 pter a mesma dose de sol. que produziu a repositiva.

(T.A.VII) usa-se nos indiv. de 5 a 7 meses pura e diluida
 a 1/5 e 1/20, de modo semelhante a T.A.VII

Reprocher

Vernaculo, ja usado por Frei Francisco de Luis.
 Plutoneo o supple derivado da lingua castelhana. Laudelino Freire
 o considera vernaculo. Mario Barreto, e Machado de Assis o
 empregaram.

Vaccinação pelo processo de Bordelli

Bordelli em 1925 propôs um método de vacinação utilizando precipitado de toxina antitoxina precipitados pelo sulf. de sódio a 20%, usado por via intracutânea, ou por scarificação.

Phase neg. e Místura tox. ant.

alguns autores aconselham evitar a vacinação nos indivíduos port. de bacillus em período de uma epidemia, por causa da phase neg. da imunização. Mas isto na prática não tem import. (Kolmer). Pensa-se em um port. de germes injetado adacar de dipht.

Kolmer Pt. Tox-antit.

Martin e Cherry filtraram misturas de tox-ant. em tempos diferentes depois de feita a mistura. Logo depois da mistura, o filtro deveria passar os micob. menores de toxina. Mas a medida que se dilatava a filtração cada vez menos toxina passava no filtro até que 2 horas depois da mistura, nenhuma toxina passava.

Preparação das misturas de Park Hughes

A mistura de Park Hughes, em peso e fração de T.A.M. de Johnson. Toma-se uma toxina forte cuja D.M.M. p^o colada seja de 0,002 a 0,007 cc, estab. lida na gelada durante 6 meses. Determina-se o L₁.

Dilui-se a toxina em água glicol. de tal modo que 1 cc contém cerca de 3 L₁. Associa-se 85% da dose L₁ a cada unidade antitoxica.

A mistura contém 3 doses L₁ e 3,5 unidades antitoxicas por cc.

Experimenta-se em cobaias com 5 cc. e 1 cc. Os que recebem 5 cc. devem morrer no 5^o dia e os que recebem 1 cc. sobrevivem mas devem ficar paralisados ao fim de 2 semanas.

Si a mistura está contendo, filtra-se em vela Berkefeld e injeta-se em um cobaias, visto a filtração prod. baixa da toxidez. Os animais que recebem 5 cc. devem ter endocardite local paralisia ao calco de 2 semanas e não morrer antes de 10 dias.

Bachmann e La Barrera tomam 3 v. a. a que ajuntam 5 cc. de toxina atóptica
 com 1 cc. de esta mistura que chamam mistura ajuntam-se toxina atóptica
 uma mistura que na dose de 0,1 cc injectada na pelle de cobroia
 produz uma necrose de pelle. As diluições e doses a usar são iguais
 a vacina Behring T. A. VII. ella e vendida em dispositivo com dois re-
 cipientes de vidro, um su-^{perior} com um physiol. e outro in-
 ferior que contém a 29 vacina pura. Usam recipientes de vidro
 feitos por um disco de vidro que se rompe por meio d'uma
 haste de vidro.

chnica utilizada, (28) porquanto elle não conhecera
 previamente o estado de immuidade ou receptivi-
 dade dos seus vaccinados. Acresce, ainda, o facto
 que as proteino-reacções podiam causar inevitaveis
 confusões na determinação da dose minima sensibili-
 sadora, em cuja reacção local se fundamentava a
 dosagem da vaccina.

A immuidade pela mistura de Behring pôde
 durar, na opinião do autor, cerca de um anno.

Uma vaccina sub-neutralizada, semelhante á
 de Behring e mais toxica que as misturas norte-
 americanas, foi preparada por Bachmann e La
 Barrera, (29) do Instituto Bacteriologico de Buenos
 Ayres.

Park e Zingher (30) foram os grandes adeptos
 e propugnadores da vaccinação pelas misturas de
 toxina-antitoxina. Utilisaram-se de mistura sub-
 neutralizada, determinando previamente o indice
 de receptividade da população, mediante a prova
 de Schick, praticada simultaneamente com a prova
 da proteino-reacção.

Como as misturas neutralizadas ou hyperneu-
 tralizadas pareciam mostrar menos eficiencia immu-
 nizante, Park e Zingher preparavam-nas com li-
 geiro excesso de toxina, contendo a formula mais
 usada 3 doses L+ de toxina e 3,5 unidades de anti-
 toxina por centimetro cubico. Esta mistura é pre-
 viamente experimentada em cobaias na dose de 5 cc.,
 dose esta que deve provocar endurecimento local e
 paralyisia tardia, ao cabo de duas semanas. Mas no
 caso de produzir morte aguda, ha mistér de enfra-

(28) P. L. MARIE: La Vaccination antidiphthérique—
 «La Presse Medicale» n.º 17, 1925.

(29) A. BACHMANN y J. DE LA BARRERA: Vacuna
 antídifterica del Instituto Bacteriologico del Departamento
 de Higiene—«Rev. del Int. Bact. del Dep. de Hig.» n.º 3,
 Vol. III, 1923.

(30) A. ZINGHER: Results of Active Immunization
 with Diphtheria toxin-antitoxin in the public Schools of
 New York City—«The Journal of the Amer. Med. Assoc.»
 n.º 25—1922.

tra filtrada e os aminas devem ficar em demora na
 dose de 5 cc, de mistura filtrada, as cobaias devem
 ter paralyisia no fim de 15 dias. A mistura de
 Park-Zingher é menos toxica que a T. A. VII de Behring.

XX
 Preparada com
 Toxina forte que
 precisa haver muitas cc
 feita na dose de 0,002
 cc. elles determinam
 a dose L+ a qual
 deve oscillar entre
 0,2 e 0,4 cc. a
 antitoxina deve vir
 d'um sorro que deve
 ter nunca menos
 de 1500 u. a. por cc.
 Determinados L+
 dilue-se com sorro
 physiol. de modo
 que 1 cc. tenha
 3 doses L+
 Ajunta-se a cada dose
 L+ 1 u. a.
 Agita-se durante
 20' e se deixa
 repousar 24 ho
 as cobaias injecta
 das com 5 cc. devem
 morrer no dia
 e com 1 cc. de ven-
 tose paralyisiam
 no fim de 2 se-
 manas.

adit a mistura
 com a toxinas
 desajada, fil-
 tra-se em vela de
 Birkfeld, deixa-se
 na geladeira e inje-
 ta-se

4) exames
de 5 meses
refractários
imunização

Part. de que as misturas são citadas e de Couder
para durante 1 anno. Mas com o tempo o equilibrio
entre a toxina e a antitoxina se desfaz, a mistura tende
a perder a toxicidade.

quecer a mistura pela addição de antitoxina, pro-
cedendo-se á nova verificação experimental.

Apezar de sua entusiastica preferencia pelas
formulas mais toxicas, Zingher(31) preconizou,
desde 1924, mistura mais fraca contendo 1/10 de L+

O methodo de Park-Zingher consiste na injeção
subcutanea de 1 cc. da mistura (por tres vezes)
com uma ou duas semanas de intervalo.

As reacções geraes, consecutivas ás injeções,
não são frequentes. Verificam-se, porém, muitas
reacções locais, particularmente nas creanças
maiores e adultos, mais sensiveis ás proteínas do
bacillo de Loeffler.

Quanto á duração da immunidade por este
methodo é geralmente longa, pois Zingher (33) ex-
perimentando á prova de Schick os seus vaccinados,
encontrou-os, ainda immunes, cinco annos depois
da vaccinação

Em 50.000 creanças vaccinadas em Brooklyn,
Schreder encontrou, dois annos mais tarde, cerca
de 92 % de individuos que continuavam immunes.

Quanto ao mecanismo de acção das misturas
toxina-antitoxina, a maioria dos autores admite que
a immunização depende de uma dissociação lenta e
gradual dos elementos, actuando a toxina como
antigeno especifico.

Opitz, (34) baseado em que as preparações de
Behring neutralizadas pela inactivação da toxina

(31) A. ZINGHER: Immunité obtenue avec le toxoide
diphérique et les melanges de toxine-antitoxine 1/10 L+
«Office Int. d'Hyg. Publique» n° 25—1920.

(32) A. BESSEMAN: La lutte antidiphérique em Bel-
gique—«Office Int. d'Hyg. Publique» n° 2, 1926.

(33) A. ZINGHER: Immunisation par le melange to-
xine-antitoxine et reaction de Schick—«Office Int. d'Hyg.
Publique» n° 7, 1923.

(34) H. OPITZ: Sur la prophylaxie moderne de la
diphérie—cit. in «Office Int. d'Hyg. Publique» n° 1, 1923.

cultiva em 12) Bullor e edema no lugar da inj. não além de 2cm,
aparecendo antes de 48 h. Deixando uma inj-
mentação local e passageira
2º) Bullor, edema além de 2cm² chegando a 6cm², dura + de 48 h
pigmentação + rubor e + duravel
3º) analogo as 2º com to ganglionar
4º) analogo as 3º com to ganglionar com symptoms (pro
(blec, esphalea, anoxia)

A immunidade pela
vaccinação não consiste
na produ de anticor-
poes humoral somente
que se produz no sangue
em pouco tempo,
mas em uma sensibilidade
especifica dos celulas
verdadeiro estado de
alergia.

Behring e Braun
offem que a disse-
ciacao e lenta.
Opitz julga que a di-
sociacao se dá ao
mesmo tempo da
molecula de toxina ou a
uma maior actividade do
receptor celular.

Martin e Cherry
creiam que no curso
da injeção da
mistura tox. aut.
as pag. mole de
toxina somente
passam.

Loewenstein e Opitz preconizaram misturas hyperneutralizadas;
 a cohera mas que ~~nao e deo realmente p o homem.~~
 Biber preparou duas misturas hyperneutralizadas;
 T.A.I (menor, excessu de antitoxina) e T.A.II p^o a 2^a inj^o.

não perdem o seu poder antigenico, concluiu que as misturas hyperneutralizadas com um excesso de antitoxina são perfeitamente satisfactorias para a vacinação, embora esta se constitúa mais lentamente do que nas formulas sub-neutras.

Opitz pergunta se por causa do toxoides e das toxinas?

Em 1922, Renault e Levy preconizaram o emprego duma vaccina fortemente neutralizada, contendo por centimetro cubico 300 unidades toxicas e 100 unidades antitoxicas, injectada sob a pelle na dose de 1,5 cc. por tres vezes, com intervalo de uma semana.

Essas derivas do methodo de Ramon. Consiste no gluculado toxica-ant. amuliacado em agua fisiol., addicio na da de formula a 5%. Eberhard obtive bons resultados com uma injecção.

Outras formulas, como a T. A. F. de Schmidt, (35) foram apregoadas ultimamente, mas desde logo podemos concluir que todos os methodos de vacinação activa antidiphtherica até aqui mencionados não possuem o desejado e necessario rigor immunologico, pois merecem, todos elles, criticas mais ou menos severas, não só no ponto de vista puramente doutrinario, mas no dominio da applicação pratica.

Experimentalmente Ramon verificou que o antigeno obtido por precipitação da anatoxina, possui um poder antigenico melhor que a propria toxina.

Além da morosidade do processo de immunização que somente se completava ao cabo de tres a seis mezes, concretizavam-se outros defeitos, em certos casos de irreparavel gravidade. Imputaram-se ao methodo, seja por excesso de toxidez das preparações, seja por exaggero de sensibilidade individual, accidentes muito graves e até mesmo casos de morte, em numero de duas dezenas, em diversos paizes.

por excesso de toxina.

Em 1919, em Dallas (E. Unidos) verificou-se a morte de seis creanças d'entre 50 immunizadas. Em 1924, no Estado de Massachussets, Kelly presenciára reacções mui violentas de intoxicação diphtherica, em 42 crianças d'entre 54 vaccinadas e que se attribuiram á defeitos de conservação da mistura que, guardada em temperatura muito baixa,

(interpretada de Kelly, cit. de Tagnia).

ficava a mistura que a dissocia.

(35) HANS EBERHARD: Ergebnisse der a aktiven Diphtherieimmunisierung mit T. A. F. nach H. Schmidt—'Deutsche Mediz. Wochenschrift'. n^o 3—1928.

Estudo de Whipple e Polisson mostram que a congelação augmenta a toxicidade da mistura, e embora as preparações de Kirkbride e Dow che não sejam tal coisa, além do frio da antitoxina e o uso de antitoxinas na

Auderson e Leonard fizeram um experimento de congelação de factores a qual compararam que a antitoxina, como o tricusal que foi usado no experimento. A mistura sem antitoxinas não augmentam de toxicidade por da congelação.

Na Austria se prohibiu o emprego da vacina (D. Barreto)

Parêcis que é possível a sensibili-
lizada pela mistura
mas tais accidentes
são sem gravidade
quando o soro é dado
por via cutanea.

chegara a congelar-se, o que talvez favorecesse a dissociação dos elementos..

Helmrich (36) assignalara, em 1925, seis obitos de creanças em Baden (Austria), embora experiencias previas tivessem assegurado a innocuidade do preparado.

Ainda mais recentemente, casos semelhantes se relataram em Quenstown (Australia) (37).

Por outro lado, censurava-se ao methodo a responsabilidade de accidentes anaphylacticos determinados pela administração de soro de cavallo a creanças anteriormente vaccinadas.

Chester-Stewart (38) aponta a propriedade da mistura toxina-antitoxina sensibilisar os individuos ao soro de cavallo, relatando a observação de sete casos em que se verificaram reacções mais ou menos severas de anaphylaxia, consecutivas á injeccão de sôros diversos em creanças previamente immunizadas contra a diphteria.

O facto tivera confirmação experimental (39) e fora igualmente observado por Hooker (40), a quem approuve suggerir que tal inconveniente se evitaria pelo emprego do soro de cabra na preparação de antitoxina, merecendo tal suggestão o abono dos technicos de laboratorio (41).

7 casos de anaphyl.
O 1º caso foi o de
um menino que recebeu
uma inj. parotidica de um
multitoxico, a qual tinha 4
anos antes sido vaccinado
com toxina anti-dipht.
Depois da inj. a respiração
declarou-se, e a temperatura
eifasou da pelle. Me
horas com abnormales
Uma semana e tarde
uma urticaria generalizada
e inteiros prurido.
Uma angioneurotico sobre
a lingua, face, mãos, pés.
Quatro dias analgesico
soberano com espaço de
3 a 4 dias.

Larson diz que isto é um a perfeição
mas não elimina o
perigo da anaphylaxia
pois os soro de anti-
magotif. podem
contem prot. commu.

(36) L'immunisation contre la diphterie en Autriche—
«Office Int. d'Hyg. Publique» n.º 12, 1925.

(37) «The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n.º 17,
1928.

(38) CHESTER STEWART: Serum Sensitization Resulting from Diphteria Toxin-Antitoxin Administration—
«The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n.º 16, vol. 88, 1927.

(39) CHESTER STEWART: Anaphylactic Reactions following the administration of serums to children previously immunized against Diphteria—
«The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n.º 2, vol. 86, 1926.

(40) S. HOOKER: L'immunisation active des adultes contre la diphterie—cit in «Office Int. d'Hygiène Publique»
n.º 1, 1925.

(41) W. LARSON and H. EDER: «The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n.º 8, vol. 15, 1926 (edicion espanol)

alem de Stewart, Gherhard na Alemanha, seu artigo publicado em 1928, diz que a T.A.F. de Schmidt, em indio, ao soro de cavallo, neg. Gherhard, mas contém soro-albumina por ser com sol. de NaCl

a T.A.F. de Schmidt, em indio, ao soro de cavallo, neg. Gherhard, mas contém soro-albumina por ser com sol. de NaCl
esta é expulsa pela lavagem da floca com sol. de NaCl

Poppi
des
da tox-

Sabe-se
de Behring
que uma mis-
tura neutra p^a-a
colóida, causa
lesões em outros
animais. Fato
prova que não
são neutras,
se são neutras,
n^o p^a a colóida
experimentada.
Agora si é a
toxina que im-
muniza qual é
a razão de fazer
uma mistura tão
complicada
como a de Behring?
Bastaria
fazer uma diluição
da toxina equivalente
à que fica livre na
mistura e injectar
na pelle.
Lippa acha que
toda a toxina da
mistura, quer a
toxina livre quer a
neutralizada pela
antit. concorre p^a
immunizar.

Kolmer acredita
que a tox-antit
sensibiliza o
problema do soro
de cavallo nos
anim. ligeiramente

Coube ao Instituto Pasteur de Paris resolver, ao que parece, definitivamente, o problema immunologico da diptheria, mercê da preparação da anatoxina de Ramon, capaz de realizar, na opinião de Zingher, o processo ideal para a immunização activa anti-diphtherica.

Dij Belfanti que nenhum aminoacido e' venenoso por via venosa, e nenhum gaza de propr. antigenica. Entretanto, Arthur e Hux, a lycocolla seria sensibilizante. Um producto toxico devido a deslocação hydrolytica da albumina e' a histamina que pode ser venenosa em tol. alt 1 p. 100. 000.

M. da anaph.

Tirquet: allergeno + ergina = H. hyperergica

Ruchet: toxogénina + conglutina = apotoxina

Friedberger: soro proteina + anticorpo + conglutina = anaphylatoxina

Brockenhauer: precipitina + precipitino genio = compl. adriocido ^{antiprotease}

Bordet: agar-agar + soro = anaphylatoxina

(Bordet acredita que o prod. a anaphylatoxina se trata uma vez mais, na acetata de nat. coloidal como o agar.)

Em 1870, Behring usava o trichloreto de iodo e o 1909 de oxigênio para a toxina. Em 1870, Sauerbrey achava que a toxina se modifica sob a acção de álcalis, iodo, piperina etc.
 Felix citou a acção de lecitina e cholestérol.
 Em 1913, Marrie estudou a acção de adrenalina e 1909 de Sefton e árric em 1917 estudou a acção do iodo, colóides (ferro e uranogénio)

Adsorção é a fixação de uma subst. gasosa ou dissolvida sobre uma subst. sólida. A adsorção é um effecto de superfície, tanto accentuada quanto atenuada e é + extensa.

A adsorção é regulada por 2 factores, extensão da superfície do adsorbente e as relações entre a natureza do adsorbente e do adsorvível.

A Anatoxina de Ramon e a Immunização Anti-Diphtherica

Muito antes dos trabalhos de Ramon pesquisadores que tentaram obter a attenuação da toxina diphtherica, lançando mão de varios artificios.

Desde 1889, Roux e Yersin (42) notaram a progressiva destruição da toxina diphtherica sob a influencia de certas substancias, iodo, ácidos, etc.

Vincent (43) assignalou, em 1907, o papel neutralizante da bile e dos sabões sobre a toxina tetanica e chamou cryptotoxinas ás toxinas que, embora inactivadas em presença de certos corpos, conservam pelo menos uma parte de seu poder immunizante.

Taes pesquisas, iniciadas em 1907, foram depois proseguidas e Vincent consegue inactivar toxinas (diphtherica, tetanica, dysenterica) por meio de soluções de oleato e palmitato de sodio.

Em 1908, Doerr estuda a acção neutralizante dos ácidos inorganicos. Lovenstein em 1909, Glenny e Sudmersen, em 1921, verificam a inactivação das toxinas sob a acção do formol.

Finalmente, em 1923, Ramon estabelece o processo de preparação das anatoxinas, demonstrando o seu valor immunizante no dominio da experimentação e da prophylaxia.

Depois de 1923, multiplicaram-se as experiencias, destacando-se particularmente os trabalhos de Lar-

42) ROUX ET JERSIN: "Annales de L'Inst. Pasteur" nº 2—1889.

43) H. VINCENT: Sur les propriétés générales des cryptotoxines en particulier de la toxine tetanique—"Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences" nº 22—1926.

Origem da Anatoxina

O methodo de Ramon procede dos trabalhos de Calmette e Hissop (1909) que haviam estabelecido a acção precipitante do soro proveniente dos animais vaccinados contra o bacillo de colera sobre este veneno.

Alguns que a toxina inactivada dos (oleato, palmitato de sodio) seja devida a adsorção do salido pelo micellio toxico, pelo phosforo de sodio ou por parcial. Vincent cre que a adsorção do salido pelo micellio toxico, e necessario mas não bastante para inactivar. Elle diz que o poder neutralizante se accentua pela presença na molecula de ácidos grasos, ligando ácidos ou ácidos phosphoricos.

que se a adsorção do salido pelo micellio toxico, e necessario mas não bastante para inactivar. Vincent supõe que a inactivação da toxina pelo salido, e mycellio toxico adsorvido in vitro no interior da cellula, forma um phosforo de sodio insolúvel, sendo no seu suporte colloidal.

Triclorato de iodo

Larson e Eder dizem q. bacterias podem dividir-se em 2 grupos seg. a sua conducta em face dos depressores da tencao superficial; Um grupo (colityphras) proliferam com um meio de poucas luzes superficiaes. Outros grupo (B. Koch, pneumones, streptococ) mostram-se muito sensiveis a toda a baixa mesmo ligeira da tencao superficial. Este 2º grupo perde a toxidez ao contato mesmo por pouco tempo a depressores superficial, muito solavel em agua.

Larson e Nelson estudaram a accao do triclorato sobre os toxinas, e viciam que est. a tox., tet. e diph. perdiam instantaneamente a toxidez quando misturadas em prop. devidas com uma solucão de sabão purificado de oleo de ricino. No. os toxins conservam poder antigenico. A toxina botulinica não e abumada pelo triclorato. Pode-se explicar que e a lisis que neutraliza as toxinas diph. e tet. por via digestiva.

Quando Larson e Evans, a reaccão entre a toxina e o salto consiste numa fenomeno de adsorção, a 1º hyperioniz, com a toxina abumada pelo triclorato formam fechs em solucão, de medicina com toxina e solucão de salto a 2% num volume total de 1 cc.

Larson, em creanes de idade escolar obteve 38% de immuniz., dentro de 5 semanas, depois duma inj., 66% em 8 semanas.

Tobalato de iodo

Melis estudou a accao do obalo de iodo. Ela admit. dectrois toxina que não pode ser regenerada. Elle usou sol. de obalo de 1% e afigurou 1, 2, 5, 10, 10 cc. de sol. de obalo a 1% a 10 frações de 100 cc. de toxina diph. 1/300. Seou os misturos d'altura a 37º durante 24 h. e exposto 1 cc. de cada a colados de 25º a 28º q. a 100000 duas, 12 misturas (100+1 1000+2) mostram matam os animas em 24 h.; a 42 e os outros são atonicos.

Mostra que 4 cultigr. de obalo de iodo dectrois 30.000 doses mortas de toxina. Naulitschek e Russ explicam accao do obalo sobre a tox. diph. pela intervençao de par. quant. de acido guan. protinico, de sua dissociacão em solucão aquosa e por phenomenos de adsorção entre os micellos coloides de salina e toxina.

Melis cre que todos os indit. que dectroem a toxina exercem uma accao abumada catalytica a pressudo uma dectruicão que se affectua normal mente e muito lentamente na toxina. Também Schmidt cre que a accao do formol seja uma accao catalysadora.

Ales siludon a accao da agua dest. sobre a toxina, nas 24 horas...
 de dialyse, a toxina...
 de 23, em cada de coloides...
 mente. Nelis tomou 100 cc. de toxina...
 durante 4 dias, seu poder toxico...
 e determinado cada dia; ap. 24 h., a dose m. e de 1/600; ap. 48 h. de 1/450; ap. 3 dias 1/350, ap. 4 dias 1/300.
 Ruta diminuiu o poder toxico da toxina e dialyse de poder toxico.
 Depois de 4 dias, 29^a toxina continua a diminuir o poder toxico. Ap. 6 dias ella mata no' a 1/50, ap. 10 dias

son (44) e Nelis (45), o primeiro pesquisando a accao do racino-leato de sodio, o segundo investigando a accao da quinina e do oleato de sodio na inactivacao da toxina diphterica.

Foi no curso das flocações do soro anti-diphtherico pelo processo de flocação que Ramon (46) descobriu a anatoxina. Com o fim de prevenir possiveis contaminacoes das misturas, elle juntava á toxina uma pequena quantidade de formol do commercio a 40 por 100, na proporção de 1 por 2000. Verificou mais que a toxina assim formolizada não se alterava quanto ao seu poder de flocação em presenca do soro especifico, e, que, de outra parte, deixada no laboratorio, durante alguns mezes, conservava integral a facultade de flocação mas se mostrava muito menos toxica para os animaes de laboratorio.

Ramon augmentou a quantidade de formol na proporção de 3 ou 4 por 1000 e deixando a toxina formolizada na estufa, a 40 — 42°, durante trinta dias, obteve um producto completamente atoxico para os animaes de laboratorio, mesmo na dose de varios centimetros cubicos, a que chamou anatoxina, que mantinha o seu poder de flocação deante da anti-toxina diphterica.

Em seguida, numerosas experiencias, *in vivo*, demonstraram o seu alto valor antigenico.

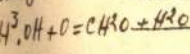
Ramon assignalou como caracteristicas da anatoxina tres qualidades essenciaes: Innocuidade, poder de flocação analogo ao da toxina primitiva e valor antigenico. Injectada por via subcutanea, em cobaia, na dose de 5 a 6 cc., não deve provocar reacção geral ou local de intoxicação diphterica.

44) W. LARSON Y. H. EDER: "The Journal of the Amer. Med. Assoc." n° 8 1926 (edicion en espanol).

45) P. NELIS: Attenuation et pouvoir antigène de la toxine diphtérique traitée par diverses substances—"Annales de L'Inst. Pasteur" n° 8 t. XL—1926.

46) G. RAMON: Sur l'anatoxine diphtérique et sur les anatoxines en general "Annales de l'Inst. Pasteur" n° 1, 1923.

Ramon preparou anatoxinas com formalin e veneno de colera...
 Ramon viu que dissolvendo 50 centigr. de veneno de colera em 200 cc. de agua physiologica. Ruta solugua mata um coelho em inf. subcutanea dose de 0cc.5. Mas additivada de formol a 5%, a 38° durante um mes, pode ser injectada sem perigo na dose de 100 cc.
 Nelis cre que a accao inactivante de certos subit. resulta somente de accao catalytica de uma substancia que se effectivamente com...



o formol...
 de solug...
 que po anti...
 de modo...
 de aluminio...
 ou o contendo...
 e material pre...
 de...
 de toxina a...
 hi a necess...
 e variar a quant...
 formal.
 formal e...
 de...
 de...

mata a...
 10, 100...
 perda de toxico...
 e devida a...
 dialyse, ap. 4 dias...
 e' mui...
 pequena a...
 diminuiu a...
 toxico de 1/700...
 a 1/300...
 no curso da...
 dialyse e' pro...
 diminuiu de...
 ou de parte...
 aucta destruição...
 da toxina.

Nelis estudou a attenuação da toxina dipht. pelo o zona, dizendo que este agente solugua a propria toxina, sendo por isso a formação de Hypochlorito pelo processo de NaCl na toxina.

salivina, extr. do alvrisprocto...

Chalapina WH 2 Sorrento

O effeito desintoxicante do formal dependendo das
ações aminadas da toxina. Toxinas com teor amínico
de 0,085 a 0,104% estavam depois de 15 dias de
formolização totalmente inactivadas, enquanto
toxinas com 10% de formalina de 0,5 a 0,55%
toxinas com teor amínico de 0,128 a 0,141% mantavam-se

As primeiras experiencias, desde logo, mostraram
que a anatoxina em injeccão hypodermica na dose
de 1 cc. permite á cobaia inoculada resistir, 15 di-
as depois, á injeccão de varias doses mortaes de to-
xina; e, si o prazo se prolonga a trinta dias, o ani-
mal pode supportar centenas de doses mortaes, o que
realmente é de alta significação, dada a extrema sen-
sibilidade do porco da India á toxina diphterica.

O poder immunizante da anatoxina é paralelo á
rapidez de sua floculação em presença da antitoxina.
Em seguida ás suas primeiras investigações,
Ramon ampliou o methodo, preparando do mesmo
modo as anatoxinas tetanica e dysenterica.

A principio, empregava na preparação da ana-
toxina diphterica toxinas obtidas em caldo Martin,
adicionadas de formalina na proporção de 3 a 4%
mantidas na estufa a 40-42° C., temperatura esta, ain-
da, utilizada em Russia. Presentemente, os technicos
de laboratorio dão preferencia ás temperaturas de
37-39°.

Sdrodowski e Chalapina (47) observaram que
as temperaturas mais altas, 40-42°, frequentemente
"desnaturavam" a capacidade de floculação das
anatoxinas, de accordo com o poder de resistencia
peculiar a cada toxina. Em suas minuciosas experi-
encias estudaram a acção de temperaturas diffe-
rentes sobre a toxina diphterica (38°,5; 39°,5; 41°; 45°
50°) chegando á conclusão que as zonas extremas
de 45° e 50° mostraram-se absolutamente desfavo-
raveis á manipulação do producto, cuja floculação,
depois de cinco dias, se retardava de 18 horas, em
comparação com a toxina original.

Depois de quinze dias naquellas temperaturas
desapparecia inteiramente a faculdade de floculação.
Adoptaram, então, como temperatura mais propi-
cia, 39°.

(47) P. SDRODOWSKI UND K. CHALAPINA: Studien
uber Diphtherieanatoxin-"Centralbl. fur Bakter. Parateukunde
und Infektionskrankheiten" n° 103-1927.

Concetr. de anatoxina
Sdrodowski e Chalapina usaram a acção do acido phosphorico para
a anatoxina. Ela precipitada no filtro. A dissolver o precipitado
em sol. salina a 8,5%. O pH da qual, necessario á precipi-
taçã e de 4,1 a 5,2. O precipitado redissolvido e levado
ao pH da toxina de origem.

Duchon 1928
que semeando
de pyocyanico
soluere em salada
contendo tox. dipht
de 2 dias depois, a
inf. de tox. não
prote. adema nem
esclera.

Concentração de formol na prod. de Anatoxina

Chalupina :

Seg. Parke Higher o affecto inactivante da formalina depende de teor em aminoacidos da toxina, tanto maior o teor tanto mais formol sera ajuntada p^a inactivar.

O grupo CH_2 do formaldehydo apparece em ligação com o grupo NH_2 dos acidos aminados. Ita n. se opera na formalização da toxina

Chalupina cre que a transf. da toxina em anatoxina e a consequencia da alteraçao do grau de dispersao do systema sob a influencia da formalina e a toxina perde sua actividade em consequ. da coag. da toxina.

Um vin que toxinas com teor aminico seg. Sorensen de 0,085 a 0,164% estavam depois de 15 dias de formalinização, totalmente inactivas, com uma concentr. de formalina do commercio de 0,5 a 0,35%. As toxinas cujo teor em subst. aminica era de 0,138 a 0,141% seg. Sorensen, mostraram-se ainda activas depois de 15 dias de formalinização com a mesma concentr. de formalina.

Chalupina prefere usar p^a a inumunização humana toxinas anatis provenientes de toxinas que não contenham mais de 0,1% de subst. aminica.

Quando Parke Higher a quant. de formol depende da quantidade de acido aminado, baseado pelo methodo de V. Slyke. Toxinas contendo 2,5 a 5 milli/g de azoto p. 10cc, e preciso ajuntar 1 p. 1000 de formalina.

Outros acham que não pode ser uma simples reacção entre o formaldehydo e os grupos aminados. Pois si assim fosse, o processo seria rapida.

Diff. entre toxina e Anatox. (Ramon)

Uma tox. dipt. aquecida a 65 ou 70° durante 1 hr. perde o poder de flocculacão e o valor anti-pneumo. A anatoxina, aquecida a 70° conserva seu poder flocculante e seu poder immunizante. Só a partir de 75° que a anatoxina perde suas propriedades.

Reação de fixação
na Syng. porcinis
de anatoxina

N. Decamps
C.R. H.B. n.º 28, 1926

8 tubos tendo cada um 1 cc. de
oro padrao e 1 gota de albúmina
diluida a 1/2.

N.º 7 10 tubos, 3 gotas de anatoxina.

N.º 6 10 tubos: progressivamente
1, 2, 4, 8, 16, 32 gotas de

oro a analisar
no 8.º tubo: 32 gotas de oro.

N.º 6 10 tubos sad.º tubos
da r., o 7.º e 8.º tubos do
antigeno, o 8.º e 9.º tubos
do oro.

3/4 de h. na estufa depois
ajuntar o syt. hemolytico preparado
1/2 h. ant., lavar a mistura
e ler após a hemolyse das
determinhas.

a r. de fix., permite revelar
a presença de uma sensibilidade
para antidipt.

Influencia dos sais
metall. sobre a prod. de oro
de Wallum e difficil determinar o modo
de formação de oro. Mas pode-se suppor
que ella dependa em parte de
ações enzimaticas. Tem-se notabque
a presença de certos sais metall. tem qd
influencia sobre o effeito de muitas
enzimas, o que levou Wallum a suppor
que certos sais metall. podiam intervir
na formação da antitoxina, e que
talvez a presença ou ausencia de
sais no organismo fossem talvez uma
das causas das qd diferenças
individuaes do animaes no
curso de immunisacão.

Requisição de toxoides
na anatoxina

Nelis requisitou toxoides na
anatoxina do seg. modo:

A 1 u. a. de oro padrao
ajunta 1 cc. de anatoxina,
deixa em contacto 24 h.

a temp. commun. Depois
ajunta doses progressivamente
decrecentes de uma toxina teta-
lada, começando pela dose
L+. No caso concreto elle
ajuntou 0,17 (L+), 0,15
0,13; 0,11; 0,08; 0,05.

Se a anatoxina succera toxoi-
des, a dose L+ será diminuida
na proporção de sua quant.
Verificou que a anatoxina
neutralisa a maior quant.
de antitoxina do oro padrao.
As misturas de oro padrao
(1 cc.) e anatoxina (1 cc)
hecta juntar 0,05 cc. de
toxina a provocar a morte
de cobaios no 4.º dia.
Nelis crei que a anat.
succera qd quant. de
toxoides.

Nota:
Wallum usava a accão do chloro
de manganes e o chloro de cobalto.
O chl. manganes augmenta a prod.
de antit. O manganes e ratido em
de parte no figado, elle verificou que
os cavallo bons productores de oro
tem um augmento do teor de figado
em manganes. Pode-se entao pensar
que a prod. de antitoxina
depende de algum modo da
presença da subst. cata-
lyzante no figado.

Concul
a ant
Prodor
a anal
em 10
taqd
ao P N

Proteina coagulada in vitro

Saundersteiner e Pick verificaram que uma proteina coagulada in vitro com uma subst. não antigenica, isto e, com um grupo ou um grupo methyllico perde o seu caracter de especificidade de especie (nao e mais precipitada pelo soro precipitante da mesma proteina nativa) e adquire uma nova especificidade ou de

Outro factor importante na preparacao da anatoxina e a concentrao de formalina, pois Sdrodowski e Chalapina observaram que as mesmas toxinas, sob temperaturas iguaes (39°,5), mas em concentraoes diferentes de formalina fornecem anatoxinas que differem na sua avides de flocculacao. Assim, toxinas que mostravam o inicio de flocculacao depois de duas horas e meia, quando submettidas ao formol na proporcao de 0,5% só "flocculavam" depois de cinco horas; si formolizadas a 0,78% mais retardada era a flocculacao, só visivel depois de seis horas e vinte minutos.

Estas variaoes se operavam independentemente do teor anatoxico, noao de grande importancia na avaliacao do poder antigenico da anatoxina, medido segundo a rapidez de flocculacao em presenca do soro anti-diphtherico.

Aquelles autores demonstraram que nao ha sempre perfeita relacao entre a rapidez de flocculacao (valor qualitativo) e o teor em unidades anatoxicas da anatoxina (valor quantitativo). Desde as suas primeiras investigaoes, Ramon assignalara duas qualidades da anatoxina diphtherica: A sua facil conservacao na temperatura de 4° C. ou mesmo na temperatura do laboratorio e a sua resistencia ao aquecimento, pois embora aquecida a 65-70°, ella nao perde o seu poder antigenico e conserva a sua propriedade de flocculacao e o valor immunizante. Ainda recentemente, o autor relatou (48) os resultados de experiencias feitas com anatoxinas preparadas em 1923 e conservadas até 1928 sob condicoes diversas, á temperatura do laboratorio e á temperatura de 3 ou 4° C. Verificou, entao, que a innocuidade de todas as amostras permanecia completa e constante, bem como o seu valor antigenico, demonstrado pela flocculacao e por meios experimentaes.

48) G. RAMON: Sur la stabilité des propriétés de l'anatoxine diphtérique "Comptes R. de la Soc. Biol." n° 17-1928.

Anatoxina de Schmidt

Baseada na flocculacao. Elle neutraliza toxina com anti-toxina. Elle recolhe o flocculo, depois os do resto de caldo por lavagem e emulsiona os em agua physiol., adicionada de formol a 5%.

Segundo Vallum e Sorbelli, o manguez eleva de 20% a produccao de antitoxina, usado em inj. intravenozas, uma semana depois da immunizacao, durante 3 dias seguidos.

tantan), sôros anti-diphthericos dosando, em média, nas do curso de 400 unidades antitoxicas por centimetro cubico, num nu.º de cavall. durante o curso de curso de immunizacao inferior a 40 dias.

A preparação de antitoxina diphterica está condicionada por factores complexos, alguns attinentes ao antigeno empregado, outros relativos ao organismo animal, de sorte que a produccao de sôro pode ser expressa numa curva mais ou menos regular e constante.

Ramon (52) observára que certos animaes portadores de abcesso ao nivel das injeccoes do antigeno, mercê de contaminacoes no acto da inoculacao, forneciam sôros de enorme riqueza antitoxica, mesmo depois do inicio apparente da queda gradual da antitoxina. Suppoz, então, que tal augmento, por vezes consideravel, devia fazer-se a favor do processo inflammatorio local, o que, aliás, chegou a verificar, inoculando propositadamente anatoxina adicionada de pús. A conclusao de taes experiencias resultou logicamente: a reaccao local actúa como estimulo das defesas geraes.

Ramon procurou realizar estes processos inflammatorios locais por meio da addicao ao antigeno de substancias taes como tapioca pulverisada e chegou a obter, numa serie de varias dezenas de animaes, sôros altamente ricos em antitoxina, alcançando muitas vezes o elevado teor de 600 e 800 unidades por centimetro cubico.

Lemos Monteiro, nos seus estudos sobre a anatoxina diphterica, chegou a conclusões muito interessantes que merecem, desde já, destacadas. Preparou anatoxinas com toxinas oriundas de caldo fermentado e caldo não fermentado e ajuntando formalina em diferentes proporções, verificou periodicamente a marcha da inactivação da toxina, conservada na estufa a 37°.

(52) G. RAMON: Procédés pour accroître la production des antitoxines. «Annales de l'Inst. Pasteur», n. 1 - 1926.

These-3

glis e Atkinson avia liaram o teor em globulinas durante o curso de immunizacao contra a toxina dipht. e acharam o teor em globulinas geralmente augmentado de 20% com o augmento do poder antitoxico. Sedigham conchiu que ha intima relacao entre a quant. de antitoxina e a quant. de globulinas.

A anatoxina não tem accao curativa experimental, seg. pesquisas de Hoeller, nos lesões de diphteria experimental conjunctivo-keratite obtido mediante previa instillacao de bile diluida no olho da coehara. A instill. de bile fez-se de manhã nos 2 olhos. Depois do meio dia o olho direito sofreu a inoculacao com cultura de B. D. de 24 h.

Mas a anal. injetada previamente na coehara protege a conjunctivo-keratite experimental

Quatro series de toxinas preparadas com caldo não fermentado, adicionadas de formalina na proporção de 1 por 1000, 2 por 1000, 3 por 1000, 4 por 1000, foram examinadas em varias épocas quanto á sua inactivação. As toxinas formolizadas a 1 e 2 por 1000, examinadas desde tres dias até 235 dias de permanencia na estufa a 37°; conservavam-se ainda toxicas e lethaes para as cobaias inoculadas.

A toxina formolizada a 3 por 1000 (em caldo não fermentado) mantinha a sua actividade toxica depois de uma estada de 124 dias na estufa. Finalmente, a concentração em formalina de 4 por 1000, conseguiu inactivar a mesma toxina depois de longo prazo superior a 100 dias de permanencia á temperatura de 37°.

Com a toxina obtida em caldo fermentado, Lemos Monteiro obteve anatoxinas ao cabo de 30 dias (formalina a 4 por 1000). Depois dos seus primeiros estudos sobre a preparação de anatoxina diphterica pela acção simultanea do calor e do formol, Ramon empreendeu pesquisas no sentido de descobrir outros corpos que fossem capazes de operar a attenuação e a inactivação da toxina diphterica.

As publicações sobre o assumpto (53) revelaram grande numero de substancias dotadas daquela propriedade, embora não se tenha modificado, na preparação das anatoxinas, o primitivo processo do autor.

acetic, formol, dealis (amonea) alcoholico, metilico, wrotropina, chloroform, ether, aldehydo, paraldehydo, acetona, chlyoform, perborato de sodio etc

(53) A. BERTHELOT ET G. RAMON: Sur les agents de transformation des toxines en anatoxines - «Comptes R. de l'Acad. des Sciences» n: 4, t. 180, 1925.

Quatroxima Oultima do Labor. Bacteriol. do Departamento de Hyg. de Buenos Aires
É uma anat. similar a de Ramon, a que junta 1 u.a. por cc
Uma B. Agnes prepara-se de uma anatoxina derivada d'um
caldo contendo extracto proteico o que facilita e apressa
a transf. da toxina pelo formol e calor (2 a 18 dia, a 37°)
O. locais muito frequentes

Miss e Atkinson acham que o teor em globulina
 dum soro aumenta com o aumento do titulo
 antitoxico, e concluem que a prod. de antitoxina e'
 acompanhada da prod. de globulina.

Mas Meyer e Reymann verificaram um aumento
 na globulina do loro durante a immunizacão, mas o
 aumento de globulina não foi proporcional a' quant. de
 antitoxina.

Wheeler acha que o calcio, na forma
 de phosphato de calcio coloidal, era necessario para a
 prod. duma toxina potente.

x x

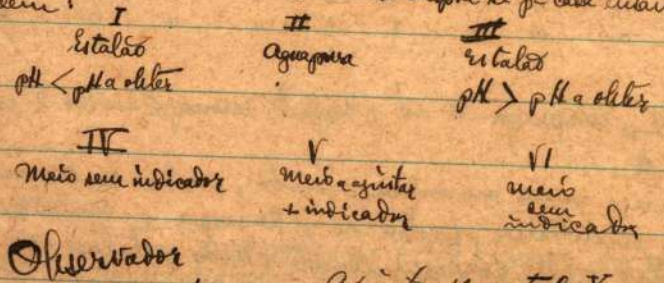
Sora flocculacão na lues e na tuberculose

metodo de Virus

Os processos p^a diagn. de lues actualmente são baseados sobre o principio
 de floccul. do precipitado + facil de se ver e que se produz quando se põe
 soro ou liq. rachiannos de sante com uma suspensão coloidal
 globulifera. A r. de Wassermann e' uma r. de floccul. que e' apreciada
 de modo indirecto pela hemolyse. Como não e' preciso anticom-
 especifico p^o Wassermann (alt. a' luetina persi), Sandsterner e Senad-Te
 concluíram que as globulinas do soro são muito instaveis no
 sphyllitico e precipitam em contacto das subst. coloidaes
 que constituem o extr. de organo
 certos compostos não proteicos no estado coloidal existentes no
 soro precipitam em presença de lipoides e soes liliars
 do figado, determinando a fixação do complemento.

Concl. os tubos de ensaio tinham uma metade de seu comprimento no bloco
 de madeira. Duas das faces lateraes são cheias, as duas outras são perfuradas de 3 pontos
 que dão a luz através dos 3 series de 2 tubos. Dispõe-se p^a cada ensaio os tubos na
 seguinte ordem:

Microscopio
luz luminosa



Aponta-se ao tubo V que contém 5cc
 de meio, e 0, cc 5 de indicadores (phenolphthaleina)
 na) a 0,01%. Com 1 uniao de metano (pimenta de pedra

dividida em dezinas e omida dum peg. tubo de litmochu com
 pinga de presen) deixa-se cair sobre o tubo, uma sol. de soda N/20 até
 que se obtiver uma cor intermedia entre as dos 2 estalões
 I e II visto através dos tubos de meio IV e VI.

a solucão de soda N/20 a empregar obtem-se mistu-
 rando 500 cc. N/10 com 91 cc de phenolphthaleina a
 0,01% e completando a 1000 com agua.

seg. Negler pro (C. B. B., 1924) a flocculação coloidal depende do grau de dispersão dos moléculas de albumina. Um valor cujo coeficiente de flocculação de albumina é elevado, deve floccular facilmente o soro.

concordância de 15% entre o método de Ehrlich e o de Ramon

Método de Ehrlich para dosar antitoxina

A R. de Floe, traduz a modificação animal + características da reacção entre a toxina e a autot. digt.

Ramon põe a superioridade de uma R. physico-chemica sobre um processo biológico, variável por diferenças individuais nos animais.

Defeitos do método de Ehrlich:
 Exige grande quantidade de colóides, variações individuais entre os colóides, variações de peso etc.

Schmidt acha que o método de Ramon e o de Ehrlich dão resultados acordes.

Reacção de flocculação

Desde 1922, Ramon (54) emprega o processo de flocculação para a dosagem do soro anti-difterico, considerando-o superior ao método de Ehrlich pela sua grande sensibilidade, rigor e facilidade de tecnica. A flocculação, de caracter específico, manifesta-se á temperatura do laboratorio, á principio por uma opalescencia, em seguida, por uma verdadeira flocculação que se effectua desigualmente nos tubos contendo quantidades diversas das misturas toxina-antitoxina. O tubo onde se realiza a flocculação, em primeiro lugar, traduz a perfeita neutralização da mistura.

O método de Ramon permite, do mesmo modo, medir o poder toxico duma toxina qualquer segundo o seu poder de flocculação em presença da anti-toxina.

Eis, para isso, a tecnica do autor (55): A uma serie de tubos de ensaio contendo 20 cc. de toxina activa, filtrada no 8º dia de cultura e mantendo uma cabaia de 250 grs. na dose de 1/600 cc. ajuntam-se quantidades decrescentes de soro antídifterico escolhido para futuras dosagens: 2 cc., 1 cc, 0,5, 1 cc 3 etc. até 0, cc2. Verifica-se em que tubo apparece a primeira flocculação; si esta se patenteia no tubo contendo 20 cc. de toxina e 0,7 de soro, por exemplo, deve-se concluir que esta quantidade de soro neutraliza tantas doses mortaes quantas se

emprega o método de Ramon em escala: Schmidt, Panauy, Weinberg, Joumy, etc.

Joumy e Hozskins propuseram o sym bolo Lf para designar o valor flocculante da toxina a digt.

pois a inj. em colóide de 1 ou mais cc. mistura tox-ant. na qual apparecem a flocc. inicial, mas provoca logo neutralização e a accão toxica de nova dose de toxina pura, enquanto as misturas ou de flocc. + tardia ou de toxinas ou sãõ antitoxinas.

(54) G. RAMON: Sur une technique du titrage, in: Comptes R. de la Soc. Biol. (séance 1er avril 1922).
 (55) G. RAMON: Sur la toxine et sur l'antitoxine diphtherique. Pouvoir flocculant et propriétés immunisantes—Annales de l'Inst. Pasteur n. 1, t. XXXVIII—1924.

Cont. Conhecendo o vol. n. de volume de cada N / 20 necessário para levar 5 cc de meio a 1 cc. desejada, o n. de cc. x de volume N de meio a ajustar a 1 litro de meio para obter o coef. procurado será = 10xN

Nicolle e Capri tinham já mostrado que se forma um disco opalescente na zona de contacto duma toxina concentrada e solidificada pela gelatina e duma diluição de 1000 a 10000

Seg. Kopatzewski a flocculação coloidal pode-se facilitar seja a diminuição da viscosidade dos líquidos, seja ao aumento da tensão superf. seja sobretudo a intralucção d'uma carga electr. nova suficiente p' romper o equilibrio micellar. É provavel que estes 36 factores actuem

associados achem contidas na mistura, portanto 600 x 20 = 12.000 doses mortaes. De sorte que 1 cc. deste mesmo sôro deverá provocar a flocculação em presença d'ella entre 67 de $\frac{12.000 \times 10}{7} = 17.000$ doses mortaes, o que e 68 dias por cc. corresponde a uma toxina com um poder toxico Al solubling do soro sôo electro equal a $\frac{17.000}{20} = 850$ doses mortaes por centimetro cubico.

O elemento fundamental da flocculação do soro é a carga electrica e a tensão superf. e a viscosidade são adjuvantes. Póde-se, então, estabelecer um quadro, valital da flocculação do soro para um dado sôro, em que se multipliquem sempre as diversas quantidades de sôro pela quantidade constante de toxina.

adjuvantes.

Doses de sôro ajuntadas a 20 cc. da toxina de que se quer dosar o poder toxico	Poder toxico correspondente a cada dose de sôro que provoca a flocculação inicial
1 cc. 5 (850 X 1,5)	1.275 doses mortaes por cc.
1 cc. 3 (850 X 1,3)	1.105
1 cc. 2 (850 X 1,2)	1.020
1 cc. 1 (850 X 1,1)	935
1 cc. (850 X 1)	850
0,9 cc. (850 X 0,9)	765
0,8 cc. (850 X 0,8)	680
0,7 cc. (850 X 0,7)	595
0,6 cc. (850 X 0,6)	510
0,5 cc. (850 X 0,5)	425
0,4 cc. (850 X 0,4)	340
0,3 cc. (850 X 0,3)	255
0,2 cc. (850 X 0,2)	170

Nas toxinas velhas diminui a velocidade de floccul. Razono de que as mat. flocculantes menos rapidamente se unem tambem diz que a toxide tem menos avides que a toxina. Segundo Schmidt é o formol que influe sobre a flocculação. Elle verificou a rapidez d'uma toxina e achou 10 minutos. Verificou a flocculação immediatamente depois da addição de formol e encontrou 17 minutos.

Depois de seiu a toxina formulizada na estufa e procedeu á m. de floccul. diariamente durante 14 dias, até á transf. em anatoxina. A velocidade de flocc. permaneceu constante, donde parece que a influencia do formol, desde a sua addição não depende da ma acção inactivadora.

em presença do mesmo soro, toxinas diff
 flocculam tanto + rapidamente quanto + elevad^o
 seu poder toxico.
 A toxina que floccula + rapidamente tem um poder
 antigenico + elevado.

Este quadro permite, por conseguinte, dosar o poder toxico duma toxina qualquer durante a sua preparação ou em epochas quaesquer.

A technica da dosagem de sôro pelo methodo de Ramon (56) é de grande simplicidade, resume-se na «determinação do poder saturante da toxina destinada ás dosagens e estabelecimento da taboa de dosagem correspondente a esta toxina».

Em tubos de ensaio contendo 20 cc. de toxina escolhida ajuntam-se quantidades decrescentes de sôro-padrão, dosando, por exemplo, 250 unidades de Ehrlich por cc.: 2cc; 1cc8; 1cc6; 1cc4; 1cc2; 1cc; 0,9cc; 0,8cc; 0,7cc; 0,6cc; 0,5cc; 0,4cc; 0,3cc; 0,2cc. Agitam-se as misturas que são deixadas em repouso á temperatura do laboratorio, observando-se em que tubo se effectua a flocculação inicial.

Supponhamos que esta flocculação appareça no tubo contendo 20 cc. de toxina e 0,8 cc. de sôro, o que indica que são precisas 250 unidades x 0,8 para saturar 20 cc. de toxina, isto é, 200 unidades de anti-toxina por centimetro cubico. Portanto, um sôro que na dose de 1 cc. mostrasse a flocculação inicial em presença de 20 cc. de toxina teria 200 unidades antitoxicas por cc. Um outro sôro que fizesse apparecer a flocculação inicial com 0,4 cc. conteria nesta dose 200 unidades, o que daria 500 unidades por cc. Para uma dada toxina pode-se, então, estabelecer uma taboa de dosagens segundo as doses de sôro capazes de neutralizar a mesma quantidade (20 cc.) de toxina:

Schmidt diz
 que toxinas tendo
 o mesmo valor
 flocculante (Kf)
 possuem ter valor to-
 xico desigual

A tox. e a anti-
 se combinam imme-
 diatamente?
 Mergensroth injectou
 misturas de toxina-anti-
 exactamente na
 excess, nos veios
 do coelho e no co-
 ração da cobaia
 e concluiu que a
 neutralização se
 faz lentamente.

A combinação toxina-anti. é directa
 vel por diff. subit., como os 1^{os} sôros B, C e I.
 Com Na I pode-se dissociar a combinação tox-anti,
 2^a formada (depois de Ramon) e achar de novo os 2 constituintes

(56) G. RAMON: La flocculation dans les mélanges de toxine et de serum antidiphthérique — «Annales de l'Inst. Pasteur» n. 12, 1923.

Schmidt Valor flocculante da toxina e valor toxico
 Uma toxina cuja D.M.M. é de 0,001 cc. pode floccular com um
 certo soro, supponhamos em 3 horas. Uma outra toxina cuja
 D.M.M. é de 0,003 pede com o mesmo soro p^a
 floccular num prazo de 10 a 12 horas.
 O electrolito entravam a ff. velocidade da ff.

Os floculinos separados, misturados, com a toxina flocular.

A suspensão faz aparecer rapidamente um precipitado, o pseudoglobo é mais rica em anti toxina, a flocul. se atrazou ou não se effectua. (?)

Doses de sôro ajuntadas a 20 cc. de toxina	Título correspondente a cada dose quando ella provoca a floculação inicial
2 cc.	100 unidades
1,8	110 >
1,6	125 >
1,4	145 >
1,2	165 >
1,0	200 >
0,9	220 >
0,8	250 >
0,7	290 >
0,6	330 >
0,5	400 >
0,4	500 >
0,3	600 >
0,2	1000 >

A velocidade de floculação e' sempre a mesma p- o mesmo cavallo, mulhera de vros de teor desigual.

Para dosar um sôro antidiphtherico qualquer, dispõe-se uma serie de tubos contendo a toxina (20 cc), e doses decrescentes do sôro. Verifica-se em que tubo se realiza a floculação inicial. Em seguida, basta recorrer á taboa de dosagens precedente.

A reacção opera-se mais rapidamente na estufa a 37° ou, ainda, em banho-maria a 45°, mas é preferivel, segundo Ramon, que se opere á temperatura do laboraterio.

O tempo necessario ao apparecimento da floculação, constante para o mesmo sôro fresco, varia com os diversos sôros, mesmo que sejam perfeitamente eguaes no teor antitoxico. O prazo varia de 15 minutos a 12 horas, mais raramente de 24 a 36 horas.

Ha uma intima relação entre o poder de floculação e o valor immunizante da antitoxina, que será tanto mais rica quanto mais rapida a floculação (57). Resulta, por conseguinte, que o poder antitoxico do sôro é função de dois valores: um,

57) G. RAMON: A propos de la vitesse de floculation du serum antidiphtherique vis-a-vis de la toxine spécifique—"Comptes R. Soc. Biol". n° 25, t. XCVII, 1927.

Diz Tapia que o calor acima de 65° faz a toxina perder a facultade de flocular.

(Isto porque, a bup, ordinaria or precipitam apparecem com intervallos, e a facilidade e' + facil distinguir no diversos tubos, a mistura que flocula em 1º lugar.

a abundancia do precipitado não está em relação directa com o volume do soro presente na mistura

Não se sabe si estas variações são devidas a modificações químicas ou físicas dos sôros, ou se são devidas a diferenças de afinidade específica dos sôros pela toxina, como quer Ramon

Schmidt pesquisou a acção de varios electrolitos sobre a floccul. a adicção de certos corpos retarda a floccul. Na Cl que, retarda mas não impede a floccul. O Brometo de sódio e o iodeto de sódio em alta concentraçõ impedem a floccul.

quantitativo, expresso em unidades de Ehrlich e outro, qualitativo—rapidez de flocculaçõ.

Schmidt, (58) um dos que mais estudou o methodo de Ramon, confirmando os trabalhos deste autor, mostrou a importancia da velocidade de flocculaçõ como indice do grau de afinidade do soro para a toxina especifica, independentemente do teor antitoxico do soro.

Tal verificaçõ fizera-a, igualmente, Chalapina que demonstrou a influencia nociva da irradiaçõ solar sobre a rapidez de flocculaçõ do soro, sem alterar o seu teor antitoxico original.

Madsen e Schmidt (59) admittem uma directa relaçõ entre a velocidade de reacçõ e o poder therapeutico do soro, o que verificaram experimentalmente, comparando o effeito curativo de soros tendo rapidez de flocculaçõ desigual. Assim, observaram que um soro (250 unidades por cc.), com poder neutralizante immediato sobre a toxina e rapidez de flocculaçõ igual a lh. 15', mostrou-se capaz na dose de 10 unidades, de curar coelhos que receberam, uma hora antes, por injeccõ intra-venosa, seis doses mortaes de toxina.

Outro soro examinado, de poder neutralizante tardio (14 horas) e de lenta capacidade de flocculaçõ (15 horas) só exercia o mesmo effeito curativo que o primeiro, na dose de 150 unidades.

Entretanto, as experiencias de Madsen e Schmidt foram repetidas por Chalapina (60) que obteve resultados irregulares que não confirmaram, em absoluto, as conclusões daquelles experimentadores, pois em taes experiencias deve-se levar em

Ehrlich diz que a toxina reage immediatamente sobre a anti-toxina como o HCl sobre a soda.

Archenius e Madson dizem que a neutralizaçõ e' lenta, como a do m. acido fosforico sobre um alcool.

Boudet acha que a neutralizaçõ da toxina pelo anticorpo e' uma absorpçõ, em parte, variavel.

Schmidt diz que a rapidez de flocculaçõ e' constante para soros de mesmo indice, mesmo de desigual teor antitoxico.

58) S. SCHMIDT: Le phenomène de flocculation des toxines diphtérique et tetanique vis-a-vis de leurs antitoxines—"Annales de l'Inst. Pasteur" n. 1, t. XLII—1928.

59) TH. MADSEN ET S. SCHMIDT: Sur l'avidité du serum antidiphtérique—"Annales de l'Institut Pasteur" n. 4. t. XL—1926.

60) K. CHALAPINA: Zur Frage der Flockungsavidität des Anti-Diphtherie-serums—"Zeitsc. fur Immunitatsforschung und experim. Therapie" n. 56—1928.

A adicção de maior quant. de formalina retarda floccul. da anat. de 2 ou 3 horas.

Um dos que mais estudou a mental construcçõ em phisicos de atraso do verho de uma sentença pelo sujeito de outra, determinando um sole como apparente, opera-se ali uma concordancia mental em detrimento da logica gramatical. Tal construcçõ e' de uso popular e classico.

Relação entre rapidez de flocc. e neutralização da toxina pela anti-t.

Schmidt pergunta n'a rapidez de flocc. tem relação estrita com a rapidez de neutralização. Pode-se admitir que não, que todos os soro neutralizam a toxina no mesmo tempo e que a diff. do tempo de flocc. tem por causa estados colloidales diferentes ou que os soro de g^o rapidez de flocc. tenham um catalysador que accelera a reacção.

Schmidt prefere crer que os soro de + lenta flocc. tenham subito inhibidores de reacção particularmente individual.

Récientemente, Ramon e Zoeller (61) mostraram a possibilidade da applicação do processo de flocculação ao estudo da immunidad antidiphtherica do homem, em condições semelhantes ás que se verificam na dosagem do sôro anti-diphtherico de cavallo.

A dosagem do valor antigenico da anatoxina expresso em unidades anatoxicas, é feita sem difficuldade pelo methodo da flocculação.

Ajunta-se a uma serie de tubos de hemolyse contendo 1 ou 2 cc. de anatoxina diphtherica que se quer dosar, um numero decrescente de unidades antitoxicas: 15-12-11-10-9-8-7-6-5-4-3-2-1. Agitam-se as misturas que são deixadas á temperatura ordinaria ou na estufa a 38°, ou em banho-maria a 45°. (Nestas ultimas temperaturas a reacção effectua-se mais rapidamente). Ao cabo de algum tempo, assaz variavel, verifica-se em que tubo se opera a flocculação inicial que exprime o valor da anatoxina em unidades anatoxicas.

Desde as suas primeiras experiencias, Ramon demonstrara a intima relação entre o poder de flocculação e o valor immunizante da anatoxina, tanto mais rico este valor quanto mais rapida a flocculação e quanto maior o numero de unidades antitoxicas exigidas para a reacção.

As observações de Ramon tiveram confirmação integral, merecendo destacadas as suggestivas experiencias de Sdrodowski e Chalapina (62) que estudaram minuciosamente a reacção de flocculação.

61) G. RAMON ET CHR. ZOELER: La flocculation dans les mélanges antigène diphthérique - serum humain et l'apreciation de l'immunité antidiphthérique chez l'homme "Comptes R. Soc. Biol" n°. 28 t. XCVII - 1927.

62) P. SDRODOWSKI UND K. CHALAPINA: "Centrabl. fur Bakteriologie. Parasteunkunde und Infektionskrankheiten" n° 103, 1927.

As unidades anatoxicas da anatoxina são expressas pela quant. de unidades anti-toxicas capazes de saturar in vitro 1cc. de anatoxina

ant. de Ramon em Annuaire do Inst. Pasteur n° 1-1925

Corral não fala em n. de flocculação mas sim em n. "de precipitação" de Ramon diz "poder precipitante" da toxina em vez de poder flocculante.

Método de Ehrlich para dosar soro

preços

o padrão em sol. glicerinada e dosado
uma toxina de prova de que reconhece a D.M.M., que deve ser o equivalente a 1000
sol. physiol. a 8,5 %
série de pipetas de 1cc. em decimais de cc.
pipetas de 1 a 200 quadrados em centésimos de cc.
série de peg. copo cônicos de 15 cc.

seringas de 1 e 5 cc.

col. n.º de col.iais de 250 a 300 grs. de peso

o soro que se quer dosar, previamente aquecido banho maria 58° 1/2

Soro-padrão: As sol. glicerinadas de soro-padrão contém gradualmente 1 u.a. por
Toma-se 1 cc. que se dilue em 9 cc., p.º que 1 cc.
contenha uma u.a. de Ehrlich.

Toxina de prova, Toxina velha pelo menos de 2 meses, estada na geladeira, e
D.M.M. se coquear, p. 24, igual a 9004 de cc.

Trata-se de saber exactamente a dose que é
neutralizada por 1 u.a. do soro padrão, isto é, a dose

So. p.º isso, numa serie de copos cônicos, fazem-se mis-
turas de toxina em doses crescentes, a partir de 100 vezes mais

a dose m.m., (seg. no caso 9,004 x 100 = 904,4) com
1 cc. da diluição de soro-padrão contendo 1 u.a.

Completa-se nos copos o vol. até 4 cc. com agua physiol.
Deixa-se em contacto a temp. do lab. durante 30 min.
Impeta-se cada mistura a uma col. de 250 a 300 grs. com

pele limpa e fresca.
A dose So, p. 24, se encontra igual a 9,46 cc (dose que

misturada a 1 u.a. não dá edema no 4.º dia),
em seg. Determinar a dose Lt, que é sempre

igual a dose So + 1 d.m.m. (no caso 9,51),
sempre é um pouco maior (no caso 9,51)

São as doses So e Lt que servem para dosar o soro.

Magnum do soro
No se faz-se diluições do soro a dosar a 1/10, 1/100, 1/200,

300 etc. em sol. physiol.
No 1.º tubo põe-se 9 cc. de agua physiol. e 1 cc. do soro a

dosar, agita-se. é a diluição I (dil. 1/10)
No 2.º tubo põe-se 9 cc. de ~~sol. physiol.~~ e põe-se 1 cc. da

diluição I (soro a 1/100)
Esta diluição a 1/100 é que se fazem as diluições

necessárias as quaes se finta a dose Lt de toxina. e
agua physiol. p.º completar 5 cc. em todos os tubos.
Depois de 30' de contacto, cada 1 das misturas é inoculada
a uma col.ia de 250 a 300 grs. Um soro dosado 350 u.
quando diluido a 1p, 349 em agua physiol. 1 cc.
esta diluição misturada ao Lt de toxina não mata
a col.ia em menos de 4 dias.

Poder preventivo do soro

Schmidt
de mui
limpa
por es
flores
Schmidt
sulfu
solu
flores

O Poder prev. dum soro e' dado pela quant. deste soro que e' preciso injectar a uma colhe pesando X grs. p^a preserval-a contra a intoxicacao por uma dose de cultura ou de toxina tendo sido injetada sobre a pelle do animal 24 h. ap^s o soro.

Si o, o,1 cc. de soro basta p^a preservar o animal de 500 grs. de peso contra uma dose de toxina mortal no referido prazo (Schmidt) o soro e' prev. a 1 por 50.000.

Ca
ava
anal
expos
de m
toxica
satura
de au

A medida do poder curativo do soro faz-se inoculando o soro 6 h. ap^s a dose mortal de toxina.

Em media — 40 u. pela via subcut.

7 " " " perit

0,08 " " via neurom.

Par
Amu
Pareu

Defeitos da flocculacao

Sao adeptos da flocculacao p^a dosagem de soro: Schmidt, Penzance, Scholtz, Bagny Jones etc. Sao contrarios: Sordelli, Maloney, Flannery O'Hall, Wallace etc.

Os soro conservados em condicoes diff. sofrem modificacoes de re. Plotz e Schuen montaram que o soro normal de cavallo guardado a 37^o, torna-se cada vez mais alcalino nos dias seguintes a 16^o ou 18^o o aumento de pH e' visivel + sensivel.

Co
su
Dij

No
ap
De
fran
mim
ma
augu
o po
nu
De
havia
lar

No
aus
a p

No inicio das pesquisas sobre immidade pensava-se que a
 aparicao de antitoxina no org. era devida a uma transf.
 directa da toxina injectada. Massee e Salomonson
 foram os 1º que tiveram a opiniao que num animal
 immunizado activamente havia prod. e destruicao conti-
 nuas de antitoxina. Eles mostraram que a pilocarpina
 aumentando as secrecoes seu geral augmentava tambem
 o poder antitoxico do sangue. O facto de sangue produzir
 um effeito eliminante sobre a formacao de antitoxina
 levou alguns autores (Wassermann, Pfeiffer) a supor que
 havia uma relacao directa entre a regeneracao globu-
 lar do sangue e a prod. de antitoxina.

O valor antigenico da anatoxina ou a accao dos
 diptherica ^{partes metalicas na prod. de antitoxina, ele supprime que certo, mas metalicos interveem na formacao da antitoxina e que si a animação fosse a matia a quant. de}

Datam de 1924 as primeiras communicacoes a respeito da vaccinacao pela anatoxina diptherica, cujas vantagens sobre a mistura toxina-antitoxina resultam claramente: A sua perfeita innocuidade quanto ao poder toxico, a rapidez de immunizacao e a longa duracao da immidade.

Darré, Loiseau e Laffaille (63) vaccinaram individuos de diversas edades, verificando o effeito da vaccinacao pela dosagem da antitoxina do soro e observaram em certos casos (mormente naquelles que apresentavam antes da vaccinacao um Schick-negativo) um grande augmento do teor antitoxico, que attingiu em uma das observacoes, 50 unidades por centimetro cubico, trinta dias após a vaccinacao. Estes mesmos autores investigaram a marcha da formacao de antitoxina sob a influencia da vaccinacao, bem como a persistencia do poder antitoxico do soro, que puderam verificar, ainda elevado, por dosagens successivas, 11, 12 e 13 mezes depois.

Roubinovitch, Loiseau e Laffaille (64) publicaram os resultados da vaccinacao pela anatoxina

63) L. MARTIN: Sur l'immunisation par l'anat. dipht. - "Bull. de l'Acad. de Med." n. 18, 1924
 DARRE, LOISEAU ET LAFFAILLE: De l'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine dipht. - "Bull. et Mem. de la Med. des Hôp. de Paris" n. 17, 1924.
 64) J. ROUBINOVITCH, LOISEAU ET LAFFAILLE: Sur la durée de l'immunité après vaccination antidiphtérique par l'anatoxine - "Bull. et Mem. Soc. Med. des Hôp. de Paris" n. 17, 1926.

Em cavallo immunizado contra a
 Diphth., a inj. de chlor. de manganes e na
 a inj. de toxina, estimula notavelmente
 o teor antitoxico do soro inj. de manganes, ha
 augmento do teor do fígado em manganes. Pode-se pensar que
 a prod. de antitoxina esteja ligada á presenca deste catalizador no fígado.

Weller verificou que a anat. tem valor preventivo
na conjunctiva Keratite dipht. experimental da
colera. Weller injecta esta colera com 1 cc. de anat,
6 dias depois nova inj. 6 dias depois a colera soffre instilla-
ção de leite no fundo de sacco conjunctivas do olho di-
reito, seguida de pincebagem de cultura de B. D. O olho

recebe leite e mezes depois das injectões.
Lereboullet e Joannon (65) vaccinaram, em
meio hospitalar, 13 creanças de Schick-positivo
com duas injectões de anatoxina, 1/2 e 1 cc. com
intervallo de 23 dias.

Tres semanas depois da segunda injectão, a
prova de Schick mostrou-se negativa em 12 crean-
ças, resultando, por conseguinte, uma immunização
efficaz em 92% dos casos.

Até 1926, Lereboullet, Boulanger-Pilet e Gour-
nay (66) já haviam vaccinado cerca de duas mil
creanças por meio da anatoxina diphterica, sob a
forma de tres injectões subcutaneas, sendo a pri-
meira de 1/2 cc., a segunda de 1 cc. 15 dias depois,
e a terceira de 1 cc., oito dias depois da segunda.
Aquelles autores obtiveram com duas injectões 95%
de immunizações, alcançando mesmo 100% com
tres injectões. As reacções provocadas pelo em-
prego da anatoxina diphterica são raramente obser-
vadas, limitando-se a simples reacções locais na
grande maioria dos casos, principalmente nas crean-
ças maiores e adolescentes.

Riquier e Vaillant (67) numa estatistica de
700 injectões em creanças, somente observaram 4%
de reacção febril moderada.

Ponce de Leon, (cit. Lemos Monteiro), em Mon-
tevidèu, vaccinou 192 creanças com reacção positiva
de Schick, por meio de duas doses de anatoxina,
obtendo, vinte dias depois da segunda inoculação,
98% de reacções negativas de Schick.

65) LEREBoulLET ET JOANNON: Immunisation
antidiphthérique de l'enfant par l'anatoxine diphtérique.
"Bull. et Mem. Soc. Med. Hôp. de Paris" n. 26, 1924.

66) P. LEREBoulLET, B. PILET et GOURNAY:
Les resultats de la vaccination antidiphthérique a l'anatoxine
de Ramon."Bull. et Mem. Soc. Med. des Hôp. de Paris" n.
15, 1926.

67) RIQUIER et VAILLANT: "La Presse Medicale"
n. 99, 1925.

Ramon diz que
em 100 cas.
anatomia
R. frac. 24%
mi. frac. 24%
R. med. 40 a 15%
u. forte, fracas. 15%

em 1925 Mozer vaccinou com avião 896 crianças.
 em 1923 houve 34 casos com 4 óbitos
 em 1924 " 36 " com 3 óbitos
 em 1925 " 67 " com 5 óbitos.
 em 1926 " 15 casos sem óbito (dos quais 5 em crianças não vacinadas e 4 em crianças com 1^o emprego)

Mozer, (68) de Berck, praticou em 1925 cerca de 896 vacinações pela anatoxina, o que trouxe notável modificação das condições hygienicas do seu hospital.

Merece apontada, nesta estatística, o relativamente grande percentual de reacções thermicas, pois em 48% dos casos a temperatura subiu a 37-38° e attingiu a 38-39° em 12% dos casos. Mas cumpre salientar que os vacinados de Mozer eram, na grande maioria, doentes de tuberculose externa.

Em Buenos Ayres, (69) Araóz Alfaro tem praticado a vacinação pela anatoxina, documentando os resultados com provas epidemiologicas de suggestiva significação.

Na America do Norte, a anatoxina de Ramon, sob a denominação de toxoide, tem sido usada por diversos experimentadores, d'entre elles, Zingher e especialmente Maloney. (70)

Este ultimo proclama justamente as grandes vantagens do toxoide diphterico, taes sejam a absoluta innocuidade quanto ao poder toxico e a ausencia de antitoxina, e, por isso, o seu emprego como antigeno evita a sensibilização ao sôro de cavallo, já verificada e assignalada por Stewart na immunização pelas misturas de toxina-antitoxina.

Maloney accentúa a importancia do valor toxico da toxina e da concentração em formalina (0,3%) na preparação da anatoxina a ser utilizada na vacinação.

No Canadá, desde alguns annos, a immunização anti-diphtherica pelas misturas toxina-antitoxina

68) M. MOZER: Douze mois de vaccination par l'anatoxine diphtérique a l'Hôpital maritime de Berck—"Bull. et Mem. Soc. Med. des Hôp. de Paris" n. 38, 1926.

69) ARAOZ ALFARO La vaccination antidiphthérique a Buenos-Ayres "Revue d'Hyg. et Med. Preventive" n. 4, 1928.

70) P. MALONEY: The preparation and testing of Diphtheria Toxoid (Anatoxine Ramon)—"Amer. Journal of Public Health" n. 12, 1926.

Hoeller verificou, que sobre 102 indios receptivos tendo tomado 2 inj. de anatoxina nenhum caso de dipht. houve. em 41 indios que receberam 1 inj. de anat. houve 1 caso de dipht.
 em 1400 indios receptivos não vacinados houve 48 casos de dipht.

foi abandonada, presentemente realizada por meio do toxoide diphterico.

Em S. Paulo, Lemos Monteiro praticou a vacinação pela anatoxina em 80 creanças, cuja immuni-
dade foi comprovada pela reacção de Kellogg, obtendo com duas doses cerca de 80% de immunizações.

O Dr. Zoroastro de Oliveira Filho (71) vaccinou 50 creanças, na capital de S. Paulo, obtendo com duas injecções uma immunização efficaz equivalente a 94% dos casos.

No Hospital Antony, Lereboullet e Joannon (72) verificaram que a reacção de Schick dos vaccinados tornou-se negativa, com duas injecções de anatoxina, em 100% dos casos, depois de dois mezes.

As divergencias dos algarismos que exprimem os resultados da vacinação explicam-se não só pelas qualidades individuaes das anatoxinas empregadas, como tambem pela desigualdade do periodo de repouso entre as injecções.

As reacções locaes causadas pela anatoxina consistem em dôr e rubor no ponto da injecção, acompanhadas ou não, de reacção geral, representada por elevação thermica que muito raramente ultrapassa 39°. Estas reacções desapparecem dentro de 24 ou 48 horas.

Ramon e Zoeller attribuem a origem destas reacções não á qualidade toxica do producto, mas particularmente á hypersensibilidade de certos individuos ás proteínas especificas do bacillo de Loeffler.

Esta interpretação implica a necessidade de discutir a significação da anatoxi-reacção de Zoeller e da pseudo-reacção na prova de Schick.

71) Z. OLIVEIRA FILHO: Contribuição ao estudo da vacinação anti-diphterica preventiva pela anatoxina especifica—These, 1927 (S. Paulo).

72) G. RAMON: La prophylaxie de la Diphtérie et la vaccination par l'anatoxine diphtérique—"Rev. d'Hyg. et de Med. Preventive" n° 6—1927.

*Voluntar diz que a tuberculino-x. é altamente especif
fica, mas a tuberc. x. focal pode ser ocasionalmente
engendrada por agentes não específicos. A x. a' tuberc
além de ser um phenomeno alergico, é provavel
mente tambem, em parte, não especifica, devida ao
estimulo das celulas (plasma-activação de Weichardt)
por a inf. de outras subst. tais como leite*

Desde 1924, Darré, Loiseau e Laffaille (73) ob-
servaram que os convalescentes de diptheria reagi-
am intensamente ás injectões de anatoxina, manifes-
tando-se a reacção por phenomenos de ordem local
ou geral. Não admittem, ao contrario das theorias
de Zoeller, que esta hypersensibilidade traduza per-
feitamente um estado de allergia, intermediario entre
a immundade e a receptividade, antes processo de
proteino-reacção banal.

Lereboullet e Joannon aceitam a doutrina de
Zoeller que identifica a pseudo-reacção de Schick e
a reacção anatoxínica, como manifestações de aller-
gia diptherica, determinada por uma sensibilidade
especifica. Este estado allergico, intermediario entre
a immundade e a sensibilidade, seria comparavel,
como assignalam aquelles autores, á allergia tuber-
culosa, creada por uma sensibilisação á tuberculina.
Observaram elles que as reacções mais intensas á
anatoxina se verificavam mais frequentemente nos
individuos que apresentavam pseudo-reacções na
prova de Schick.

Maloney (74) assignala um certo parallelismo
entre a rapidez de immunização pelo toxoide diphte-
rico e a intensidade das reacções provocadas pela
injectão.

Anteriormente, Dudley (75) já havia conside-
rado a pseudo-reacção de Schick um estado tempo-
rario, em relação directa com uma infecção pelo ba-
cillo de Loeffler em epoca anterior, tendo determi-
nado uma sensibilização especifica ás proteínas diphte-
ricas. Dudley tivera, assim, a primeira noção da
allergia diptherica, tão claramente ventilada pela

73) DARRE', LOISEAU et LAFFAILLE: Hypersensibilité
des convalescents de diphtérie a l'anatoxine diphtérique —
"Bull. et Mem. Soc. Med. Paris" n.º 26—1924.

74) P. MALONEY: The preparation and testing of
Diphtheria Toxoid—"Amer. Journal of Public Health" n.º 12,
1926.

75) S. DUDLEY: Réaction de Schick, Diphtérie et
Scarlatine—cit. in "Office Int. d'Hyg. Publique" n.º 5—1923.

Construção Clássica, melhores dizem os grammatistas
que é defectiva e errônea de usar-se do singular
verbo em seguida ao adjectivo ou pronome
conjunctivo que, precedido de um dos.
Frei Luis de Souza diz: esta cidade foi uma das que mais
se corrompeu

Pe Vileia: ⁴⁶ uma das coisas que muito se admira

Bacillo: Na
aria foi um dos
governao ora
que mais im-
pulsor ou.
obeto do Reiz;
Uma das que
mais se occupa
Bernardes etc.

doutrina de Zoeller e comprovava as suas idéas com factos e observações.

Na Escola Naval de Greenwich elle verificou pseudo-reacções em numero muito mais elevado nos individuos de reacção negativa de Schick que nos de reacção positiva, e, examinando alumnos antigos e recémchegados, encontrou entre os primeiros 24% de pseudo-reacções e somente 9%, entre os alumnos novos, isto é, entre aquelles que forneciam maior percentual de provas positivas, que não haviam tido relação com o meio contaminado pela diphtheria.

Realmente ha um
tal construcção

Zoeller, (76) um dos pesquisadores que mais contribuiu para o estudo da immuidade anti-diphtherica, faz timbre em identificar as pseudo-reacções de Schick e as reacções á anatoxina.

um phenomeno de
attractão, de tal
de uma sentença
pelo sujeito da
outra, delimita
quando um
solecismo apparece.
Opera-se
ahi uma concordância
mental e verbal
mento da regra
grammatical.

Baseado em que estas ultimas podem muitas vezes passar imperceptíveis na intimidade do tecido subcutaneo, Zoeller deliberou exteriorisar a sensibilidade do individuo á anatoxina por meio duma injeccção intra-dermica usando para isso anatoxina diphtherica na dose de 0,2 cc. diluida na proporção de uma gotta para cem gottas de soro physiologico.

Chamou a tal processo "anatoxi-reacção", que se traduz por um rubor diffuso, 24 horas depois da injeccção, desaparecendo progressivamente em tres ou quatro dias.

A "anatoxi-reacção" coincide geralmente com a pseudo-reacção de Schick, mas pode apparecer em casos de Schick negativo ou positivo.

que se aceita
tal construcção,
que é de uso
popular e de
uso classico,
que são os 2
factores da lingua

Zoeller considera-a como processo especifico, filiada a uma infecção anterior pelo bacillo diphtherico, expressão de um estado allergico, primeira etapa da immuidade.

Exaggerando a doutrina, pretende mesmo estabelecer um esquema de classificação onde se agrupam quatro categorias de individuos, segundo o seu modo de reagir á prova de Schick e á pro-

76) CHR. ZOELLER: La réceptivité et l'immunité dans la diphthérie. L'allergie diphthérique—"La Presse Médicale" n° 78-1924,

teino-reacção especifica, de maneira a fixar as phasess progressivas da immunização.

Como todo o eschema em questão biologica, só pode ter, é claro, significação relativa :

- 1.º grupo: *Individuos novos que não tiveram contacto com o germe* (reacção de Schick positiva e anatoxi-reacção negativa;
- 2.º grupo: *Individuos receptivos allergicos* (reacção de Schick positiva e anatoxi-reacção positiva);
- 3.º grupo: *Individuos allergicos immunizados* (reacção de Schick negativa e anatoxi-reacção positiva);
- 4.º grupo: *Individuos immunizados não allergicos* (reacção de Schick negativa e anatoxi-reacção negativa).

Segundo Zoeller, estes diversos grupos de individuos se comportam differentemente de conformidade com a extensão e a duração dos surtos epidemicos, pois tanto mais estes se accentuam, tanto menor o 1.º grupo e tanto maiores o 2.º e 3.º grupos.

A noção de allergia diphterica póde explicar, pela doutrina de Zoeller, as differenças que se observam entre os individuos receptivos no curso da vaccinação, cuja efficacia se manifesta mais rapidamente entre os individuos allergicos que entre os de anatoxi-reacção negativa.

Estudando o mecanismo da immunidade antidiphterica, Zoeller (77) aponta como o seu *substratum*, a reactividade organica, isto é, a faculdade do organismo reagir á introduccção de um antigeno toxico provocando a elaboração de anticorpos capazes de neutralizal-o. A immunidade antitoxica seria, para o autor, funcção da presença da antitoxina *real*, circulante no sangue e da antitoxina *virtual*, expressão da reactividade individual, isto é, o poder de produzir antitoxina em presença da toxina

(77) CHR. ZOELLER: La réactivité spécifique naturelle ou acquise—«La Presse Médicale» n.º 59—1925.

*Portet de: O elemento celular energicamente sollicitado
quarta permite com tempo a lembrança de sua reacção a um
pressão experimentada e por isso facilmente responde de
mesmo modo em seguida a o occorrido se apresenta*

especifica. E' esta reactividade que dá aos animaes immunizados contra as toxinas tetanica e diphterica a propriedade de resistirem a inoculações de doses mortaes de toxina, mesmo na total ausencia de antitoxina humoral.

Zoeller e Ramon (78) admittem uma reactividade natural, de natureza congenita, em relação com factores hereditarios, e uma reactividade adquirida, expressa na propriedade de reagir pela produção de antitoxina especifica.

Esta reactividade adquirida, esta aptidão reaccional do organismo, é o fundamento de toda a immunidade, de valor ontogenetico, resultante de aquisições individuaes, ao passo que a reactividade natural traduz o valor phylogenetico dos meios de defesa ligados ao interesse da especie (Zoeller) (79).

Ultimamente, diversos autores realizaram pesquisas sobre a immunização antitoxica por via nasal. Neste sentido destacam-se as observações de Zoeller, Ramon (80) e as de Lesné, Marquezy, Lemaire e Monmigant (81).

Zoeller e Ramon utilizando instillações nasaes de anatoxina pura ou anatoxina concentrada por evaporação, na estufa a 37°, misturada com glicerina pura, obtiveram resultados animadores de immunização, comprovada por meio da reacção de Schick e da dosagem da antitoxina do sêro. O teor antitoxico augmenta, por vezes, consideravelmente sob a influencia da rhino-vaccinação, podendo

(78) CHR. ZOELLER ET G. RAMON: De l'influence des facteurs non spécifiques dans l'apparition et développement de l'immunité antitoxique—«Bull. et Mem. Soc. Med. Paris» n° 28—1926.

(79) CHR. ZOELLER: La vaccination antidiphthérique par l'anatoxine—«La Presse Médicale» n° 42—1926.

(80) CHR. ZOELLER ET G. RAMON: La vaccination par voie nasale; la rhino vaccination antitoxique—«La Presse Médicale» n° 69—1927.

(81) LESNÉ, MARQUEZY, LEMAIRE, MONMIGANT: De l'immunisation antidiphthérique par voie nasale chez l'enfant—«Comptes R. Soc. Biol.» n° 15, 1927.

A immunização por via digestiva pela qual
é assas limitada. No animal adulto
(coelho e coelho) ella se fez só a cura
de uma administração parvia de leite,
que retira o muco de parede intestinal.

49

atingir depois de uma serie de instillações, duas, tres ou mais unidades por centimetro cubico.

Esta immunidade obtida por via nasal, explicam os autores, não é de natureza local, porventura admissivel por um tropismo todo especial do bacillo de Loeffler para a mucosa naso-pharingea. Trata-se realmente de immunidade geral, embora de mais lenta constituição do que a obtida por meio de injeções.

Pela rhino-vaccinação, Zoeller e Ramon acreditam poder interpretar o mecanismo da immunização occulta ou espontanea, tão commum na diphteria, onde o individuo adquire o estado refractario mercê de contaminações ligeiras, de apagada expressão clinica, mas capazes de provocar a vacinação lenta e efficaz.

Lesné, Marquezy, Lemaire e Monmigrant empregaram a anatoxina diphterica por via nasal, fazendo em 1926 as suas primeiras pesquisas sobre 124 pessoas, creanças e adultos. O methodo usado foi o das instillações de anatoxina pura, 3 a 4 gottas em cada narina, durante oito dias consecutivos; em seguida, repouso de oito dias e nova serie de instillações. Depois de 60 dias de tratamento a prova de Schick mostrou-se negativa em 98% dos casos.

Entre nós, Vital Brasil e J. Vellard (82) realizaram interessantes investigações sobre a immunidade experimental por via oral e por via nasal, mediante a toxina diphterica, a anatoxina e a vaccina diphterica lipoidica.

Resultou daquellas experiencias a noção de que a immunização antitoxica por via oral se realiza mui difficilmente, ao passo que a via nasal se mostrou favoravel á absorpção do antigeno, capaz de permittir facilmente a immunização.

(82) VITAL BRASIL E J. VELLARD: Immunidade anti-toxica experimental por via oral e por via nasal—*Brasil Medico* n° 50—1927

A qual. Prep. da qual (Moutetris) Toxina
 Moutetris foi prep. assim:
 Caseus de vitella 500 grs., aqua 1000 cc., Maceração durante a
 noite na geladeira. Passar no peneiro. Ajustar a reacção para +1 a
 phenolphthaleina. Inocular 10 cc. de uma cultura em caldo de 24 h.
 de bacillo coli communior p^a cada litro. Deixar na estufa
 durante 48 hrs. Inocular uma clara de ovo batida p^a cada 2 litros
 (tempo dispensavel) ferver durante 20', ajustar a ac. a 0,5 ghaes
 phl. Inocular a peptona de Witte 2%, et NaCl 0,5%.
 Ferver p^a dissolver. Verificar a ac. final e ajustar p^a
 pH 7,8 ou 8. Filtrar e distribuir 500 a 1000 cc. em frascos
 de Erlenmeyer de 5 litros. Esterilizar no autoclave.

Imunização Experimental

Para verificação do valor da anatoxina sob o
 ponto de vista experimental, escolhemos um grupo
 de cobaias pesando 250 a 300 grammas, animaes
 estes extremamente sensiveis á toxina diphterica.

Infelizmente, a exiguidade do material de que
 dispunhamos para as nossas experiencias não nos
 permittiu estender o plano dos trabalhos com o fim
 de comprovar a marcha da imunização experimen-
 tal pela dosagem da antitoxina dos animaes inocu-
 lados.

A nossa toxina diphterica, fornecida pelo Ins-
 tituto Butantan tinha os seguintes caracteres: Prepa-
 rada em março de 1925, em caldo fermentado pelo
 bacillo coli; cultura de bacillo Park n. 8; PH 7,
 8—D.M.M.= <0,0025 e> 0,0016 L+=0, 43 cc. pa-
 ra cobaia de 250 grs. de peso.

Tratava-se, pois, de toxina velha, estabilizada
 por conservação longa, mantida em baixa tempera-
 tura, sob uma camada de toluol.

Foi-nos necessario, desde logo, verificar nova-
 mente o valor toxico da toxina.

A dose minima mortal (D.M.M.) foi determi-
 nada pela inoculação duma serie de quatro cobaias
 com diluições crescentes de toxina, taes como: 1/200,
 1/250, 1/300, 1/400.

Estas diluições effectuadas pelo professor Octa-
 vio Magalhães correspondiam respectivamente a
 0,005—0,004—0, 0033—0,0025 de cc. de toxina.

Resumimos no quadro, abaixo, o effeito das
 inoculações.

Det. do pH da Tostina pelo proc. Jodoy

Jodoy mostrou que p^a a maioria dos liq. org. pode-se conhecer a x. actual delly si se conhecer os quant. de acido e alcali representadas em vol. equivalentes, necessarios p^a produzir uma determinada variacao de pH pois si a mesma doses 2 valores representa uma variacao iguala X uma simples interpolacao darã o valor primitivo do pH desse liquido.

(Mas este processo por neutralizacao e por nat, por principio, uma medida titrimetrica e nunca ionometrica)

Reagubos:

- 1) Sol. em alcool 50° de phtaleina do phenola 1%
- 2) Sol. aquosa de laranja de metylol a 0,02%
- 3) Sol de HCl 0,1 N
- 4) Sol. de soda 0,1 N

a 10 cc. do liq. a examinar deita-se HCl 0,1 N ate a laranja de metylol tomar a cor de rosa, isto e pH=4,1.

Chamemos V_m o n^o de cc. de acido emp.

Junta-se ao liq., soda 0,1 N ate a coloracao vermelha do phenol de phtaleina, isto e pH=8,1
Chamemos V_p+V_m o n^o total de cc. de soda utilizado sendo V_p o n^o de cc. que seriam necessarios ajuntar ao liq. primitivo, isto e, antes de tratado pelo acido, p^a se obter pH=8,1.

A cada cc. de soda, corresponderia pois uma variacao de $\frac{4}{V_p + V_m}$, sendo 4 a variacao total, em pH

produzida por V_p+V_m. O pH primitivo seria igual a 8,1.

1914
 39,4
 La Barreta
 O pHm durante a temp. a acrescentar p^a cima, cresce a partir de aqui p^a cima.

Cobaias nos.	Diluição de toxina	Data das injeções	Peso antes das injeções	RESULTADOS A 15-4-928	17-4-928	19-4-928
1	1/200	13-4-928	245 grs.	250 grs. Grande edema local Dyspnéa. Morte em 48 hs.	—	—
2	1/250	13-4-928	250 grs.	230 grs. Edema. Início de necrose. Dyspnéa. Morte em 48 horas.....	—	—
3	1/300	13-4-928	250 grs.	215 grs. Grande edema local..	Morte em 96 hs.	—
4	1/400	13-4-928	255 grs.	225 grs. Ligeiro edema.....	Início de necrose	Necrose

Nos estudos de La Barreira diz que nos estudos que comprometteram a vida, ha verdadeira pyothemia preagonica que antecede a morte de 1a e 2a dias.

Quantidade de temperatura da coelocia:
 Coloyazi subulbrum 37,1
 Micoelle da 37,5
 Paul-Jolyet 38,0
 Pichet 39,2
 La Barreira 39,4

Uraus sustenta que a temp. dos cobaias é diff. nos diversos países. La Barreira acoincide a temperatura de Seine (Paris) no momento de 7 cent. subulbrido de Valélie Aguida. O ppgm. de urina a temp. a alimentacao de 1a a 4 dias. cresce a partir de 2 dias e 2 a 4 dias.

Christiandem dij que na mita. d'op. hyper. as suprarenas
são quase sempre supertro. e hyperemiciadas, mas
não sempre. em 55 cobaias, elle viu as suprarenas em 35
casos. em 12 casos não havia a hyperemia, nos elles estavam
transfectos ou tinham plaças venueas, em 8 casos não
haviam signal de alteraçã dos suprarenas.

O edema pleural é' meos constante ⁵⁹ que a alter. dos suprarenas.

O edema local
nao é tipico da
diph. pois todavia
de germes vivos
deu por, uma
infiltração.

Deante dos resultados estabelecemos como dose
minima lethal a dose de toxina que matara o animal
em 96 horas, isto é, 0,0033 de cc. o que demonstrava,
portanto, uma ligeira diminuição do poder toxico
da toxina, em comparação á sua primitiva acti-
vidade.

As tres cobaias mortas foram submettidas á
necropsia cujos resultados constam do relatorio
abaixo, resumidamente transcripto:

glaturofalteu por erro typografico

Su Koch prova que a inj. de toxina
diph. fazia diminuir a taxa de abse
na lina nas suprarenas do coelho
e do cão.

COBAIA N.º 1.—Edema por toda a parede do ven-
tre, em torno do ponto de inocula-
ção, séde de necrose. Edema he-
morrhagico da parede abdominal.
Pulmões fortemente congestos. Pe-
queno derrame seroso nas cavi-
dades pleuraes de ambos os lados.
Congestão dos rins. Intensa hy-
peremia das capsulas suprarenas,
ingurgitadas de sangue, princi-
palmente do lado esquerdo.

COBAIA N.º 2.—Edema hemorrhagico na parede
do ventre, ao redor do ponto de
inoculação, séde de necrose.
Derrame pleural bilateral e ligei-
ro derrame seroso no pericardio.
Congestão pulmonar intensa. Con-
gestão renal, hyperemia das capsu-
las suprarenas.

COBAIA N.º 3.—Mesmos symptomas verificados
precedentemente, embora mais at-
enuados sobre os aparelhos re-
nal e pulmonar.

Merece assinalado o constante symptoma reve-
lado pelos animaes, a saber, a progressiva dimi-
nuição de peso.

A cobaia n. 4, injectada com 0,0025 cc. de toxi-
na, oito dias depois da inoculação, apresentava uma
larga placa de necrose secca, cuja cicatrização se pro-
cessou mui lentamente, sem suppuração, num prazo
de 15 dias.

Em seguida á determinação da dose minima lethal da toxina, quizemos verificar a qualidade atoxica da anatoxina diphterica, preparada pelo Dr. Lemos Monteiro (Instituto Butantan).

Inoculamos tres cobaias com 5 cc. de anatoxina conservada desde mais de seis mezes na geladeira e proveniente de toxina obtida em caldo fermentado, inactivada pela addicção de formalina, a 4%.. durante 30 dias na estufa, a 37°.

Das tres cobaias inoculadas, uma dellas apresentou, dias depois, uma pequena crosta superficial no ponto da injeccção, mas todas ellas sobreviveram durante mais de vinte dias de observação.

Devemos assignalar que uma das cobaias, justamente a que apresentara reacção local, morreu no 22° dia depois da inoculação. A necropsia não revelou signaes de intoxicação diphterica. As outras duas conservaram-se vivas por mais de trinta dias sem manifestação anormal.

Afim de verificarmos o poder antigenico da anatoxina, organizamos oito lotes de cobaias de 250 a 300 grs. de peso, as quaes receberam doses diversas com intervallos diferentes.

Os resultados das nossas verificações experimentaes vão, abaixo, discriminados :

COBAIAS 5 e 6.—Injectadas com 1 cc. de anatoxina, recebem, 10 dias depois, 5 D.M.M. de toxina. Uma dellas succumbe em quatro dias, com lesões especificas de intoxicação diphterica, verificadas pela necropsia. A outra sobrevive por mais de trinta dias e apresenta necrose no ponto de inoculação, sem phenomenos de paralysisia tardia.

COBAIAS 7 e 8.—Recebem 1 cc. de anatoxina; 15 dias depois são inoculadas com 5 D.M.M. de toxina. Sobrevivem por mais de 30 dias de

*Repsia fez experiencias de immunizacao de
cobaias com anatoxina, tomou um lote de
6 cobaias e com duas inf. de anatoxina
com espaços de 8 dias; 12 dias depois da
2ª inf. injectou 2 d. m. m. 54*

observação, sem alteração ge-
ral ou local.

COBAIAS 9 e 10.—Recebem 5 cc. de anatoxina e,
15 dias depois, 5 D.M.M. de
toxina. Permanecem em estado
normal por mais de 30 dias.

COBAIAS 11 e 12.—São injectadas com 1 cc. de ana-
toxina; 21 dias depois, rece-
bem 10 D.M.M. de toxina.
Permanecem vivas e sadias du-
rante mais de 1 mês.

COBAIAS 13 e 14.—Recebem 0,5 cc. de anatoxina;
15 dias depois, nova dose de
1 cc. Quinze dias depois da se-
gunda inoculação, são injecta-
das com 20 D.M.M. Em es-
tado normal durante mais de
um mês de observação.

COBAIAS 15 e 16.—Recebem 0,5 cc. de anatoxina;
15 dias depois, nova dose de
1 cc; 20 dias após a segunda
injecção, recebem 50 D.M.M.
de toxina. Uma dellas morre
14 dias depois e a necropsia
não revelou lesões de intoxica-
ção diptherica. A outra con-
tinuou viva, sem anormalidade,
durante mais de trinta dias.

COBAIAS 17 e 18.—Recebem 1 cc. de anatoxina; 30
dias depois, nova dose de 1 cc;
12 dias depois da segunda in-
jecção, recebem respectivamen-
te 150 e 200 D.M.M. de toxina.
Vivas e sadias durante mais
de um mês.

Destas experiencias podemos desde já concluir
que o effeito immunizante da anatoxina não depen-
de da quantidade injectada, mas sim do intervallo
de tempo que se guarda entre as inoculações.

Parece resultar, sob o ponto de vista experimental, que um prazo minimo de quinze dias seja necessario para constituir-se um grao apreciavel de immuidade, pois cobaias injectadas com anatoxina não resistiram á inoculação de 5 doses mortaes, dez dias depois da injeccão immunizante.

Quanto mais dilatado o periodo entre as vacinações, tanto mais garantida a resistencia do animal.

Ainda para demonstração do valor antigenico da anatoxina separaram-se tres cobaias vaccinadas e uma cobaia testemunha, (não vaccinada), que forneceram sangue para a pratica da reacção de Kellogg, que se mostrou positiva na cobaia testemunha e negativa nas immunizadas.

Seg. Kellogg, a r. de Schick e a r. de Kellogg dão resulta-
dos análogos nos 12 provas.

2) Em pessoas immunizadas com toxina-antitoxina, obtém-se um Schick-neg., mas algumas mostram ausencia de antitoxina pelo methodo de Kellogg, cerca de 20 a 30% em nossas experiencias.

3) Muitos destes indiv. mostram reação pelo methodo de Ramon

4) Estas pessoas são latentemente immunes, porque produzem rapidamente antitoxina em quant. dosavel si recebem um estimulo mesmo tão peg. quanto uma r. de Schick.

5) Há uma diff. entre os naturalmente immunes e os immunizados artificialmente. Os immunes naturalmente assim revelados

A Reacção de Kellogg e o valor antigenico da anatoxina

Em 1922, Wilfred Kellogg (83) em trabalho publicado em «The Journal of the American Medical Association» divulgou a technica de um novo methodo para revelar a presença de antitoxina diptherica no sôro, de mais rigor quantitativo que a prova de Schick.

Antes de descrever o seu methodo, Kellogg enumera as dificuldades e defeitos da reacção de Schick.

Em primeiro lugar, a toxina diptherica, mesmo conservada em optimas condições, soffre uma attenuação da sua actividade, o que exige constantes verificações dos seus valores toxicos, a determinação absolutamente rigorosa da dose minima lethal.

Além disso, a facil e rapida alteração da toxina diluida exige o seu emprego immediato. Ora, é claro que pequenas variações no valor toxico da toxina ou enganos na verificação da dose minima mortal podem acarretar, sinão accidentes serios, pelo menos resultados erroneos.

As pseudo-reacções de Schick podem trazer, em certos casos, difficil interpretação.

Maloney e Fraser, (84) estudando o valor da prova de Schick como test da immunidade anti-

(83) W. H. Kellogg: A test for Diphtheria Immunity and Susceptibility—«The Journal of the Amer. Med. Assoc.» 10, June, 1922.

(84) P. MALONEY C. FRAZER: Immunization with Diphtheria Toxoid (Anatoxin Ramon) «Amer. Journal of Public Health» n° 12—1927.

sempre tem anti-
toxina livre
enquanto os
immunizados
artificialmente
nao a tem.
isto sugere que
a immunidade
natural pode
existir não so-
mente pela
exposicao a in-
fecao mas tam-
ber pelo modo
em parte uma
occurancia
physiologica
(Kellogg)

diphtherica, encontraram frequentemente, graças á dosagem do teor antitoxico do sôro, grandes divergencias entre o resultado da prova e a quantidade de antitoxina, nos casos particulares de individuos reagindo de modo positivo á reacção de Schick e ao toxoide diluido (usado para substituir a toxina aquecida). Examinando o sôro de 29 individuos justamente nestas condições, encontraram em 22 delles um teor antitoxico superior a 1/10 de unidade, quantidade assaz sufficiente para produzir uma reacção negativa.

Kellogg e Ida Stevens (85) em observações numerosas, mostraram que a prova de Schick nem sempre pôde revelar o valor quantitativo da antitoxina humoral. Vaccinaram pela mistura toxina-antitoxina 70 creanças primitivamente Schick-positivo. Sete mezes mais tarde executaram o "Schick-test" nos individuos vaccinados, encontrando-o negativo em todos. Alguns mezes depois, submetteram o mesmo grupo de creanças vaccinadas aos dois methodos, Kellogg e Schick. O total de individuos examinados (em numero de 70) permanecia Schick-negativo, mas 17 dentre elles mostraram reacção positiva de Kellogg.

Estes individuos Schick-negativos e Kellogg-positivos não continham no sangue senão quantidades muito reduzidas de antitoxina, menos de 1/100 de unidade por centimetro cubico de sôro. Ora, uma reacção de Schick negativa devia significar um estado de immuidade antitoxica, o que mostrava nestas observações uma contradição formal com a base da intra-dermo-reacção diphtherica.

Depois de soffrerem nova serie de immunização, dez daquelles pacientes foram novamente submetidos aos dois methodos, resultando que tres dentre elles tiveram reacção negativa em ambas as provas, ao passo que os sete restantes continuaram nega-

[85] W. KELLOGG AND IDA STEVENS: Some observations regarding Diphter. Immunity—«The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n.º 4—1927.

tivos ao Schick e positivos ao Kellogg. Para melhor demonstração pratica, seis destes ultimos individuos foram, ainda uma vez, examinados e quatro delles revelaram, pelo methodo de Rômer, apenas 1/1000 de unidade antitoxica por cc. de sôro.

Estas pesquisas, sobremodo interessantes, deixam suppor que a immuidade antidiphtherica não pôde ser exclusivamente condicionada pelo factor «antitoxina humoral» mas parece depender igualmente de um certo grau de immuidade cellular, capaz de produzir sob a influencia de estímulos secundarios a rapida formação de antitoxina especifica.

Kellogg (86) justifica as qualidades vantajosas do seu methodo:

- a) Grande rigor como *test* de sensibilidade e immuidade á diphtheria;
- b) Ausencia de pseudo-reacções e de falsas reacções negativas;
- c) Execução da prova no laboratorio.

Ao contrario do que se lê em commentarios á reacção de Kellogg, este autor não preconizou o seu methodo como substituto da prova de Schick nos casos em que se necessite examinar grande numero de pessoas, porque a colheita de sangue, nestas condições, tomaria muito tempo. Mas merece approvação nos casos em que o processo de Schick forneça resultados duvidosos, no exame de pequenas collectividades e quando difficuldades technicas contraindiquem a pratica da intra-dermo reacção pelos medicos pouco experimentados no assumpto.

Park (87) chama a attenção justamente para os erros frequentes fornecidos pela reacção de Schick, devidos a defeitos de technica ou á qualidade da toxina.

86) W. KELLOGG: The intracutaneous guinea-pig test (Kellogg) for Human Susceptibility and Immunity to Diphtheria—«The Journal of the Amer. Med. Assn.», n. 11—1923.

87) PARK. Immunisation par le melange toxine-antitoxine et réaction de Schick—cit-in «Office Int. d'Hyg. Publique» n. 7-1923.

A prova de Kellogg consiste simplesmente na injeção intracutanea, numa cobaia branca, de uma mistura em partes iguaes de sôro sanguineo e uma diluição de toxina contendo $1/30$ da dose $L+$ por centimetro cubico. Suppondo que o sôro de um individuo contenha por cc. exactamente $1/30$ de unidade de antitoxina 0, 1cc de sôro deve conter $1/300$ de unidade, do mesmo modo que 0,1cc da diluição de toxina conterà $1/300$ de dose $L+$.

Misturando-se, portanto, 0,1cc. de sôro e 0,1cc. de diluição da dose $L+$, teremos um total de 0,2cc. encerrando $1/300$ de unidade antitoxica e $1/300$ da dose $L+$.

*0,1cc. da cada
ante o mesmo tipo
de tox. que 0,1cc. mas
de area menor.*

Para a execução do «Kellogg-test» é preciso conhecer rigorosamente o valor $L+$ da toxina, isto é, a quantidade de toxina que neutraliza uma unidade de antitoxina, deixando livre uma dose minima lethal, capaz de matar uma cobaia de 250 grs. em 96 horas.

A injeção da mistura na pelle da cobaia pôde ser positiva ou negativa: positiva, quando a antitoxina do sôro, inferior $1/30$ de unidade por cc., é insufficiente para neutralizar a toxina, produzindo-se a necrose cutanea; negativa, quando a toxina é neutralizada pela antitoxina, demonstrando a presença desta ultima num valor igual ou superior a $1/30$ de unidade por cc. A prova negativa manifesta-se pela ausencia de reacção ou por uma simples vermelhidão sem necrose.

A reacção positiva, indice de sensibilidade á diptheria, traduz um teor antitoxico inferior a $1/30$ de unidade por cc. Caracteriza-se por uma area vermelha, brilhante, que se forma dentro de poucas horas, numa extensão de 15 a 20 millimetros de diametro.

Em 24 horas, a area vermelha apresenta no centro uma zona branca de ischemia, que exprime o inicio da necrose. Em 48 a 72 horas, a mancha branca central ennegrece progressivamente, formando a placa necrotica que se elimina, dias depois, sob a forma de crosta.

Quando a area vermelha desaparece depois de 48 horas, podemos admittir que o teor antitoxico do soro examinado é vizinho de 1/30 de unidade.

Um mesmo animal permite que nelle se pratiquem duas ou mais reacções contemporaneamente, de accordo com a D. M. M. e o L+. da toxina usada.

Conhecido exactamente o L+. da toxina, addiciona-se-lhe glicerina neutra até completar 1cc. Esta mistura é conservada no *frigo*.

Para a pratica da reacção basta diluir a toxina glicerinada a 1/30, o que se obtiem diluindo 0,5cc. em 14,5 de solução physiologica. Por conseguinte, 1cc. desta diluição contem 1/30 de L+.; 0,1cc. da mesma diluição encerra 1/300 de L+.

Misturam-se os soros com a diluição da dose L+., em partes iguaes (0,1 ou 0,2cc).

Deixam-se os tubos em repouso, á temperatura do laboratorio, durante trinta minutos. (88).

Em seguida, fazem-se as inoculações intradermicas em cobaias brancas, despojadas de pello no ponto escolhido para a injeção, por meio duma agulha fina e seringa dividida em decimos de cc. (seringa para tuberculina).

As cobaias inoculadas são devidamente marcadas e observadas durante tres ou quatro dias para a leitura dos resultados.

A dose L+, de nossa toxina, determinada em 1925, era de 0,43 cc. para cobaia de 250 grs. Na falta de soro-padrão americano não nos foi possivel fazer nova verificação, pois naturalmente o limite lethal devia estar augmentado em virtude do enfraquecimento da toxina, o que realmente ficou provado pela dosagem que se dignou effectuar o Dr. Lemos Monteiro.

→ A dose L+, foi encontrada igual a 0,44 cc. para cobaia.

(88) W. KELLOGG: «The Journal of the Amer. Med. Assoc.» n. 11—1923.

Pa del. a dose L+.

Tomar 3 doses de toxina a saber: 0,43 cc e 0,44 cc e 0,45 cc
 Ajuntar 1 u. e. (1cc. de diluição de soro-padrão a 1pb)
 Completar o volume pa 4cc. com agua physiol.
 Agitar o tubo, por na estufa a 37° por 1/2 e injectar
 em coli. de 250 grs de peso.

Effectuamos a reacção de Kellogg num total de 50, entre as creanças do Asylo de Menores, a cujo Director Dr. Alberto Deodato, agradecemos a attenciosa licença para os nossos estudos.

A pratica do methodo nos deu o seu valor como *test* biologico do indice de receptividade á diptheria e do consecutivo estado de immuniidade depois do emprego da anatoxina. As primeiras pesquisas de Lemos Monteiro (89) sobre a reacção de Kellogg fizeram-se sobre um total de 46 creanças, de 6 a 14 annos de idade. Encontrou 10 reacções positivas, seja uma proporção de 23, 9%.

Em creanças de 8 a 16 annos, o Dr. Zoroastro de Oliveira Filho encontrou a prova positiva em 40% dos casos.

As nossas reacções (em numero de 50) feitas segundo a technica de Kellogg, em creanças de 7 a 15 annos forneceram 11 casos positivos, seja uma proporção de 22%.

Todas as reacções positivas mostraram a evolução typica da formação da necrose, num prazo de 48 á 72 horas. Praticamos duas reacções num mesmo animal.

As duas photographias que publicamos exprimem a differença entre a prova positiva e a negativa. As creanças Kellogg-positivas foram submettidas á immunização pela anatoxina preparada pelo Dr. Alcides Godoy, (*) do Instituto Manguinhos e que previamente experimentamos em cobaias para verificação do poder toxico e do valor antigenico. A sensibilidade das creanças á anatoxina foi previamente verificada pela anatoxi-reacção de Zøller.

(89) J. LEMOS MONTEIRO: Sensibilidade e Immuniidade á Diptheria (Inst. Butantan) 1926.

(*) A anatoxina preparada pelo Dr. Lemos Monteiro, já usada anteriormente em S. Paulo, não pôde ser utilizada porque se esgotaram as amostras que possuíamos, no curso das immunizações experimentaes.

Villala
 23/19 inocula
 de doença
 de 19 de fevereiro
 e obteve 5 resultados
 positivos, concluiu
 por 26,3% de
 resultados positivos
 Depois examinamos
 mais 8 doentes
 dos quais 2 com
 resultados positivos
 2 concluiu por 25%
 de resultados positivos

D. M. M.
 a 0,0033
 + = 0,44
 saber quanto
 M. estas condições
 + hasta
 de 0,44 por 0,0033
 133

7 de julho A anatoxina Jodny foi filtrada a 6 de
março de 1928, doada a 26 de março
deu 1 cc. e ~~abaco de 0,25~~ * ~~DMH~~
no de 0,0025

62

A primeira injeção de anatoxina fez-se na dose de 1/2 cc. Não determinou reacções geraes, unicamente uma elevação thermica ligeira (37°,5) em um caso, e pequena reacção local (dôr e rubor) em tres casos. Baseado nas verificações experimentaes que o effeito da immunização depende grandemente do prazo de repouso entre as injeções fizemos a segunda applicação (1cc) 25 dias depois da primeira.

A segunda inoculação foi egualmente bem tolerada, provocando somente duas ligeiras reacções locaes.

Trinta dias depois da segunda inoculação, colhemos novamente sangue para a verificação do "Kellogg-test" de immunidade. Das 11 creanças vacinadas somente 10 forneceram sôro para o exame. A prova de Kellogg mostrou-se negativa em todos os casos, revelando, assim, um estado completo de immunidade, 55 dias depois do inicio da immunização.

O sôro de duas creanças immunizadas, injectado em cobaias, na dose de 1 cc. foi capaz de proteger os animaes inoculados contra 400 e 600 doses mortaes de toxina, permanecendo vivos os animaes durante mais de vinte dias de observação.

Resulta, por conseguinte, que a anatoxina diptherica de Ramon possui um alto poder de provocar a producção rapida e abundante de antitoxina especifica.

Diz Tapia que nos ~~nos~~ ~~metodos~~
de demonstração de antitoxina
Palueli e Wassermann injectaram
em varias doses mininas mortaes com
uma certa quant. de soro do paciente.



Reacção de Kellogg positiva

Diagn. Gact. de angina

Semear a sup. do roso cozg. por petros paralelos. E' bom
semear 3 tubos sem carregar a alga. Estufa 37°. 24 h. ou
48 h. depois examinar.

As colonias do B.D. sa'derivas ou pedras, bordos nitidos, secas,
elevadas no centro.

O B. de Hoffmann das colonias firmes ou amareladas, circunsc.,
humidas.

As colonias de staphyl. albus sao de cor branca de porcelana,

as " " streptococci sao + fin, como grãos de
mostarda.

Fazer refrigerar pelo frasco (ficar pelo alcohol ether, corar

1/2' pelo ~~cryst.~~ violeta puerina

phenicaada. Negativar e sem

lavar, cor sugar forte 1/2'.

Negativar, decolorar expressa

pelo alcool acetona, lavar

e agua, corar novamente

Lavar, secar. B.D. em

violeta secos.

Corar os granubezes pelo Borri's

O B.D. faz fermentar a glicose, o que se não dá como B. Hoffmann
Semear-se em meio de thiel

ou meio de proso de leoi
olis —————
fascucado.

septona
nitros
de glicose
sacl
int. humect
de qua

é B.D. o meio fica
vermelho, n' é B. Hoffmann

o meio continua azul.

Prova da anaerolise facultativa

Cultura em gelose (tyrosada de Villon).
Pretar 1 colonia isolada após purificação (que se obtém semear em

caldo, e ressemendo em 2 ou 3 tubos
de caldo sem carregar a alga)

e diluir a colonia em 10 cc. de caldo. Suspende a glose a
banho-maria, num tubo de cultura, respirar rapidamente a
50°. Pretar com 1 pipeta 1 cc. de emulsão em outro, semear
a glose levando a pipeta ao fundo do tubo, misturar convenientemente
aspirar o tubo e pollo na estufa a 37°. O B.D. cresce em todo
a altura da glose sem atingir a superf. O pl. B.D. no 1º h
desenvolve na superf. e no 2º cont. sup. da glose



Reacção de Kellogg negativa

Lei de ação das massas aplicada aos ions

Constante de dissociação.

Quando se dissolve um acido tal como o HCl em agua, todos os moleculas de HCl não são dissociadas em ions. Ao lado dos ions H e Cl existem moleculas HCl dissolvidas, não dissociadas. Considera-se que as subst. dissolvidas se comportam como os gases. Pode-se aplicar-lhes a lei de ação das massas de Guldberg e Waage, isto é "a relação do producto das massas dissociadas a massa não dissociada é igual a uma constante p. uma temp. dada".

$$\frac{[H] \times [Cl]}{[HCl]} = K = \text{constante.}$$

O [] representa as concentrações em moléculas grammas. A quant. de ions H que forma um acido em solução depende de 2 factores: a diluição e a constante de dissociação.

Dissociação electrolytica da agua

A agua mesmo pura, conduz fracamente a corrente electrica, ella se dissocia e forma ions H e OH, mas é neutra porque a quant. iguaes de ions H e OH a agua tem como os acidos e ha-lhes uma constante de dissociação d' que se applica a formula geral:

$$\frac{[H] \times [OH]}{[H_2O]} = K$$

Mas no caso da agua a dissociação é muito pequena, a quant. não dissociada quase como a massa total, e que, a diluição não interessa, pois que a subst. dissolvida se comporta como o solvente. Segue-se que a quant. [H₂O] é constante, uma constante.

A formula de dissociação torna-se simplesmente p. uma temp. dada:

$$[H] \times [OH] = K_0$$

Este K₀ é chamado producto ionico

Por outro termo, a r. de equilibrio da agua surge que o producto ionico seja constante e igual a K. Ora, K, determinado por diversos methodos é igual a 10^{-14,14}

Introduzimos este valor na precedente equação:

$$[H] \times [OH] = 10^{-14,14}$$

Como no caso da agua pura as subst. neutras [H] é igual a [OH], vê-se que a agua pura contém 10^{-7,07} atomos-grammas de ions H e tantos ions OH, isto é, que a concentração dos ions ahí é igual a raíz quadrada do producto ionico.

Temos em logarithmos:

$$\log [H] + \log [OH] = \log 10^{-14,14}$$

$$\text{ora } [H] = [OH] \text{ tem-se } \log [H] = \frac{-14,14}{2} = -7,07$$

$$\text{e } pH = 7,07 \text{ (valor teorico) a } 18^\circ$$

Conclusões

Dos estudos que fizemos e das nossas verificações experimentaes resultam as seguintes conclusões:

- 1.º) As toxinas diphtericas estabilisadas, mesmo em optimas condições de laboratorio, no fim de algum tempo têm o seu poder toxico mais ou menos diminuido, dependendo o grau de enfraquecimento do modo de conservação do producto.
- 2.º) As lesões da intoxicação diphterica experimental são typicas, manifestando-se particularmente por uma alteração necrotica dos tecidos inoculados e por um tropismo especial da acção toxica sobre certos órgãos.
- 3.º) E' necessario verificar de quando em vez, *in vivo*, a actividade das toxinas conservadas, determinando-se para isso os seus valores toxicos, D. M. M. e L+. A primeira determinação (D. M. M.) tem particular interesse na pratica da intra-dermo reacção de Schick. O limite lethal L+, rigorosamente estabelecido, tem capital importancia na execução da prova de Kellogg.
- 4.º) As anatoxinas diphtericas preparadas pelos Drs. Alcides Godoy e Lemos Monteiro mostraram-se atoxicas e de alto valor antigenico, o que ficou perfeitamente demonstrado pelo seu poder de provocar a

formação de antitoxina especifica, em maior ou menor abundancia, conforme o intervalo das injeções, de modo a proteger o animal vaccinado contra doses mortaes de toxina (de 5 a 200 doses mortaes).

- 5.) A efficiencia immunizante da anatoxina manifestou-se, igualmente, pela transformação das reacções positivas de Kellogg em reacções negativas.
- 6.* Um prazo minimo de dez dias é necessario para o inicio de apreciavel immunidade experimental, em cobaias.
- 7.* A anatoxina diphterica por nós utilizada, nas doses de 1/2 a 1cc, não provocou reacções geraes. Mesmo as reacções locaes, observadas em tres casos, foram insignificantes, confirmando os resultados da anatoxi-reacção.
- 8.* Os prazos mais dilatados, (20 a 30 dias) entre a injeções, favorecem a producção mais intensa de antitoxina, não só no ponto de vista experimental como no da immunização no homem.
- 9*) A reacção de Kellogg constitue methodo rigoroso para a determinação da sensibilidade á diphteria e da immunidade antidiphterica. Exige technica cuidadosa não só na preparação do material injectavel como na propria inoculação intra-cutanea. Em virtude do tempo que se gasta na colheita de sangue, a prova não tem indicação para ser estendida ás grandes collectividades para fins sanitarios, mas merece franca acceitação nos casos mui frequentes em que se faça necessaria a verificação do indice de receptividade de pe.

quenos grupos e na impossibilidade tecnica da realização do processo de Schick. O rigor de seus resultados, a ausencia de causas de erros que complicam a reacção de Schick, a sua execução no laboratorio, a sua pratica em animal, são factores que falam em abono do methodo.

Pathog. dos paralyis diph.

No homum, não incompletas, variáveis e via de ação, curáveis.
No animas, não totas, incuráveis, uretaes

Pist cre' que ^{total} as paralyis diph. não são devidas a toxina de Roux. Injetando este de corpos lacillares elle pod reproduz paralyis comparavris a' do homum e não influenciam pelo sero. Elle filia este paral. a uma sudotoxina lentamente diffusivel, ação tardia, distincta da toxina solvel., que so' causaria as paral. precoces. Pist fez notas que os paral. sobrevinham quando a K. de Poli era neg. Baloumeix mostrou que com a exo toxina se podia reproduzir acientis nisi vixitibus do vito no homum.

Deve-se admitir que a paral. resulta da fixação da tox sobre o syst. nerv., mas dizem que a tox atingem o syst. nerv. por via sang., outros querem que vá por via nervosa, como quer Baloumeix este vir, injetando toxina no sciatico dum coelho, produziu-se uma paralyia da gata correpo, pert. sphincter rinos, depois uma paralyia da gata, e depois uma quadriplegia. As leis nervos, não tem sido esclarecidas leis do nervo, leis da medulla etc.

Bibliographia

- A. LEULIER, P. SEDALLIAN ET J. GAUMONT: Etude analytique de la toxine diphtérique—"C. R. Soc. Biol". n° 34, t: XCVII-1927.
- A. BESSEMANS: La lutte antidiphtérique en Belgique—"Office Intern. d'Hyg. Publique" n° 2, 1926.
- A. CASTELLI: Imunização anti diphtérica por via nasal, cit. "Archivos de Biologia" n° 135-1928.
- ABRAHAM ZINGHER: Results of active Immunization with Diphteria toxin-antitoxin "The Journal of The American Medical Association", n° 25, vol. 78, 1922.
- A. ZINGHER: Immunité obtenue avec le toxoïde diphtérique et les mélanges de toxine-antitoxine 1/10 L+—"Office Int. d'Hyg. Publique" n° 10, 1925.
- A. CALMETTE, L. NEGRE ET A. BOCQUET: Manuel technique de Microbiologie et de Sérologie, 1926.
- A. BERTHELOT ET G. RAMON: Sur les agents de transformation des toxines en anatoxines—"Comptes Rendus de l'Académie des Sciences" n° 4, t. 180, 1925.
- A. GILBERT ET P. CARNOT: Bactériothérapie, Vaccination et Sérothérapie, 1909.
- A. SORDELLI ET R. SERPA: Titrage du serum antidiphtérique par la méthode de Ramon—"Comptes Rendus de la Soc. de Biologie" n° 31, 1924.
- ALOIS BACHMANN y J. M. DE LA BARRERA: Vacuna antidiférica del Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene—"Revista del Instituto Bact. del Depart. Nacional de Higiene" n° 3, vol. III, 1923.
- A. SORDELLI y R. WERNICKE: Influencia de los azúcares sobre la producción de toxina diférica—"Revista del Inst. Bact. del Dep. Nac. de Higiene" n° 6, 1921.
- A. SALVAT NAVARRO: Tratado de Higiene, 1926.
- BLOOMBERG AND FLEMING: Diphteria Immunization with Diphteria Toxoid—"Canadian M. Ass. J." 1927, vol. 17.

CHESTER A. STEWART: Serum Sensitization Resulting from Diphtheria Toxin-Antitoxin Administration — "The Journal of the Amer. Med. Ass." n° 16. vol. 88, 1927.

CHESTER A. STEWART: Anaphylactic Reactions following the administration of serums to children previously immunized against Diphtheria—"The Journal of the Amer. Med. Ass." n° 2, vol. 86, 1926.

CHARLES S. GIBBS AND GEO F. RETTGER: Some factors Governing the production of Diphtheria toxin in artificial culture media—"The Journal of Immunology" n° 5, vol. XIII — 1927.

CHR. ZOELLER: Resultats éloignés de la vaccination anti-diphthérique par l'anatoxine—"Bulletins et Memoires de la Soc. Medicale des Hôpitaux de Paris" n° 17, 1925.

CHR. ZOELLER: La Pratique de la vaccination par l'anatoxine diphtérique—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris" n° 16, 1926.

CHR. ZOELLER: La Vaccination par l'anatoxine diphtérique chez l'adulte—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris". t. XLVIII, 1924.

CHR. ZOLLER; La réactivité spécifique naturelle ou acquise—"La Presse Medicale" n° 59, 1925.

CHR. ZOELLER: La Réceptivité et l'Immunité dans la Diphtérie—"La Presse Medicale" n° 78, 1924.

CHR. ZOELLER: Toxine diphtérique et vaccination locale — "Bull. de L'Institut Pasteur", t. XXII, 1924.

CHR. ZOELLER: L'Anatoxi-réaction ou proteino-reaction révélatrice de l'allergie diphtérique—"Bull et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris", n° 24, 1924.

CHR. ZOELLER ET G. RAMON: De l'immunisation antitoxique par voie nasale chez l'homme et du mecanisme de l'immunisation occulte—"Comptes Rendus de La Soc. Biologie", n° 11, 1927 e "Bull. de l'Academie de Med." n° 26, 1927.

CHR. ZOELLER ET G. RAMON: De l'Influence des facteurs non spécifiques dans l'apparition et developement del'immunité antitoxique—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris", n° 28, 1926.

CHR. ZOELLER ET G. RAMON: "La vaccination par voie nasale — "La Presse Médicale" n° 69, 1927.

D. KISSIN UND L. BRONSTEIN: Zur Frage der Bildung der Anatoxine — "Zeitschrift fur Immunitats forschung und exper. Therapie" n° 56, 1928.

CHALAPINA: Zur Frage der Flockungsaviditat des Anti-Diphtherieserums—"Zeitschrift fur Immunitats forschung und exper. Therapie" n° 56 — 1928.

C. ARTIN: Etude et traitement des porteurs des germes diphtériques—Thèse de Paris, 1927, in "Bulletin of Hygiene" n° 5, 1928.

DARRE', LOISEAU ET LAFFAILLE: De l'immunisation antidiphthérique par l'anatoxine—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris" n° 17, 1924.

DARRE', LOISEAU ET LAFFAILLE: Sur la persistance du pouvoir anti-toxique dans le sérum des sujets vaccinés par l'anatoxine diphtérique—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris" n° 13—1925.

DARRE', LOISEAU ET LAFFAILLE: Hypersensibilité des convalescents diphtériques a l'anatoxine diphtérique—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôpitaux de Paris", n° 26, 1924.

DOPTER ET DE LAVERGNE: Diphtérie, in "Traité d'Hygiène" de L. Martin et G. Brouardel, 1925.

ERICH NASSAU: Ueber Erfahrungem bei der Prophylaxe der Diphtherie mit dem Ramonschen Anatoxin—"Deutsch. Wochenschr.", 24-6-1927.

EDWARD L. BAUER y H. B. WILMER: Toxina-antitoxina. Hypersensibilidad al contenido de proteina—"The Journal of The Amer. Med. Asc." n° (edición en espanol).

E. MOLINELLI: Reacciones vasomotrices y adrenalino-secretorias em los perros con intoxicacion difterica—"Rev. de la Soc. Argentina de Biologia", n° 3, 1927.

EUG. CENTANNI: Trattato di Immunologia.

E. BERTARELLI: A vacinação e a imunização contra a diphteria "Archivos de Biologia" n° 133, 1927.

F. DESTEFANO, VACCAREZZA y J. CONSIGLIERE: La reaccion de Schick en el adulto—"La Semana Medica" n° 42, 1923.

FRIEDEMANN: Das Diphtherie problem—"Klinische Wochenschrift" n° 10—1928.

FRIEDEMANN: Das Diphtherie problem "Klinische Wochenschrift," n° 11, 1928.

FRANK KELLY, IDA M, STEVENS AND MARGARET BEATTIE: Results of Schick Tests in California—"Public Health Reports" n° 49, vol' 40, 1925.

F. DUDLEY: Réaction de Schick, diphtérie et scarlatine—"Office Int. d'Hyg. Publique" n° 5, 1923.

G. RAMON: La floculation dans les mélanges de toxine et de sérum anti-diphtérique,—"Annales de l'Institut Pasteur" n° 12, 1923.

G. RAMON: A propos du titrage *in vitro* du sérum anti-diphtérique par floculation—"Comptes Rendus de la Société de Biol". 1922, seance 29 avril.

G. RAMON: Sur un technique du titrage *in vitro* du sérum anti-diphthérique—"Comptes Rendus de la Soc. de Biol". 1922, séance de 1.^{er} avril.

G. RAMON: Des anatoxines—"Comptes Rendus de L'Académie des Sciences"; 1924, t. CLXXVIII.

G. RAMON: Sur la toxine et sur l'anatoxine diphtériques—"Annales de l'Inst. Pasteur" n° 1, 1924, t. XXXVIII.

G. RAMON: Sur l'anatoxine diphtérique et sur les anatoxines en général—"Annales de l'Inst. Pasteur" n° 1, 1925, t. XXXIX.

G. RAMON: Sur le contrôle et les mesures des propriétés de l'anatoxine diphtérique—"Bull. de l'Acad. de Médecine" n° 6, 1925, t. XCIII.

G. RAMON: Procédés pour accroître la production des antitoxines—"Annales de l'Inst. Pasteur" n° 1, 1926.

G. RAMON: Sur l'apparition des anticorps "Bull. de l'Inst. Pasteur" n° 4, 1925, t. XXIII.

G. RAMON: Les sérums antidiphthérique et antitétanique purifiés et la prophylaxie des accidents sériques—"La Presse Médicale" n° 21, 1926.

G. RAMON ET E. GRASSET: La réaction de floculation et le dosage du pouvoir antitoxique du sérum antidiphthérique purifié—"Comptes Rendus de la Soc. de Biol". n° 25, 1926, t. XCV.

G. RAMON: La prophylaxie de la diphtérie et la vaccination par l'anatoxine diphtérique—"Revue d'Hyg. et de Médecine Préventive" n° 6, 1927.

G. RAMON: Sur la spécificité et la signification du phénomène de floculation dans les mélanges toxine-antitoxine diphtériques—"Comptes Rendus de la Soc. de Biol." n° 24, 1927.

G. RAMON: A propos de la vitesse de floculation de sérum antidiphthérique vis-a-vis de la toxine spécifique—"Comptes R. de La Soc. Biol." n° 25, 1927.

G. RAMON ET E. GRASSET: Recherches sur le passage des toxines, des anatoxines et des antitoxines à travers les parois du tube digestif—"Annales de l'Inst. Pasteur" n° 8, 1927, t. XLI.

G. RAMON, J. NATTAN LARRIER ET E. GRASSET: Contribution à l'étude du passage des antigènes et des anticorps à travers le placenta—"Annales de l'Inst. Pasteur", n° 8, 1927.

G. RAMON: Sur la stabilité des propriétés de l'anatoxine diphtérique—"Comptes Rendus de la Soc. de Biol." n° 17, 1928, t. XCVIII.

G. RAMON: De la valeur comparée de l'anatoxine diphtérique et du floculat anatoxine—antitoxine pour la pro-

duction de l'immunité antitoxique spécifique — "Comptes R. S. Biol." n° 5, 1928, t. XCVIII.

G. ARÁOZ ALFARO: La vaccination antidiphthérique a Buenos Aires — "Revue d'Hyg. et de Med. Preventive" n° 4, 1928.

G. ARÁOZ ALFARO: La vacunación antidifterica em B. Aires — "La Semana Medica" n° 36, 1927.

G. BILLARD: Immunisation non spécifique du cobaye par certaines neurotoxines contre d'autres neurotoxines "Journal de Physiol. et de Path. Gen." n° 1, 1927.

G. PECORE: L'immunité antidiphthérique chez les vieillards — "Office International d'Hygiène Publique" n° 4, 1927.

GENESIO PACHECO: A proposito da prophylaxia e do tratamento da diphtheria — "Sciencia Medica" n° 2, 1924.

G. MOURIQUAND, A. LEULIER ET P. SEDALLIAN: Toxine diphthérique et adrenaline des surrenaux — "Comptes R. de l'Acad. des Sciences" n° 22, 1927.

HENSEVAL ET NELIS: Recherches sur la vaccination antidiphthérique a l'aide de l'anatoxine — "Comptes R. de la Soc. Biol." n° 29, 1924.

H. G. WELLS: The Chemical Aspects of Immunity— 1925.

HANS EBERHARD: Ergebnisse der aktiven Diphtherieimmunisierung mit. T. A. F. nach H. Schmidt — "Deutsche Mediz. Wochenschrift". n° 3 — 1928.

HENSEVAL ET NELIS: La diphtherino-reaction chez le cobaye et le lapin — "Comptes Rendus de la Soc. Biol." n° 33, 1924.

H. VINCENT: Sur les propriétés générales des cryptotoxines — "Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences", n° 22, 1926.

H. VINCENT: Nouvelles recherches sur les cryptotoxines microbiennes — "Comptes Rendus de l'Acad. des Sciences", t. CLXXXIV, 1927.

H. OPITZ: Sur la prophylaxie moderne de la diphthérie — "Office Int. d'Hyg. Publique", n° 1, 1923.

H. OPITZ: L'inoculation intracutanée de toxine diphthérique — "Office Int. d'Hyg. Publique" n. 3, 1925.

H. DEICHER UND F. AGULNIK: Ueber gehäuftes Auftreten ungewöhnlich bösartiger Diphtherie — "Deutsche Mediz. Wschenschr", n. 20, 1927.

J. KOLMER: Infection, Immunity and Biologic Therapy, 1925.

J. BARROS BARRETO: Práticas modernas de imunização em infecções peculiares á infancia — "Archivos de Hygiene", n. 1, 1928.

J. LEMOS MONTEIRO: Anatoxina diphterica e seu valor pratico — "Inst. Butantan", 1926.

J. LEMOS MONTEIRO: Sensibilidade e Immunidade á diphteria "Inst. Bu.antan", 1926.

J. ROUBINOVICCH, G. LOISEAU ET A. LAFFAILLE: L'immunisation antidiphtérique chez l'enfant par l'anatoxine diphtérique — "Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris", n. 18, 1924.

J. COMBY: L'Immunisation spontanée contre la diphtérie: "Bull. de l'Acad. de Méd." n. 4, 1925.

L. MARTIN, G. LOISEAU ET A. LAFFAILLE: Sur l'immunisation par l'anatoxine diphtérique dans les milieux scolaires et dans les preventoriums ou sanatoriums contaminés — "Bull. et. Mem. Soc. Med. des Hôp. de Paris", n. 17—1926.

LESNE', BOUTELLIER ET LANGERON: Application de la diphtérino—reaction (réaction de Schick) a l'étude de l'immunité antidiphtérique passive chez l'enfant — "Archives de Med. des Enfants", n. 8, 1924.

LESNE': A propos de la seroprevention et de la sérotherapie antidiphtérique purifiée de l'Inst. Pasteur et la vaccination antidiphtérique par l'anatoxine de Ramon—"Bull et. Mem. Soc. Med. des Hôp. de Paris", 15, 1926.

LESNE', MARQUERY ET VAGLIANO: Rapidité de diffusion dans l'organisme de l'antitoxine diphtérique introduite par voie parenterale — "Archives de med. des enfants". n. 8, 1924.

L. MARTIN: Sur l'immunisation antidiphtérique par l'anatoxine "Bull. de l'Acad. de Med." n. 18, 1924.

MONCKTON COPEMAN: Immunization against Diphteria, scarlet fever and Measles — "British Medical Journal" n. 3515, 1928.

M. J. ROSENAU: Preventive Medicine and Hygiene, 1925.

M. NICOLLE: Les antigènes et les anticorps, 1920.

M. TAPIA: Profilaxis de la difteria, 1925.

M. MOZER: Douze mois de vaccination par l'anatoxine diphtérique a l'hôpital maritime de Berck — "Bull. et Mem. de La Soc. Med. des Hôp. de Paris", n. 38, 1926.

P. NELIS: Recherches sur la vaccination antidiphtérique — "Comptes Rendus de la Soc. Biologie", n. 14' 1925.

P. NELIS: Attenuation et pouvoir antigène de la toxine diphtérique traitée par diverses substances — "Annales de l'Inst. Pasteur", n. 8, 1926, t. XL.

P. NELIS: Action de la quinine sur la toxine diphtérique Comptes R. de la Soc. de Biol.", n° 14, 1925.

P. NELIS: Action de l'oléate de soude sur la toxine diphtérique—"Comptes Rendus de la Soc. de Biol.", n° 33, 1924.

POTTER: La vaccination antidiphtérique a l'aide de la toxine chauffée—"Comptes R. de la Soc. Biol". n° 29, 1924.

P. HAUDUROY: Toxines diphtériques donnant naissance à un bacille diphtérimorphe—"Comptes R. de l'Acad. des Sciences", n° 7, t. 184, 1927.

P. J. MALONEY AND C. J. FRAZER: Immunization with Diphtheria Toxoid (Anatoxine Ramon)—"American Journal of Public Health" n° 10, 1927.

P. J. MALONEY: The preparation and testing of Diphtheria Toxoid (Anatoxine Ramon)—"Amer. Journal of Public Health" n° 12, 1926.

P. LEREBoullet, BOULANGER-PILET ET GOURNAY: Les résultats de la vaccination antidiphtérique à l'anatoxine de Ramon—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp." n° 15, 1926.

P. LEREBoullet ET JOANNON: L'immunisation antidiphtérique de l'enfant par l'anatoxine diphtérique—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris", n° 26, 1924.

P. LEREBoullet, BOULANGER-PILET ET LE-LONG: L'anatoxi-réaction de Zoeller chez l'enfant—"Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris" n° 29, 1924.

P. LEREBoullet, G. BOULANGER-PILET; Manuel clinique et thérapeutique de la diphtérie, 1928.

PARK: Immunisation par le mélange toxine-antitoxine et réaction de Schick "Public Health Reports" n° 128, 1922, cit. in "Office Int. d'Hyg-Publique", n° 7, 1923.

P. CARNOT: Les progrès récents en thérapeutique anti-infectieuse, 1926.

Roux et JERSIN: "Annales de l'Institut Pasteur" 1894.

P. L. MARIE: La vaccination antidiphtérique—"La Presse Médicale", n° 17, 1925.

P. SDRODOWSKI UND K. CHALAPINA: Studien über Diphtherie anatoxin—"Centralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten" n. 103, 1927.

R. BARANSKI ET H. BROKMAN: Etude sur la pseudo-réaction diphtérique—"Comptes R. de la Soc. de Biol" n° 27, 1926.

RIBADEAU-DUMAS ET CHABRUN: L'immunisation active du nourrisson contre la diphtérie—«Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp. de Paris» n° 27, 1926.

RIBADEAU-DUMAS ET CHABRUN: Sur la fréquence et l'importance de l'infection diphtérique chez les nourrissons — «Bull. et Mem. de la Soc. Med. des Hôp» n° 6, 1927.

S. SCHMIDT: Le phénomène de flocculation des toxines diphtérique et tétanique vis-a vis leurs autitoxines—«Annales de l'Inst. Pasteur» n° 1, 1928, t. XLII.

S. SCHMIDT: Sur l'emploi de l'anatoxine et du taploca dans l'immunisation—«Comptes Rendus de la Soc. Biol» n° 9, 1927, t. XCIV.

S. SCHMIDT: Remarques sur la technique de titrage du sérum anti-diphtérique d'après la méthode de Ramon—«Comptes R. Soc. Biol.» n° 15, 1924.

S. B. HOOKER: L'immunisation active des adultes contre la diphtérie — Office Intern. d'Hyg. Publique" n° 1, 1925.

TH. MADSEN ET S. SCHMIDT: Sur "l'avidité" du sérum antidiphtérique — «Annales de l'Inst. Pasteur», n° 4, 1926.

TZANCK, R. WEISMANN-NETTER ET J. DALSACE: Phénomène d'Arthus succédant à une première injection d'anatoxine diphtérique — «Comptes R. de la Soc. Biol" n° 1, 1925, t. XCIV.

W. PARK: Immunisation par le mélange toxine-antitoxine et réaction de Schick—«Office Intern. d'Hyg. Publique" n° 7, 1923.

W. BOHME ET G. RIEBOLD: Un procédé d'immunisation active contre la diphtérie — «Office Int. d'Hyg. Publique", 1924.

W. PARK ET ZINGHER: Resultats de l'immunisation antidiphtérique avec les toxoides et les mélanges de toxine-antitoxine a 1/10 de L+ dans les E'coles Publiques de New York City—Office Int. d'Hyg. Publique", n° 8, 1925.

W. P. LARSON y H. EDER: Immunizacion antidiftérica—«The Journal of the Amer. Med. Ass.» n° 8, vol. 15, 1926—edición en español.

W. P. KELLOGG: A test for Diphtheria Immunity and Susceptibility—«The Journal of the Amer. Med. Ass.» 1922, June 10.

W. P. KELLOGG: The intracutaneous Guinea—Pig Test (Kellogg) for Human Susceptibility and Immunity to Diphtheria — «The Journal of the Amer. Med. Ass.» n° 11, vol. 80, 1923.

W. P. KELLOGG AND MAY STEVENS: Some observations Regarding Diphtheria Immunity -- «The Journal of the Amer. Med. Ass.» n° 4, vol. 89, 1927.

2º) Eudotoxinas
Suspendendo germes lavados em sol,
salina ou agua dist. e alternadamente
resfriando e aquecendo e o methodo
de Roseum p^a o pneumococo.

3º) Resfriando e ^{quidind} como na cultura
de eudot. do S. typhico, usada por Rowland
cutans etc.

A tuberculina de Koch tem sido obtida
como eudotoxina libertada durante a pro-
longada cultura do bacillo no caldo. P^{re} K
olha a Tuber. como exotoxina,
As eudot. sad + recorrentes ao calor que
as exotoxinas. Não se produzem auto-
xinas e as eudot.

~~Método Eklich~~

~~Acção da toxina sobre os animais~~
~~Choque anaphyl. (modo novo) ver Linhas~~

Al. ulst. que simultaneamente a toxina ^{injeção} ~~injeção~~
protegem contra o choque anaphyl.
(anetherics, obato do soro, saes liliare)

Explicação da protecção do soro
mineraes contra o choque.

Koparewski acha que a protecção é devida ao bicarb.,
carbonato de soro, porque augmentam em
forte prop. a viscosidade do soro.

Colloide.

É constituído por micellis, de dimensões irreg. O
micellis comprehende uma massa principal,
granulo, especie de nucleo possuido uma carga
electrica e rodeada duma camada de signal
electrico contrario. As cargas electricas
~~completi~~ inverso, do granulo e da camada
perigranular, não são iguaes, e o predominio duma
dellas que dá ao colloide seu signal proprio.
No ponto de vista ponderal o granulo é a parte + importante do
micellis, no elle se constitue uma camada de moleculas insolueis
e inertes, cuja aptidão ch. chimicas é reduzida, enquanto a cam.
periph. que é a parte minima do micellis é a parte
activa. Quando se elimina por dialyse esta especie de revesti-
mento do nucleo micellar, vê-se que o transuho do micellis
colloidal diminui, e medida que se purifica o colloide. A estabilidade
de alguns formando uma flocculação. A ruptura do estado colloidal ou flocculação pode ser pro-
vocaada por meio de reactivos susceptiveis de saturar o ele-
mento ~~principal~~ accessorio, indispensavel a' constit.
do micellis. A acção minima de reactivos pode
provocar a libertação da parte activa do micellis.

Dij Lumiere que os colloides abandonam a si mesmos são a sede de constantes transformações. Os granulos tem uma tendencia p^a a flocculação, tem uma tendencia a se soldarem. A estrutura complexa do colloide é constantemente variavel. crescimento progressivo dos granulos recebe o nome de maturação. A maturação do micelio termina pela flocculação.

Movimento browniano dos ^{micellios} colloid^{os}

é a agitação molecular do liq. intermicellar. Estes moleculas do liq. micellar são elasticas, animados dum mov. de translacão que os precipita uns contra os outros, como se vê no vidros. com particulas solidas em suspensão no liquido. No mov. browniano que é irreg., a actividade da agitação é proporcional a' energia molecular e inversamente prop. a' viscosidade e a' dimensão dos grãos.

Choque pelas melit. insolubéis

De Lumiere a causa do choque seria a flocculação, isto é, a accção mecanica das particulas emulsões, que ao nivel do vaso dos centros nervosos, excitam mecanicamente o endothelio vascular, provocam a vaso-dilat. brusca em toda a arvore circul. visceral; donde queda de pressão e suas conseq. A demonstração desta patogenia é que os ascidentes, de app. deite que se injecta no animal em plena crise, numa quant. sufficiente de soro physiologico, a escher, os vasos do animal.

De Lumiere a dij, duma protina estranha confere ao liq. humorais a prop. de floccular por uma mistura com novo dose do anti-^{sero}. Lumiere citou o choque pela introd na circul. de melit. insolubéis, como precipitado de meliato de laryta obtido misturando solucões equivolesculares de sulf. de sodio e chlorato de laryo. O precip. de melit. de laryo, suspenso em soro isotonic. Injetando 10 cc. de emulsão na carotida duma ^{rat}, vem-se logo: priapido, polymeria, ascidentes, queda da tenção, vomito, diarrheia, para plegia, morte. Soli ascithis geral nos ha choque