

cat.
FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

THESE

APRESENTADA À

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

em 30 de Abril de 1931

e defendida em 2 de Maio do mesmo anno

PELO

Dr. João Reis Lessa

natural de Rio Grande, Estado do Rio Grande do Sul.

Filho legitimo de Joaquim P. S. Lessa e de D.^a Maria Reis Lessa.

Assim de obter o gráu de doutor em Medicina

—♦♦♦—
DISSERTAÇÃO

Valor da Anatoxina Tetanica em Microbiologia

(CADEIRA DE MICROBIOLOGIA)

Trabalho realizado no Instituto Pereira Filho

THESE INAUGURAL

APPROVADA COM DISTINÇÃO (Grau 10)

1931

OFICINAS GRAFICAS DA LIVRARIA DO GLOBO
BARCELLOS, BERTASO & CIA. → PORTO ALEGRE
← FILIAES : SANTA MARIA E PELOTAS ←

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

Prof. Sarmiento Leite,
Director.

Prof. Serapião Mariante,
Vice-director.

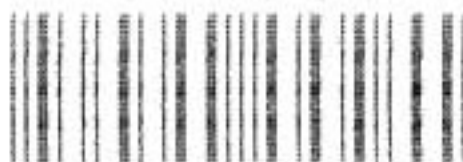
Prof. Sarmiento Leite Filho,
Secretario.

CADEIRAS

Physica
Chimica geral e mineral.....
Biologia geral e parasitologia.....
Anatomia humana, 1.^a parte.....
Histologia
Chimica organica e biologica.....
Anatomia humana, 2.^a parte.....
Physiologia, 1.^a e 2.^a partes.....
Microbiologia
Pharmacologia
Pathologia geral
Clinica medica propedeutica.....
Pathologia medica
Medicina operatoria
Anatomia e physiologia pathologicas.....
Hygiene
Medicina legal
Therapeutica
Pathologia cirurgica
Medicina tropical
Anatomia medico-cirurgica e operações.....
Clinica medica
Clinica cirurgica
Clinica gynecologica
Clinica obstetrica
Clinica neuriatrica
Clinica psychiatrica
Clinica ophtalmologica
Clinica dermatologica e syphiligraphica.....
Clinica pediatria medica e hygiene infantil
Clinica cirurgica infantil e orthopedia.....
Clinica oto-rhino-laryngologica
Obstetrica

PROFESSORES

Ney Cabral
F. Difini (livre docente)
Sarmiento Barata
Moysés Menezes
Marques Pereira
Christiano Fischer
Sarmiento Leite
Raul Pilla
Pereira Filho
Argymiro Galvão
Walther Castilho
Thomaz Mariante
Sarmiento Leite F.^o (substituto)
Octacilio Rosa
Gonçalves Vianna
Freitas de Castro
Annes Dias
Paula Esteves
Diogo Ferraz
Basil Sefton
Ervino Presser (livre docente)
Aurelio Py
Octavio de Souza
Guerra Blessmann
Frederico Falk
Martim Gomes (interino)
Mario Totta (interino)
Fabio de Barros
Luis Guedes
Diogo Ferraz (interino)
Ulysses Nonohay
F. Ygartúa (livre docente)
G. Blessmann (interino)
Alberto de Souza (interino)
Mario Totta



Bib.Fac.Med.UFRGS

T-0544

Valor da anatoxina tetanica em

CADEIRAS**PROFESSORES**

Pharmacia chimica	Carlos Leite (interino)
Chimica toxicologica	Cunha Louzada (interino)
Chimica bromatologica	Waldemar Castro (interino)
Biologia geral e physiologia.....	Rasil Sefton (interino)
Hygiene e legislação pharmaceutica.....	Ayres Maciel (livre docente)

Curso de Odontologia

Clinica odontologica	Cirne Lima
----------------------------	------------

Professores substitutos

Sarmento Leite Filho — Nona secção (Pathologia medica e clinica medica)
 Carlos Leite — Decima quinta secção (Clinica dermatologica e syphillographica)

Docentes-livres

Dr. Raul di Primio — Biologia geral e parasitologia
 Dr. Oscar Pereira — Microbiologia
 Dr. Elyseu Paglioli — Clinica obstetrica
 Dr. Florencio Ygartúa — Clinica pediatrica medica e hygiene infantil
 Dr. Evino João Carlos Presser — Medicina operatoria
 Dr. Raul Jobim Bittencourt — Clinica psychiatrica
 Dr. Ayres Maciel — Hygiene
 Dr. Bruno Attilio Marsiaj } Anatomia humana
 Dr. Elyseu Paglioli }
 Dr. Felicissimo Difini } Chimica geral e mineral
 Dr. Mario Bernd }

Professores em disponibilidade

Alvaro Fróes da Fonseca — Cathedratice
 Mario Pinheiro de Castro Bittencourt — Substituto

Professores jubilados

Francisco de Carvalho Freitas — Pharmacologia
 Francisco Freire de Figueiredo — Clinica opthalmologica
 João Dias Campos — Therapeutica
 Manoel Gonçalves Carneiro — Clinica pediatrica medica e hygiene infantil
 Manoel Velho Py — Hygiene

Professores honorarios

Carlos Barbosa Gonçalves
 Olympio Olinto de Oliveira
 Protasio Antonio Alves

Professores licenciados

Raul Moreira — Clinica pediatrica medica e hygiene infantil
 Nogueira Flores — Clinica cirurgica infantil e orthopedia.



NOTA — A Faculdade não approva nem reprova as opiniões emittidas nas theses por seus auctores.

Aos meus queridos

Paes,

a quem tudo devo, dedico e consagro este modesto trabalho inaugural, bem fraco penhor de meu grande amor filial e imperecivel reconhecimento.


Ao meu cunhado Milton e á minha irmã Marina.

A' minha prima e cunhada Maria.

Com fraternal amizade offereço este trabalho.

Aos meus prezados sobrinhos,

grande affecto.



A' sagrada memoria
De meu querido irmão


Quincas

e

De meu inesquecível amigo e collega

José Rosa Teixeira.

Homenagem de minha immensa saudade.



Ao emerito cientista

Prof. Pereira Filho

que com os fulgores de sua intelligencia e bondade suavizou-me a realizacão deste empreendimento.

Aqui deixo consignada a expressão de minha profunda gratidão e sincera amizade.

A G. Ramon, do Instituto Pasteur de Paris, insigne creador da Anatoxina.

Homenagem e reconhecimento.

Aos meus inseparaveis collegas e amigos
Drs. Julio Rosa Teixeira, Nicanor Peña Medici,
José Eboli e Sylvio Baldino, em cuja agradavel e
leal companhia passei a deliciosa vida academica,
o forte abraço de amizade e os meus mais
ardentes votos de felicidade.

Ao distincto amigo Dr. Tupy Silveira de Mello,
muita amizade.

INTRODUÇÃO

Os grandes principios em que assenta a Immunidade nasceram, bem se sabe, do empirismo e da observação.

Remontando-se, por exemplo, á ideia primitiva da vacinação, percebe-se que ella tem sua origem e deriva evidentemente da observação clínica, que os povos da antiguidade já possuíam, de que determinadas doenças infecciosas conferem immunidade aos individuos por ellas atingidos e depois curados.

Assim, sobre essa base edificou-se, graças aos esforços de um pugillo de illustres scientistas, o importante capitulo da Immunidade que, actualmente, paira em outros dominios de razão mais pura e, deixando muito atraz essa sua origem obscura e humilde, emancipou-se completamente dentro da Sciencia Medica.

Os estudos, entretanto, proseguem e cada dia novas e valiosas contribuições vêm lhe assegurar e enaltecer o papel que desempenha.

Entre essas, devemos salientar a que G. Ramon, descobrindo em 1923 a sua Anatoxina Diphterica, legou e abriu á Vaccinothérapie um rumo inteiramente novo e transbordante de ensinamentos praticos.

Satisfazendo, então, um dos dispositivos regulamentares da nossa Faculdade, fomos guiados para essa nova senda scientifica, e nella penetramos, curiosos e inexperientes, visando encontrar o almejado assumpto para esta these inaugural. Felizmente, do tracto, arduo e laborioso, saímos para

apresentar a essa douta Congregação o nosso ultimo trabalho escolar, fructo de longos mezes de cuidadoso estudo, e sob cujo thema focamos: "Valôr da Anatoxina Tetanica em Microbiologia".

Necessario, porém, se torna que se diga que não lográmos este fim sozinhos: guiou-nos, por sua solida cultura scientifica, e assistiu-nos, por sua bondade e cavalheirismo, o nosso mestre e amigo o eminente Prof. Pereira Filho, em cujo modelar Instituto realizámos os trabalhos desta these.

Apresentamos-lhe os nossos agradecimentos pela captivante dedicação com que sempre nos cumulou e assignalamos-lhe, aqui, a impressão de nossa immorredoira gratidão e sincera amizade.

Dividimos o nosso trabalho em quatro capitulos:

No primeiro, estudamos as propriedades basicas ás anatoxinas em geral; abordamos as principaes conhecidas: umas, inteiramente já consagradas pela pratica, e outras, entretanto, ainda em estudo e observações experimentaes.

No segundo capitulo, tratamos unicamente da anatoxina tetanica; a principio, á guiza de um pequeno historico, relatamos os esforços realizados para a conquista de um processo de immunização antitetanica activa e efficaz, até que Descombey, preparando e ensaiando a sua anatoxina, veiu sanar tal difficuldade.

Sub-dividimos o capitulo seguinte em tres partes, na primeira, visamos o emprego desse novo antigeno na immunização dos animaes, e mais especialmente na do cavallo; a segunda parte destinamos exclusivamente á vaccinação humana pela anatoxina tetanica; e, na terceira e ultima, o seu emprego na obtenção do sôro therapeutico.

Finalmente, o quarto capitulo relata os nossos trabalhos praticos, encerra as conclusões tiradas e indica a bibliographia da qual nos servimos para a feitura deste modesto trabalho.

CAPITULO I

AS ANATOXINAS NAS IMMUNIZAÇÕES ACTIVA E PASSIVA

SUA OBTENÇÃO E PROPRIEDADES

A importancia desse novo capitulo da vaccinothe-
rapia já se faz apreciar pelo emprego das diversas ana-
toxinas, principalmente a diphterica e a tetanica, actual-
mente utilizadas nas immunizações activa e passiva,
tanto do homem, como dos animaes.

A G. Ramon, do Instituto Pasteur de Paris, cabe
inteiramente o merito de ter descoberto e experimen-
tado a primeira das anatoxinas: a diphterica.

Este scientista observou, no curso de seus traba-
lhos laboratoriaes sobre a immunização activa na dipht-
teria, que a toxina secretada pelo bacillo de Löffler,
quando submettida á acção prolongada e conjuncta do
aldehydo formico e do calôr, no fim de certo tempo,
perde inteiramente a sua toxidade, mas conserva, no em-
tanto, as suas propriedades antigenicas.

Estava assim descoberta a anatoxina diphterica, des-
tinada a desempenhar papel tão saliente na vaccinação
contra a infecção correspondente: “um producto que
perdeu toda a nocividade da toxina de que deriva, mas

que, entretanto, possui ainda o valor flocculante e conserva igualmente todas as propriedades antigenicas” (Ramon).

Analysando-se as propriedades capitaes encerradas no enunciado desta definição, teremos descripto aquellas communs ás anatoxinas em geral, porque ellas todas assentam sobre a mesma base, bem differente da dos diversos antigenos até então empregados nas immunizações activa e passiva.

Assim procedendo, destacamos em primeiro lugar: **“um producto que perdeu toda a nocividade da toxina de que deriva.”**

Aliás o proprio nome com que Ramon o denominou: Anatoxina, já traz estampado em seu prefixo esta “ausencia de toxidade”.

Sabe-se, dos estudos de bacteriologia, que a vitalidade dos germes é desfavoravelmente influenciada pelos agentes exteriores (calôr, frio, luz, etc.) e por innumeras substancias chemicas ditas antisepticas. E que os productos elaborados por esses germes pathologicos, endo-toxinas e toxinas soluveis, são do mesmo modo influenciados por esses mesmos agentes.

Ramon, aproveitando-se disso, reuniu ambos esses processos, alliando o calôr, representado por uma temperatura de estufa a 37 - 42 graus, á acção do aldehydo formico, para obtenção da sua anatoxina diphtherica.

A transformação se processa de modo lento e num tempo mais ou menos longo, approximativamente calculado em um mez.

Em definitivo, eis como o auctor traça a formula do methodo: utiliza-se 1 litro de uma toxina frescamente obtida e filtrada; em seguida, ajuntam-se 3 a 5 cc. de formol, e o todo leva-se para a estufa á temperatura de 37 - 42 graus, ahi permanecendo por espaço de um mez. Decorrido este tempo, póde-se retirar a mistura da estufa, filtra-se-a e obtem-se assim a anatoxina procurada,

Durante esse longo processo de preparação, a toxina original perde inteiramente a toxidade, e o novo producto não possui sequer vestígios desta natureza. Pois, a injeção de doses enormes de anatoxina em animaes de laboratorio mostra-se absolutamente destituída de quaesquer reacções nocivas, mesmo quando a levamos directamente ao contacto da corrente sanguinea, por injeção endo-venosa. O cobaio, por exemplo, supporta impunemente uma dose de 5 a 15 cc. de anatoxina tétanica ou diphtérica, enquanto que uma dose minima de toxina lhe confere uma intoxicação mortal em alguns dias.

E' para se notar essas quantidades de anatoxina injectadas, tomando-se em conta o peso do animal, geralmente variando entre 300 a 400 grammas. Essa tolerancia é bem demonstrativa, porquanto se conhece a actividade de que goza a toxina na éclosão do tetano ou da diphteria.

A toxidade propria á toxina original não mais reviverá na anatoxina, mesmo quando conservarmos esta por muito tempo, quer á temperatura ambiente ou quer no gelo. Em outras palavras isso quer dizer: póde-se confiadamente injectar uma anatoxina "velha" sem que tenhamos receio de accidentes prejudiciaes (Ramon, Lereboullet, Joannon, etc.).

A innocuidade faz, portanto, da anatoxina um methodo de vaccinação assaz pratico. Não é, por ventura, mais commodo e isento de perigos lidar com um producto atoxico, que ser obrigado a manejar uma substancia altamente nociva e para a qual todas as precauções são poucas, como é o caso para as toxinas tetanica e diphtérica?

Esta vantagem offerecida pela anatoxina se póde bem apreciar na immunização dos animaes productores de sôros therapeuticos.

Emfim, a sua applicação mesmo em crianças de

tenra idade não é seguida de reacções que traduzam o menor indicio de toxidade. E, actualmente, como é o caso para o tetano, até a immunização activa do recém nascido pela anatoxina tem sido vantajosamente indicada.

Em seguida, remontando áquella definição, temos a analysar: “mas que, entretanto, possui ainda o valôr flocculante.”

O que se comprehende por valôr flocculante?

Ramon observou que a toxina diphterica, quando posta em contacto com quantidades progressivamente decrescentes de sôro anti-diphtherico recente, á temperatura de laboratorio, determina, em certas misturas, a appareição de uma opalescencia que, no fim de um tempo variavel, dá lugar a uma verdadeira “floculação”, indice da combinação perfeita entre a toxina e a anti-toxina, por neutralização ou saturação mutua, rigorosamente especifica.

Póde-se deste modo muito facilmente dosar com toda precisão o valôr anti-toxico de um determinado sôro, empregando-se para isso uma “toxina typo” e cujo poder toxico foi préviamente experimentado num cobaio. Emprega-se-a numa quantidade determinada, porém sempre fixa, fazendo-se variar as doses do sôro a dosar.

A toxina formolada e submettida ao calor, justamente como ha pouco indicámos, apesar de se degradar em sua toxidade ao ponto de perdê-la por completo, não se priva do seu poder flocculante e assim como do seu valôr immunizante — estes lhe são qualidades fixas.

Se examinarmos o poder flocculante da toxina tratada pelo formol no curso de sua permanencia na estufa e até á sua transformação definitiva em “anatoxina”, constataremos, utilizando porém sempre o mesmo sôro, que “a taxa de floculação” permanece invariavel: ella

constitue uma verdadeira constante do phenomeno. (Ramon).

O que varia, pelo contrario, é o tempo que este phenomeno exige para a sua manifestação — tempo de flocculação — que se torna tanto mais longo, quanto maior fôr a permanencia da toxina ou da anatoxina na estufa. Por exemplo: se a toxina original floccula em duas horas e meia á temperatura de 45 graus, a toxina formolada a 2 %, flocculará com esse mesmo sôro em cinco horas, após uma permanencia de 2 dias na estufa; em sete horas, após 6 dias; em nove, depois de 10 dias; e em quatorze horas, após 20 dias (a reacção se effectuando sempre a 45 graus).

A quantidade de formol empregada influe igualmente na maior ou menor duração desse tempo de flocculação. Assim, com 5 cc. % de formol e 2 dias de estufa, a mistura floccula em sete horas. Extende-se a oito horas após 6 dias e dahi por deante elle se alonga de tal modo, que toda observação do phenomeno se torna impossivel.

Em verdade, o augmento da quantidade de formol faz com que o abaixamento da toxicidade da mistura se processe mais rapidamente e, portanto, a obtenção da anatoxina é mais prompta. Mas, de pouco vale tal presteza, se em vez obtemos uma anatoxina flocculando num tempo muito longo. Ora, Ramon demonstrou que a lentidão excessiva da flocculação caracteriza os antigenos de qualidade inferior.

Tambem, por isso, não vá que se deva empregar quantidades muito pequenas de formol; não, porque assim obteremos apenas uma influencia mediocre sobre a toxicidade da mistura e seremos obrigados a prolongar por muito tempo a acção do calor. Este ultimo recurso não é muito aconselhavel.

As doses de formol indicadas como preferiveis va-

riam entre 1 cc,5 a 5 cc. $\frac{0}{100}$, fazendo-se comprehender a acção do calor entre 25 a 30 dias.

Decorridos esses dias e nessas condições, a passagem da toxina para anatoxina se realiza e esta ultima traz consigo integralmente o poder flocculante que aquella possuia.

Emfim, a definição que Ramon dá ás toxinas, termina assim: **“e que conserva, egualmente, todas as propriedades antigenicas.”**

Logo, a anatoxina é dotada tambem de um valôr immunizante onde reside, por assim dizer, a mais importante das qualidades que ella retirou da toxina de que deriva. Aliás, esse poder antigenico explica a razão de ser da propria anatoxina e sem o qual ella não desempenharia o papel importante que occupa actualmente em vaccinothérapie.

“Comprehende-se por **poder antigenico** a propriedade de que goza toda substancia introduzida no meio interior de um organismo animal e capaz de provocar a formação, pelo proprio organismo, de elementos novos susceptiveis de neutralizarem a acção do antigeno”. (Dabout).

A anatoxina é, em verdade, possuidora de tal propriedade e até num grau mais elevado do que aquelle offerecido pela toxina correspondente. As innumeradas experimentações, tanto no homem como nos animaes, e as estatisticas baseadas sobre vaccinações já effectuadas, ahi estão para proclamar bem alto a efficacia immunizante desse novo antigeno. Resultante da propriedade que elle possui em produzir anti-toxinas humoraes que, como toda anti-toxina, são rigorosamente especificas.

Podemos demonstrar e apreciar a producção e quan-

tidade desses anti-corpos no sôro tratado pela anatoxina. Em primeiro lugar, a experimentação em animaes, isto é, "in vivo", é optima para nos fazer conhecer a acção desse novo producto antigenico. Porém, ella acarreta inconvenientes de ordem pratica, por exemplo: os seus effeitos immunizantes requerem um determinado espaço de tempo para que cheguem a se externar; depois, deve-se ainda considerar a quantidade de animaes, sempre renovados, e, por fim, o sacrificio dos incompletamente vaccinados ou dos que se prestam de contrôlle á prova. Tratando-se de animaes de grande talhe, e é o caso para o cavallo na experimentação da anatoxina tetanica, este ultimo inconveniente se faz bem comprehensivel.

Mais commoda, por ser ao mesmo tempo economica, simples de realizar e fiel em sua manifestação, se mostra o phenomeno da flocculação, pois, como já tivemos oportunidade de citar, a toxina formolada ao se transmutar em anatoxina, não se priva de seu poder flocculante.

Ramon tornou ainda mais visivel a vantagem de se dar a preferencia a essa reacção no apreciar o poder immunizante de uma determinada anatoxina; basta para este fim que se empregue um sôro correspondente e de valôr neutralizante conhecido.

Este auctor effectuou estudos comparativos entre a flocculação "in vitro" e a immunização "in vivo", e conseguiu estabelecer e demonstrar o parallelismo que entre si observam ambas estas propriedades da anatoxina, seja ella diphterica, tetanica, desynterica ou outra qualquer.

Ramon, no seguinte enunciado, exprime esse poder da seguinte maneira: "em unidades antigenicas ou anatoxicas, representadas pelo numero de unidades an-

ti-toxicas capazes de saturar "in vitro" 1 cc. de anatoxina, isto é, capazes de fazer apparecer nesse centimetro cubico a floculação inicial".

Quanto á technica que se deve seguir para a dosagem de uma anatoxina pelo methodo da floculação, Ramon recommenda que se obedeça á seguinte:

Em uma serie de tubos de hemolyse, dispostos em uma estante apropriada, derrama-se 1 cc. de anatoxina a dosar ¹⁾); em seguida, ajunta-se o sôro padrão correspondente, sob a fórma de diluição e em numero de unidades anti-toxicas progressivamente decrescentes, por exemplo: 10 — 9,5 — 9 — 8,5 — 8 — 7,5 — 7 — 6,5 e assim por deante.

Agita-se, para melhor misturar intimamente, e leva-se para a estufa á temperatura de 37-38 graus. Se quizermos, porém, apressar a reacção, póde-se recorrer ao banho-maria a 45 graus.

No fim de um certo tempo, variavel para cada anatoxina, uma opalescencia apparece logo em alguns desses tubos; ella augmenta gradativamente e, passadas algumas horas, dá lugar a uma verdadeira floculação. Esta é bem especifica, pois não se produz com as anatoxinas de outra natureza e quando tratadas por esse mesmo sôro, assim como essa anatoxina em questão não flocula em presença de outros sôros cuja especificidade não lhe corresponda, inclusivé o sôro normal.

A floculação da mistura anatoxina + anti-toxina não apparece, após o mesmo tempo de floculação, em todos os tubos. Destes, o que flocula em primeiro lugar corresponde á mistura exactamente neutralizada. Quanto

1) Póde-se, do mesmo modo, empregar 2 ou 3 cc., assim como quantidades menores, 0,5 cc. por exemplo, comquanto que se considere quantidades correspondentes de sôro.

aos outros, nos quaes a flocculação apparece tardiamente, contêm quantidades immediatamente inferiores ou superiores; as primeiras, de mais a mais neutralizadas; e as segundas, cada vez menos, isto é, com excesso de anti-toxinas não neutralizadas.

Vejamos agora, uma vez a flocculação nitidamente obtida, qual o criterio a seguir para a avaliação do poder antigenico da anatoxina, flocculando nas condições que acabamos de expôr.

Supponhamos que a flocculação surgisse nitidamente em primeiro lugar no tubo contendo a mistura de 1 cc. de anatoxina + 9 unidades anti-toxicas, diremos então que a anatoxina em experiencia tem um valôr equal a 9 unidades anatoxicas ou antigenicas.

Ha, tambem, um outro elemento que deve ser tomado em conta na apreciação desse phenomeno — é a **ligeireza da flocculação.**

Póde-se dizer que duas anatoxinas tendo um valôr em unidades equivalentes, aquella que floccula mais rapidamente, em presença do mesmo sôro, tem melhor valôr immunizante (Ramon e Zoeller).

Em summa, a reacção de flocculação, convenientemente executada e bem interpretada na exteriorização de seus resultados, torna possivel facilmente titular uma determinada anatoxina, como se dósa as anti-toxinas. E' possivel, tambem, as classificar e standardizar, permittindo escolher para certas applicações amostras de anatoxina tendo um valôr antigenico particularmente elevado.

Não resta a menor duvida que a anatoxina seja capaz de provocar a installação e desenvolvimento de immunidade, pois, tanto "in vitro", como "in vivo", as diversas provas demonstram que ambas estas propriedades

se traduzem pela presença das anti-toxinas humoraes especificas no sôro do individuo vaccinado.

Existe, ainda, um outro factor de immuniidade activa que, justamente com esses dois, confirma de maneira cathgorica a efficacia da vaccinação pela anatoxina. E' a reactivação adquirida, a qual consiste na aptidão especial que o individuo adquire para produzir "rapidamente" uma forte proporção de anti-toxinas, sob a influencia de um novo estimulo. Esta qualidade é especifica, o que quer dizer, só se manifesta quando solicitada pelo mesmo antigeno que anteriormente vaccinou o organismo. Ella é um privilegio da immunização activa.

Sob este ponto de vista, o emprego da anatoxina offerece uma vantagem a mais, porque a reactivação adquirida que ella estabelece é muito mais rapida em se exteriorizar e, tambem, mais rica em seus effeitos.

Mesmo com o decorrer dos annos, essa qualidade especial não esmorece, ao contrario permanece sempre prompta a manifestar sua latencia.

A nova injecção que vae solicitar a reactivação dessa propriedade em produzir anti-toxinas especificas, os auctores denominam-na **injecção de appello**; em verdade, esta determina um verdadeiro appello á essa propriedade adquirida, a qual responde por hyper-produccção de anti-corpos immunizantes.

O seu verdadeiro valôr pôde ser facilmente apreciado, procedendo-se assim: retira-se sangue do individuo anteriormente vaccinado e, no mesmo dia, pratica-se uma injecção de appello; uma semana após a esta injecção, effectua-se nova colheita de sangue. Comparando-se, então, um com outro o valôr das anti-toxinas humoraes em cada um desses sangues, tem-se muito simplesmente o augmento ou titulo do poder anti-toxico, que nada mais é que o valôr da reactivação adquirida no momento da injecção de appello. Para melhor apreciar-o,

relataremos a seguinte observação, devida a Ramon e Zoeller:

Bl...., vaccinado por tres injeções de anatoxina tetanica normalmente espaçadas, a primeira constituida de vaccina associada (T. A. B. + anatoxina tetanica), e a ultima datando de 23 de Dezembro de 1925.

Em 2 de Outubro do anno seguinte, a immunidadade apresentada pelo individuo correspondia a 60 doses mortaes por centimetro cubico. Nesse mesmo dia, praticaram uma injeção de 1 cc. de anatoxina tetanica (injeção de appello) e, oito dias depois, a immunidadade era tal, que attingiu a 10.000 doses mortaes, egualmente por centimetro cubico.

Esta observação dispensa qualquer commentario, porquanto ella é por si altamente eloquente.

A ascenção que o appello provoca na quantidade de anti-toxinas já existentes, augmentando-a, graças á reactivação adquirida, começa mais ou menos de modo rapido e immediatamente após a esta nova dose de antigeno.

No individuo, por exemplo, cuja immunidadade passa em oito dias de 10 a 1000 doses mortaes, a titulagem das anti-toxinas, effectuada no quarto dia após essa injeção, dá, então, um valôr neutralizante correspondendo a 1000 — 3000 doses mortaes por centimetro cubico de sôro.

O augmento é, pois, precoce e rapido, o que em pratica assume grande importancia e permite elevar promptamente o valôr neutralizante de um sôro anteriormente vaccinado. Em se tratando de tetano, esta propriedade reveste, então, todo o seu valôr e, não raro, dispensa a injeção preventiva de sôro.

A reactivação adquirida persiste sempre, mesmo em organismos debilitados (por affecções ditas anergisan-

tes, por effusão sanguinea abundante, etc.) esta propriedade em nada é entravada e manifesta sua presença, provocando uma brusca e forte elevação do titulo anti-toxico do sôro.

São essas, de um modo geral, as principaes e mais importantes propriedades inherentes e communs a todas as anatoxinas.

Revestidas e offerecendo taes caracteristicos, não conseguidos até então serem encontrados reunidos nos demais antigenos empregados nos outros methodos vaccinantes congeneres:

inocuidade absoluta,
poder flocculante e
valôr immunizante elevado,

á anatoxina não se lhe póde negar o papel saliente que actualmente desempenha, e forçosamente desempenhá, em vaccinotherapia.

Procurando dar uma idéa das principaes Anatoxinas já conhecidas, salientando-lhes o valôr que ora desempenham, descreveremos estas que se seguem.

Começaremos pela diphteria que, por ser a primeira descoberta e utilizada, é, egualmente, a que maior cabedal de estudos tem merecido por parte dos experimentadores.

ANATOXINA DIPHTERICA

Em 1923, Ramon, creando a sua anatoxiua diphterica, o problema da vaccinotherapia desta infecção revestiu um aspecto inteiramente novo.

A anatoxina diphterica, em verdade, offerece sobre as outras vaccinas até então utilizadas para esse mesmo

fim, a de Behring por exemplo, um grande numero de vantagens que bem justificam a preferencia que actualmente conquistou.

Em primeiro lugar, a sua preparação é facil e não requer grandes gastos; o seu emprego é commodo e, deve-se bem salientar, completamente provido de innocuidade; o contrôle da marcha da immunidadade por ella desenvolvida póde ser facilmente realizado pela reacção de floculação "in vitro"; e, emfim, offerece precocidade nos phenomenos de immunização preventiva. Este ultimo facto é de uma importancia capital e cuja lentidão fez o principal insuccesso dos outros processos vaccinantes anti-diphthericos, anteriores ao advento da anatoxina.

Taes propriedades foram cuidadosamente experimentadas por G. Ramon em animaes de laboratorio e foi, sómente, após a confirmação desses estudos, que Darré, Loiseau e Laffaille realizaram com successo as primeiras vaccinações pela anatoxina diphtherica, no Hospital Pasteur, em Paris.

Em breve o methodo foi applicado em grande escala, notadamente no serviço de creanças do Dr. Roubinovitch, por Loiseau e Laffaille; no serviço de creanças attingidas de affecções chronicas, por Lereboullet e Joannon; e, emfim, nos soldados jovens, por Zoeller.

A technica da vaccinação, confirmada por varios annos de experiencias e numerosos ensaios, consiste em se praticarem tres injecções sub-cutaneas dessa anatoxina e nas quantidades e successão seguintes:

- 1.^a injecção de $\frac{1}{2}$ cc;
intervallo de 3 semanas;
- 2.^a injecção de 1 cc;
intervallo de 15 dias; e
- 3.^a injecção de 1,5 cc.

As duas primeiras injecções já offerecem uma taxa

de 88 % de individuos immunes. E, com a terceira injectão, essa taxa sóbe a 98-99 %. Porém, dependendo tudo da duração do periodo que separa essas tres doses vaccinantes. O intervallo não póde permanecer desprezado, porquanto os auctores citam casos de individuos que apresentaram diphterias ligeiras, porque as injectões foram muito approximadas.

A reacção de Schick é valiosa na escolha dos individuos a serem vaccinados; ella tem mostrado que a frequencia dos de reacção positiva, isto é, receptivos, está em razão inversa da idade. Dahi, o ser indicado proceder a vaccinação systematica das creanças e mais especialmente no periodo que se estende de 6 a 10 annos, edades estas mais favoraveis á infecção.

Nos lactentes de menos de 10 mezes, é quasi impossivel se obter immuidade satisfactoria, quer se utilize a toxina — antitoxina (Rohmer) ou, então, a anatoxina (Ribadeau, Dumas, Loiseau e Lereboullet). A sôrotherapia deve permanecer o methodo de escolha na prevençãõ ou cura da diphteria nesse periodo da infancia.

Nos individuos vaccinados, é util fazer-se, após a vaccinação, um novo contrôle pela reacção de Schick. Difficilmente raros individuos apresentam uma immuidade que deva ser completada por uma quarta injectão de 1,5 cc. de anatoxina.

Tendo-se em vista collectividades de creanças contaminadas pela diphteria, desde a apparição dos primeiros casos, ou, então, em periodo de epidemia confirmada, é necessario a pratica da vaccinação systematica, sem reacção de Schick prévia, por meio de tres injectões de anatoxina diphterica.

REACÇÕES VACCINAES

Geralmente a anatoxina diphterica não se faz acompanhar de reacções vaccinaes. Porém, em certos indivi-

duos, ella dá lugar, muitas vezes, a reacções, quer locaes quer geraes, sempre sem gravidade.

As locaes se manifestam por uma simples vermelhidão, pouco extensa e acompanhada de leve edema doloroso.

Quanto ás reacções geraes, ellas se traduzem por elevação da temperatura, attingindo geralmente 39 — 40 graus.

Todos esses symptomas tanto locaes, como geraes, desaparecem no fim de 48 horas e não deixam sequella alguma, voltando tudo ao normal.

Facto importante: taes reacções vaccinantes são praticamente inexistentes nas creanças de menos de 6 annos.

Zoeller (Presse Med., 1926, n.º 40, pagina 625) particularmente se interessou por essas reacções e de modo mais especial pelas locaes ou cutaneas. E, com intuito de lhes diminuir a frequencia, este auctor creou uma **anatoxi-reacção**, a qual consiste em injectar no derma 2/10 de cc. de anatoxina diphterica diluida ao 1/100 na-gua physiologica. A anatoxi-reacção póde ser positiva ou negativa; quando positiva, as manifestações cutaneas apparecem approximativamente dentro de 24 — 48 horas.

Esse mesmo scientista interpreta a reacção cutanea á anatoxina de Ramon como sendo o indice de uma hyper-sensibilidade ás proteíνας do bacillo diphterico e traduzindo em estado de immuniidade incompleta, resultante de um contacto anterior com o bacillo. E chega á conclusão de que se trate de uma verdadeira "allergia diphterica".

A anatoxi-reacção de Zoeller póde ser positiva ou negativa independentemente da reacção de Schick, tambem positiva ou negativa.

Considerando-se bem a significação dessas reacções vaccinaes á anatoxina diphterica, segundo a concepção

que lhe deu esse auctor, vê-se que ellas não são devidas á anatoxina, mas sim ao estado de immuidade do proprio organismo.

RESULTADOS DA VACCINAÇÃO

Em verdade, nos moldes deste capitulo, não cabem maiores explanações acerca dessa anatoxina. Deixemos, entretanto, que falem as estatisticas já existentes sobre a efficacia da vaccinação anti-diphtherica pelo emprego da anatoxina diphtherica.

Martin e Loiseau, em 1926, publicaram uma estatistica abrangendo 8.450 individuos vaccinados pela anatoxina diphtherica e com optimos resultados.

Riquer e Vaillant effectuaram a vaccinação systematica das creanças em seis villas ao Norte da França, onde a diphtheria reinava em estado endemico. E, sobre 700 vaccinados, elles obtiveram apenas dois casos de diphtheria muito benigna, curando mesmo sem sôro (XII.^e Congrès d'Hygiène, Rev. d'Hyg., tome XLVII, 1925).

E. Terrien relata os resultados obtidos em Paris com a vaccinação anti-diphtherica pela anatoxina de Ramon. A estatistica abrange 82.000 creanças vaccinadas regularmente. Desta quantidade, elle cita 50 casos de diphtheria, o que dá uma porcentagem de 1 caso para 1.600 vaccinados.

Considera que a maior parte dos insucessos são devidos a uma vaccinação incompleta ou irregular. Chama a attenção para que as injecções sejam tão precoces, quanto possiveis, a partir da idade de 18 mezes. Declara que as doses, mesmo superiores ás medidas, não se mostraram toxicas. E, por fim, aconselha praticar uma quarta injecção no fim de um anno, para reforço da immuidade. (Société de Pédiatrie, 18 Mars, 1930).

No Hospital Trousseau de Paris, Davidovici proce-

deu a vacinação de mais de 1.000 creanças, conseguindo apurar um coefficiente de 95 % de immunidades, todas perfeitamente controladas pela reacção de Schick.

A immunidade conferida pela anatoxina diphterica convenientemente executada, apoiados nos resultados acima obtidos, podemos affirmar que offereça uma producção de anti-toxinas sobejamente sufficiente para collocar o organismo vaccinado ao abrigo de contrahir a diphteria.

Essa protecção se prolonga por um prazo bastante extenso, conforme deixam vêr as observações effectuadas, por diversos auctores, nos individuos vaccinados.

Ramon e Debré se propuzeram dosar, segundo uma technica rigorosa, a taxa em anti-toxinas diphtericas do sôro de numerosas creanças vaccinadas contra a diphteria pela anatoxina, depois de um tempo variando entre 1 a 5 annos, e obtiveram 90,1% desses sôros apresentando um poder anti-toxico superior a 1/10 de unidade, e 96%, um poder superior a 1/30 de unidade. Das comparações que fizeram com as creanças vaccinadas no estrangeiro, resulta que as que o foram por outros methodos não têm, em regra quasi absoluta, em seu sôro, senão quantidades de anti-toxinas muito inferiores áquellas que os auctores constataram nas creanças vaccinadas pela anatoxina e, doutra parte, que o numero das que não foram immunizadas é nitidamente superior áquelle que se observa após a vacinação segundo o processo de Ramon.

Ao mesmo tempo, esses auctores fazem vêr que a porcentagem de sôros ricos em anti-toxinas diphtericas é tanto mais elevada, quanto mais anterior fôr a data decorrida desde a vacinação preparatoria.

Por exemplo: os individuos que têm o sôro muito

rico em anti-toxinas (poder anti-toxico superior a 1/10 de unidade) vê-se que estes são na proporção de 95% nas creanças vaccinadas ha mais de 4 annos; de 94% nas vaccinadas ha 3 annos; de 89% nas vaccinadas ha 2 annos; e de 82% naquellas vaccinadas ha 1 anno. Estas porcentagens mostram de um modo evidente que a riqueza em anti-toxinas está bem longe de diminuir com os annos e é, ao mesmo tempo, um argumento solido em favor da persistencia prolongada, sem enfraquecimento, da immuidade obtida por intermedio da vaccinação anti-diphtherica pela anatoxina de Ramon.

Durante esses periodos de tempo decorridos desde o inicio da vaccinação, a reacção de Schick mostrou-se sempre negativa.

Em 1918, depois de ter vaccinado contra a diphtheria mais de 17.000 creanças, Lereboullet procurou a proporção dos vaccinados attingidos por esta infecção. Elle não conseguiu durante um anno reunir senão 5 casos de diphtheria bacteriologicamente confirmada nas creanças vaccinadas regularmente por 3 injecções. Esses casos eram:

um croup, de evolução muito benigna; e quatro anginas, sendo que duas dentre ellas eram anginas de Vincent em portadores de germes.

De outra parte, o auctor observou 10 anginas, entretanto tambem benignas, nas creanças vaccinadas por 2 injecções.

E, entre as que receberam sómente 1 injecção de anatoxina, elle reuniu perto de 15 casos, entre os quaes 1 mortal.

Portanto, a frequencia da diphtheria nos antigos vaccinados é sensivelmente pequena e a proporção dos insuccessos, após 3 injecções convenientemente espaçadas, é, segundo esse auctor, avaliada entre 2 a 5%.

Essa estatística vem accentuar mais a necessidade da vacinação ser bem executada e segundo as regras fixadas por G. Ramon: por 3 injeções, as duas primeiras com 3 semanas de intervallo, e a terceira, 15 dias após a segunda; e nas quantidades, respectivamente, $1\frac{1}{2}$ — 1 — 1,5 cc. de anatoxina.

A vacinação deve ser contrólada. Sendo mesmo aconselhavel effectuar, 4 semanas após a ultima injeção vaccinante, uma reacção de Schick; mostrando-se esta positiva, ha necessidade de se praticar uma nova injeção de anatoxina.

Considerando-se que, fóra da imminencia de epidemia, as edades mais favoraveis á infecção oscillam entre 12 a 15 mezes e 5 a 6 annos, e que justamente são estas as edades melhores á pratica da vacinação pela anatoxina, porque só excepcionalmente surgem, apezar de benignas, as reacções vaccinaes, e, como muito bem verificou Lereboullet, a immuniidade conferida não enfraquece com o decorrer dos annos, muito ao contrario augmenta expontaneamente — conclue-se que a creança, anteriormente tratada por 3 injeções regulares, adquirirá um grau de immuniidade bastante elevado para atravessar resguardada e, por assim dizer, incolume esses periodos da infancia os mais expostos á diphteria.

A protecção será ainda maior se, um anno após o processo immunizante inicial, praticar-se uma nova injeção complementar de anatoxina (1 cc.).

Se, por ventura, um organismo assim vaccinado, vier a contrahir a infecção, esta terá muitas probabilidades para evoluir benignamente e num prazo bastante curto, como bem decorre da observação de diversos auctores.

Actualmente, em França, o emprego da anatoxina, póde-se affirmar, constitue quasi que o unico methodo empregado na vacinação anti-diphterica.

E, aqui entre nós, o emprego da anatoxina de Ramon começa a ser, tambem, applicado, com optimos re-

sultados, por illustres clinicos. Sendo que, no anno passado, o Dr. Basilio Fontes focou esse assumpto em sua These de doutoramento, apresentada á Faculdade de Medicina desta Capital, e conseguindo reunir um cabedal de 32 observações pessoases, attestando todas a efficacia desse novo e importante antigeno.

ANATOXINA TETANICA

Deixamos de tratar aqui desta anatoxina, porquanto os capitulos que se seguem lhe são inteiramente dedicados e nos quaes teremos a oportunidade de apreciar, igualmente, as grandes vantagens praticas que a sua utilização offerece, tanto em medicina humana, como em veterinaria, assim como na obtenção do sôro anti-tetânico para usos therapeuticos.

ANATOXINA DYSENTERICA

A vacinação anti-dysenterica, contra a fórmula bacillar, tem sido tentada por diversos experimentadores.

Em 1918, Shiga assignalou que a injeção sub-cutanea de culturas mortas de bacillo dysenterico dão lugar á perturbações locais e geraes assaz serias para que o methodo pudesse ser applicado á vaccinotherapia.

Procurando então abolir este inconveniente, elle injectava simultaneamente sob a pelle a mistura formada de sôro anti-dysenterico + uma meia-alça de cultura em agar. Tres a quatro dias mais tarde, injectava uma dose dupla de cultura, mas sem sôro. Esta prova, realizada em 1.000 japonezes, não se mostrou muito efficaç.

Mais tarde, este mesmo auctor modificou o processo e injectava, então, pela primeira vez, partes eguaes de

sôro e de cultura, e, a segunda vez, 20 partes de sôro para 80 de cultura. Os resultados foram mais satisfactorios que os precedentes.

Entretanto, ambos esses methodos occasionavam fortes reacções locais que muito contribuíram para que os mesmos cahissem em desuso.

Na Inglaterra, as experiencias de Gibson orientaram-se para o emprego das vaccinas sensibilizadas.

Na Allemanha, utilizou-se uma vaccina composta de bacillos, de toxina e de anti-toxinas: conhecida sob o nome de "Dysbacta". Era uma especie de vaccina sensibilizada. As reacções locais ou geraes produzidas por essa vaccina mostraram-se menos intensas, porém os resultados obtidos foram pouco nitidos para a completa convicção do methodo.

Em seguida, H. Vicente utilizou uma ethero-vaccina polyvalente.

E, em 1920, começaram a apparecer as primeiras vaccinas formoladas (S. Costa, Durand) que se mostraram tres vezes menos toxicas, que as precedentes.

Mas, verdadeiramente falando, o uso de todas essas vaccinas, actualmente, está por completo abandonado, em razão das reacções locais, muitas vezes violentas, e das reacções geraes, que ellas suscitam.

Em 1925, Dumas — Ramon — Saïd Bilal, prepararam uma **anatoxina dysenterica** sobre as bases estabelecidas por G. Ramon para a diphterica.

Essa nova anatoxina mostrou-se, igualmente, por completo innocua: pois em injeccão **intra-venosa** na dóse de **10 cc.** não determina nenhuma perturbação no **cobaio**, enquanto a toxina na dóse 1/10 de centimetro cubico mata este mesmo animal dentro de 2 a 3 dias.

Sendo que cobaios vaccinados pela anatoxina dysenterica adquirem uma protecção bastante accentuada contra varias dóses mortaes de cultura viva ou de toxina introduzidas nas veias.

Na especie humana, os resultados obtidos são do mesmo modo satisfactorios. Após uma injeção de 1 cc. de anatoxina, o sôro dos individuos assim tratados contem as anti-toxinas correspondentes: 2/10 de cc. de sôro, retirados 15 dias após a injeção, neutralizam de 1 a 3 doses mortaes para o cobaio.

Os estudos actualmente proseguem e cada vez mais permitem antevêr a completa possibilidade de se praticar em grande escala e com successo a immunização activa do homem pela anatoxina dysenterica.

ANATOXINA GONOCOCCICA

A vaccinothérapie anti-gonococcica, até ha bem pouco tempo, era quasi que exclusivamente reservada, em se tratando de blennorrhagia, ás infecções chronicas e ás suas complicações.

Alguns resultados, entretanto, foram registrados de curas no periodo agudo da infecção gonococcica pelo emprego de injeções de vaccinas com forte taxa microbiana. Porém, explicados por certos auctores (Grimberg e Uzan) como sendo antes um verdadeiro chôque prothénotherapeutico, que uma acção microbiana especifica.

Recentemente, Jaubert e Goy expuzerem concepções novas concernentes á vaccinothérapie anti-blennorrhagica, e, entre outras considerações, alludem que os insuccessos deste methodo na blennorrhagia aguda residem, principalmente, na unica preocupação que os auctores mostram ter em preparar emulsões vaccinaes muito densas, dotadas de um forte poder anti-microbiano e capazes de exercer sobre o organismo uma acção anti-microbiana intensa, descurando, porém, das acções anti-toxicas. (Sciences Médicales, 30 septembre 1926).

Ora, taes considerações são bem fundadas, porquanto, como muito bem accentuam Fiesinger e Walter, “é muito difficil dissociar a infecção da intoxicação. No estado vivo, os micro-organismos pathogenos agem por seus productos de secreção que podem persistir mesmo após a destruição dos corpos microbianos; a importancia dessas toxinas microbianas augmenta dia a dia, e os trabalhos modernos demonstram definitivamente que, o mais das vezes — a infecção se resolve em uma intoxicação.”

Por isso, assim baseados, Jaubert e Goy são de opinião que na blennorrhagia o mesmo acontece e que os phenomenos dolorosos e inflammatorios, a aquisição de virulencia pelos saprophytas banaes, a passagem á chronicidade, são imputaveis, sobretudo e antes de tudo, ás toxinas gonococcicas.

Em verdade, consolidando estas affirmações, numerosos auctores conseguiram realizar experimentalmente urethrites em tudo identicas áquellas produzidas pelos proprios gonococcus, e unicamente pela injeção na urethra de toxinas especificas.

Já em 1925, Horalek assignalára curas felizes no tratamento das inflammações dos órgãos genitales urinaes e principalmente das annexites, pelo emprego de injeções preparadas com culturas de gonococcus em caldo de 5 dias e filtradas. Este auctor numa estatistica baseada sobre 600 casos dá uma porcentagem de curas completas se elevando a 82 %. Porém, essa vacinação é acompanhada de phenomenos geraes accentuados, e o poder cachetizante das secreções microbianas tornam perigoso o emprego de tal methodo.

Outros processos, com identicos resultados, foram propostos e ensaiados por diversos experimentadores.

Até que Jaubert e Goy, em 1926, preconisaram a incorporação de uma **anatoxina** ás vaccinas anti-gonococcicas. Estes auctores estudaram a acção toxica e a

acção therapeutica das secreções gonococcicas. De uma parte, elles perceberam que o gonococco cultivado em melo favoravel dá uma toxina mortal para o animal, pois que o cobaio morre em algumas horas após injeção de 1 cc. desta toxina sob a pelle. Esta noção toxica explica perfeitamente os phenomenos inflammatorios e dolorosos das infecções gonococcicas. Doutra parte, constataram que taes toxinas injectadas no homem, mesmo em doses minimas, provocam reacções dolorosas e cachetizantes, interdictando o seu emprego.

Assim, após esses estudos, e influenciados pelos resultados fornecidos pelas anatoxinas em geral, resolveram elles preparar e utilizar uma **anatoxina gonococcica**. Esta é obtida segundo o processo preconizado por G. Ramon, e de nós já bem conhecido.

A anatoxina gonococcica, desse modo obtida, mostrou-se "muito bem tolerada pelo organismo, inoffensiva para o cobaio e conservando entretanto um poder antigenico elevado, facilmente contrólado pelo processo da floculação com um sôro anti".

Jaubert e Goy effectuaram, então, a associação dessa anatoxina á vaccina anti-microbiana, sob a formula da "Gonagone". Um centimetro cubico desta vaccina encerra duas partes de emulsão microbiana plurivalente, composta de gonococcus, estaphylococcus, synococcus, enterococcus e de bacillos pseudo-diphthericos. A estas duas partes de emulsão microbiana, ajunta-se uma parte de anatoxinas gonococcicas, provenientes de antigenos multiplos.

A este novo methodo vaccinal, correspondendo como bem se nota ás exigencias requeridas por uma vaccina anti-gonococcica, é necessario ligar grande importancia ao factor "anatoxina"; pois que, até ao presente, a nenhuma vaccina deste genero se havia ligado importancia á acção toxica das secreções gonococcicas.

A "Gonagone" é, como bem se nota, uma vaccina

anti-toxica e ao mesmo tempo anti-microbiana. Ella tem sido utilizada com excellentes resultados em França.

Quanto ás reacções provocadas por essa vaccina, ellas persistem e são devidas unicamente ao grande numero de germes microbianos, e não á presença da anatoxina. Taes reacções, entretanto, pódem ser facilmente attenuadas, tacteando-se a sensibilidade do doente; para isso, augmenta-se ou diminue-se a dóse vaccinante.

E' para se accentuar, entretanto, que as reacções locais, se bem que apparentes, são diminuidas consideravelmente e tornam-se perfeitamente supportaveis.

As injecções far-se-ão em pequenas doses. A primeira, dóse de ensaio, servirá de criterio para cada individuo e indicará ao medico a maneira de reagir do doente, devendo ser praticada em dóse pequena, $\frac{1}{4}$ de cc., por exemplo; as outras, succedendo-se nesta ordem: $\frac{1}{2}$ — $\frac{3}{4}$ — $\frac{3}{4}$ — 1 — 1 — 1,5 — 1,5 cc., etc.

Vejamos agora os resultados obtidos por diversos auctores com o uso da "Gonagone" no tratamento da blennorrhagia, especialmente na fórma aguda.

Fouquiau, chefe de Clinica Urologica da Faculdade de Medicina de Paris, relata os resultados por elle obtidos com o emprego da vaccina "Gonagone" no tratamento da blennorrhagia aguda.

Em 200 casos, o auctor obteve os seguintes resultados:

Em 30 doentes tratados unicamente por injecções dessa vaccina, sem tratamento local, registra 12 curas completas e definitivas após 4 a 6 injecções, no prazo de 12 a 15 dias. Os casos restantes, foram sensivelmente melhorados.

Em 75 casos submettidos á vaccinotherapia associada ás grandes lavagens, obteve os resultados seguintes:

a) Atenuação extremamente rápida e quasi completa dos phenomenos inflammatorios (dôr, tumefacção, edema).

b) Diminuição do corrimento, que, após a terceira ou quarta injecção, se reduz a uma simples gotta.

c) Reducção da durabilidade e da marcha da infecção;

10	casos	de	cura	antes	de	15	dias,
22	"	"	"	"	"	25	"
43	"	"	"	"	"	40	"

d) Ausencia de complicações.

e) Na blennorrhagia feminina, os resultados foram igualmente accentuados.

Em seguida, François, Assistente de Clinica Urologica da Faculdade de Paris (Hospital Necker), publica (La Clinique, Novembre, 1926) os resultados que elle obteve em doentes tratados pela vaccina "Gonagone", só ou associada ao tratamento local.

Uma estatistica baseada sobre 330 doentes attingidos de blennorrhagia aguda e tratados unicamente pela vaccinotherapia lhe permittiu registrar, segundo as vaccinas empregadas, as porcentagens seguintes de cura ou melhorias nitidas: 10%, 14%, 20%, e 30%. Com a "Gonagone", entretanto, elle obteve a porcentagem de 66%.

Numa outra serie de doentes, esse mesmo auctor observou os effeitos de um methodo mixto de vaccinotherapia associada ao tratamento local. Em 310 casos tratados segundo esse methodo, a porcentagem de cura em menos de 2 mezes foi, segundo as vaccinas utilizadas: 55%, 57%, 61% e 67%. Com a "Gonagone", a porcentagem subiu a 86%.

E' bem frizante, portanto, que a utilização desta

nova vaccina no tratamento anti-blennorrhagico, e mais em particular no periodo agudo, fornece excellentes resultados.

E, ambos os auctores acima citados e tambem todos os que alludem á acção anti-gonococcica da "Gonagone," são unanimes em affirmar que o successo desta nova vaccina reside, além da selecção bacteriologica dos grupos gonococcicos, á introducção, nesta vaccina curativa, de **anatoxinas** fortemente antigonococcicas e no entanto bem toleradas pelo organismo.

Entretanto, outras anatoxinas começam, tambem, a ser experimentadas.

Citamos, a titulo de illustração, as anatoxinas bou-tolinicas e a dos anaerobios da gangrena gazosa, actualmente em estudos por parte de Goy e R. Prévot.

Esperemos, por isso, o resultado de taes experimentações, certos, porém, de que essas novas anatoxinas forçosamente desempenharão em vaccinothérapie um papel tão saliente quanto áquelle que, em longos traços, procurámos traçar, vizando aquellas anatoxinas ha pouco descriptas.

E, para mais consolidar a importancia desse novo antigeno, nos capitulos que ora seguem, teremos a oportunidade para apreciar o valôr da anatoxina tetanica, assumpto este que mais de perto nos interessa.

CAPITULO II

ANATOXINA TETANICA

SUA OBTENÇÃO E PROPRIEDADES

A ideia da criação de um processo de immunização activa contra o tetano, pelo emprego da toxina tetanica modificada e tornado inoffensiva, mas conservando a propriedade de produzir, quando convenientemente applicada, anti-toxinas especificas no sôro do individuo vaccinado — esta ideia tem, de tempos para cá, particularmente preocupado os scientistas affeitos a esses estudos experimentaes.

Com este intuito, já Ehrlich fazia actuar sobre a toxina tetanica o sulfureto de carbono, procurando assim attenual-a e dotal-a de propriedades vaccinantes; Behring, o tri-cálorureto de ouro; e Larson e Nelson lançaram mão do ricinoleoto de sodio.

Roux e Vaillard utilizaram a mistura constituida de toxina adicionada ao liquido iodurado (liquido de Gram). Injectaram-na, primeiramente, todos os quatro ou cinco dias, sob a pelle de um cavallo e nas proporções de $\frac{1}{3}$, $\frac{1}{4}$, etc., depois muito fracas doses de toxina pura; progressivamente augmentaram estas doses de toxina e conseguiram injectar até 200 e mesmo 250.

centímetros cubicos, sem que os animaes succumbissem. O sôro assim obtido, misturado em pequena quantidade, 0cc,003, a doses consideraveis de toxina, 3 cc., neutralizava esta ultima, e a injectão preventiva desse sôro em um animal impedia-o de ser tetanizado por doses seguramente mortaes de toxina tetanica. Esse sôro conferiu, pois, ao animal uma immuidade passiva, que traduz a efficacia do processo de vaccinaçãõ empregado por esses auctores. Porém elle encerra muitas desvantagens, razão pela qual não entrou na utilizaçãõ pratica. Em primeiro lugar, a mistura toxina e liquido de Gram perde, no fim de alguns dias, toda a sua actividade immunizante, o que obriga empregar-a nas primeiras horas que seguem a sua preparaçãõ e a injectal-a em doses elevadas. E', portanto, antigeno instavel.

Um grande progresso na attenuaçãõ da toxina tetanica foi assignalado por Löwenstein e Eisler pelo emprego da toxina formolada na vaccinaçãõ anti-tetanica. Estes auctores obtiveram os melhores resultados com a toxina submettida ao formol na proporçãõ de 1,5 ‰ e tendo soffrido a acçãõ da luz electrica fornecida por uma lampada de 1/4 de Ampère e situada a 4 centms. numa caixa de madeira fechada por papel negro e onde a temperatura oscillando de 7 - 30 graus. A vaccina deste modo obtida e injectada no cobaio na dose de 5 cc., decorridos 10 dias, protegia parcialmente o animal, permitindo a éclosãõ de tetano attenuado, mas não mortal, sendo que 14 a 24 dias apõs, essa protecçãõ já era total e offerecia uma immuidade que estes auctores avaliam em 6 mezes de duraçãõ. Löwenstein e Eisler tentaram, tambem, mas sem exito, a immunizaçãõ do homem por meio da toxina tetanica tratada só pelo formol. Os resultados conseguidos foram, porém, destituídos de vantagens praticas, porque o sôro dos individuos assim vaccinados demonstrou possuir fraca producçãõ de anti-toxinas especificas. O methodo encerra um grande in-

conveniente, causa da sua impraticabilidade, que reside no facto de não permittir se avaliar no momento o poder antigenico das toxinas depois de tratadas pelo formol. Accresce, ainda, não ser possivel se apreciar, mesmo de uma maneira grosseira, a degradação por que passa esse poder no decorrer da destruição da toxidade do veneno tetanico. Tal degradação é consideravel, porquanto a immunização activa do cobaio exige, como acima indicámos, a injecção de 5 cc. da vaccina formolada, dóse esta muito importante em face do peso do animal considerado (cobaio). Emfim, trata-se de um antigeno pouco estavel, por conservar o seu valôr immunizante só durante um curto tempo.

Com o advento da importante descoberta de Ramon — a anatoxina diphterica — Descombey, em 1925, começou a ensaiar a anatoxina tetanica na immunização activa contra o tetano, conseguindo assim crear um processo baseado inteiramente no de Ramon, e que, por sua exteriorização pratica, tem se mostrado “efficaz, simples e duravel”, como justamente o classificam os auctores.

Actualmente, é o unico capaz de conferir ao organismo uma solida e duravel vaccinação anti-tetanica, sobejamente demonstrada nas experimentações effectuadas em animaes e no homem; opportunamente, teremos occasião de relatal-as no capitulo correspondente.

Aliás, com os attributos communs ás anatoxinas em geral: elevado poder antigenico, estabilidade e innocuidade — a anatoxina tetanica forçosamente desempenhará papel saliente nas immunizações activa e passiva na lucta contra o tetano.

Vejamos, porém, como se define esta nova anatoxina.

DEFINIÇÃO

Conforme os característicos com que a dotou Ramon, é, como vimos no capítulo precedente, “um producto que perdeu toda a nocividade da toxina de que deriva, mas que, no emtanto, possui o valôr flocculante e conservou, egualmente, todas as propriedades immunizantes.”

OBTENÇÃO

O processo de preparação desse novo antígeno é, em suas linhas geraes, identico áquelle empregado por G. Ramon para a anatoxina diphterica: consiste em collocar a toxina tetanica, frescamente obtida e de um determinado poder toxico, sob a acção combinada do aldehydo formico e do calôr, durante um certo espaço de tempo, necessario para a sua transformação em anatoxina.

Descombey utiliza uma toxina tetanica que, em injeção intra-muscular, mata um cobaio de 300 grammas em 4 ou 5 dias e na dóse de 0cc,0001. Esta toxina misturada a um sôro anti-tetanico padrão e titulando 5.000 unidades de Ehrlich, floccula em proporções de 20 cc. de toxina para 0cc,35 de sôro.

Em seguida, ajunta á essa toxina 2 cc. por mil (2 cc. $\frac{2}{1000}$) de uma solução a 4 % de aldehydo formico, e o todo leva á estufa á temperatura de 37 - 38 graus, ali permanecendo a mistura durante 3 semanas, no minimo.

Aos poucos e de uma maneira lenta, a toxidade da mistura baixa desde os primeiros dias, sendo que ás 48 horas de permanencia na estufa, a toxina formolada já não dá tetano local no cobaio na dóse de 0cc,0005 (a dóse minima mortal não sendo senão de 0cc,01).

Decorridos 5 a 6 dias, a injeção da dóse enorme de 5 cc. é incapaz de provocar o menor accidente local de

tetano, nesse mesmo animal. Contudo, a toxidade da mistura ainda não está abolida completamente, porquanto essa injeccão de 5 cc. póde, apesar de não produzir contracturas locais, ser seguida, após 4 a 5 dias, de tetano generalizado mortal, demonstrando que a toxina está incompletamente neutralizada.

E' sómente com o decorrer do tempo que os accidentes desta ordem vão diminuindo, á medida que a toxina vae tambem se degradando.

Chegada mais ou menos ao vigesimo dia, a transformação em anatoxina se opera definitivamente, tornando-se a mistura de um todo inoffensiva, ao ponto de 10 cc. não provocarem sequer accidente ao cobaio, quer immediato ou mediato á injeccão.

A toxina tetanica transformou-se pois, inteiramente, em anatoxina: um producto novo, desprovido de qualquer nocividade, possuindo, porém, alto valôr antigenico capaz de conferir ao sóro sanguineo immuniidade activa rica em anti-toxinas especificas.

PROPRIEDADES

Essa nova anatoxina possui caracteristicos bem definidos e de uma utilidade pratica assaz importante, graças aos mesmos ella supplanta grandemente as toxinas apenas modificadas, taes como a iodada, e ensaiadas nas immunizações anti-tetanicas.

“As suas propriedades, aliás, são aquellas basicas ás anatoxinas em geral.”

Devemos a Descombey a experimentação cuidadosa em animaes, e a Ramon e Zoeller, no homem, das propriedades altamente immunizantes da anatoxina tetanica, e o que os levou consideral-a como sendo actualmente o unico processo capaz de provocar de um modo satisfactorio a apparição de anti-toxinas especificas no sóro do individuo vaccinado.

A anatoxina tetanica é, primeiramente, um producto em absoluto **inoffensivo**, pois que injectado em animaes de experiencia os mais sensiveis, no cobaio por exemplo, não provoca nenhum symptoma de intoxicação, mesmo em doses elevadas.

Os tres cavallos que se prestaram para as observações de nossa parte pratica soffreram, cada um, injeções de anatoxina tetanica em quantidades equivalentes, na somma, a 56-64 cc., sem que apresentassem o menor signal de tetano local ou geral. Este facto é bastante eloquente para demonstrar a completa innocuidade do emprego dessa anatoxina; devemos realçar que dois desses animaes foram injectados unicamente por via endovenosa e que o cavallo é, por excellencia, de grande sensibilidade á toxina tetanica.

A **estabilidade** é um outro seu caracteristico: ella se conserva bem durante muito tempo nas condições ordinarias sem que perca alguma de suas propriedades. O calor, por exemplo, só a altera acima de 58 - 60 graus. As amostras de anatoxina empregadas para a realização dos trabalhos praticos desta these nos foram enviadas do Instituto Pasteur de Paris, por especial favor do illustre cientista Ramon. Apesar das mudanças de clima, ellas não perderam o seu valôr immunizante, como tivemos oportunidade de constatar.

Em conclusão, podemos affirmar que as injeções são absolutamente innocuas, pois não se fazem acompanhar de reacções nocivas, quer locais ou geraes, sendo que Ramon e Zoeller praticaram-nas mais de um milhar, no cavallo, sem que jamais observassem o menor accidente.

A anatoxina tetanica é, ainda, um producto dotado de valôr **antigenico intrinseco**, certo e constante, facilmente apreciavel "in vitro" pela reacção de floculação: após uma mistura de 20 cc. de anatoxina para 0cc,30 de

sôro anti-tetânico, a flocculação se effectua do mesmo modo que aquelle observado com a toxina.

Porém, a principal vantagem offerecida por esse novo antigeno é de provocar, quando convenientemente preparado, dosado e applicado — a installação e desenvolvimento de **immunidade anti-toxica especifica**, traduzindo-se pela appareção das anti-toxinas correspondentes no sôro sanguineo do individuo assim vaccinado.

Descombey injectou doses de 1 cc. dessa anatoxina sob a pelle de um determinado numero de cobaios novos e constatou que estas doses são seguidas, no fim de duas ou tres semanas, de resistencia maior á injectão intramuscular de uma quantidade de toxina tetânica encerrando varias doses mortaes para os cobaios testemunhas. Com o tempo, essa resistencia, em vez de diminuir, augmenta consideravelmente ao ponto de, decorridos dois a tres mezes, esses mesmos animaes supportarem, sem o menor indicio de intoxicação, a varios milhares de doses mortaes de toxina tetânica.

Não só doses de 1 cc. são capazes de conferir ao cobaio uma tal immunidade, pois unicamente 0cc,1 em injectão sub-cutanea já é o bastante para dotar o sôro desse animal com um valôr anti-toxico sufficiente para neutralizar 10 doses mortaes, approximativamente 60 dias após a injectão.

O poder antigenico da anatoxina tetânica é, pois, consideravel, o que bem a differencia dos demais antigenos com que os auctores procuraram, mas sem resultados tão favoraveis e estaveis, crear uma immunidade activa contra o tetano.

Tal poder immunizante pôde-se muito bem julgar pela presença das anti-toxinas humoraes especificas no sôro do individuo vaccinado. Para isso, é sufficiente que se pratique misturas de sôro ou de diluições deste sôro a estudar com um numero mais ou menos grande

de doses minimas mortaes de toxina tetanica, observando-se, então, os effeitos destas misturas quando injectadas em cobaios. Porém um processo muito mais simples é representado pela reacção de flocculação "in vitro".

O organismo tratado pela anatoxina tetanica, além de ficar possuidor de uma taxa assaz elevada em anti-toxinas correspondentes, adquire, tambem, a propriedade de fabrical-as rapidamente em forte proporção quando opportunamente solicitado por novo estimulo representado por uma outra dose dessa anatoxina, graças á **re-activação adquirida.**

"Finalizando, concluimos, com Ramon e Zoeller, que a anatoxina tetanica não é sómente uma toxina tratada pelo formol ou por tal ou tal agente physico ou chimico. Não basta, tambem, ajuntar, por exemplo, formol em quantidade qualquer a uma toxina egualmente qualquer para poder denominar o producto final obtido como sendo rigorosamente uma anatoxina. Operando-se assim, está-se arriscado a obter um producto tambem qualquer e de valór mediocre, senão nullo.

Depois dos memoraveis trabalhos de Roux e Yersin, depois dos de Roux e Vaillard e os de seus collaboradores, que proclamaram a verdadeira e indispensavel introduccão á Sôrotherapia anti-tetanica, sabe-se attenuar, anniquillar de multiplos modos a nocividade de um producto microbiano, e a anatoxina não representaria senão um progresso relativo na preparação dos antigenos, sem trazer, portanto, uma contribuição nova á pratica da immunização anti-toxica — se ella não fosse apenas uma toxina cujas propriedades nocivas foram destruidas por um pouco de formol e pela acção do calór.

Não, em realidade, a anatoxina é mais rica em seus principios: ella comporta, em synthese, esta dupla noção de valór antigenico intrinseco e de apreciação deste valór pela medida do poder flocculante."

CAPITULO III

EMPREGO DA ANATOXINA
TETANICA

a) NA VACCINAÇÃO DOS ANIMAES

Os primeiros ensaios de immunização activa contra o tetano por meio da anatoxina foram realizados por Descombey, vaccinando cobaios. E os resultados por elle obtidos são altamente satisfactorios e muito contribuíram para que as experiencias se estendessem, tambem, aos outros animaes sensiveis ao tetano, até que culminaram na vacinação do homem.

Em todos esses ensaios, a anatoxina mostrou-se em absoluto innocua e de efficacia a toda prova, por ser capaz de dar lugar á immunidade anti-tetanica activa e de um poder superior áquelles outros methodos vaccinantes lembrados pelos varios auctores, para o mesmo fim.

A immunidade pela anatoxina tetanica póde ser obtida nos pequenos animaes de laboratorio, taes como o cobaio e o coelho, seja por uma ou, melhor, por duas injecções sub-cutaneas de 1 cc., cada uma praticadas, por exemplo, com 20 dias de intervallo, seja, ainda, pela injecção de uma dóse de anatoxina effectuada algum tempo após injecções de sôro anti-tetanico e simultaneamente. Neste ultimo caso, quando ha grande excesso de anti-toxinas, a acção da anatoxina soffre, porém, um estorvo que diminue a taxa immunizante.

Recentemente, Descombey, tornou possível a vacinação do cobaio contra o tetano por injeção intra-cerebral de anatoxina correspondente.

Este methodo havia sido tentado por Marie, em 1907, no coelho; porém mostrou-se inefficaz, porquanto as quantidades de toxina tetanica, que correspondem ás doses não toxicas, são tão reduzidas que seu poder antigenico é absolutamente nullo.

A anatoxina, por ser um producto atoxico e de grande poder antigenico, facilmente permittiu realizar a immunização anti-tetanica nesses animaes de laboratorio por injeção directa no cerebro.

Após trepanação do craneo, segundo a technica corrente e todas as precauções usuaes, o auctor injecta 0,1 de centimetro cubico de anatoxina num dos hemispherios cerebraes. Segue-se uma phase de estupor, o rythmo respiratorio se acceléra e o corpo inteiro é agitado por tremores. A este periodo succede, muitas vezes, uma phase de excitação motora que leva o pequeno animal a movimentos desordenados, até cahir exgottado. Passados alguns minutos elle se ergue e tudo entra na normalidade pelo desapparecimento de taes phenomenos nervosos.

Com 0cc,2, dose um pouco maior que a precedente, a excitação é constante e 50 % dos animaes morrem uma hora após a injeção desta dose de antigeno.

A injeção intra-cerebral de anatoxina tetanica verdadeiramente vaccina o cobaio contra o tetano; pois, submettidos á prova, por injeção directa de toxina no cerebro e em quantidades sempre mortaes para os não vaccinados, resistem perfeitamente. Esta resistencia não resulta, porém, de um estado de immuidade tissular do systema nervoso: ella tem a mesma origem humoral, identica áquella obtida pelas vias habituaes.

Descombey experimentou dois lótes de 12 cobaios cada um e do seguinte modo: injectou a cada cobaio do primeiro lote 0cc,1 de anatoxina sob a pelle do abdomen; e aos demais cobaios do segundo lote, uma dose igual da mesma toxina num dos hemispherios cerebraes. No fim de dois mezes, experimentou todos esses animaes de maneira identica, por injeccão intra-muscular de quantidades variaveis (1-10 doses mortaes) de toxina tetanica, lethaes para os testemunhas. Os cobaios, vaccinados, tanto por um como por outro modo, apresentaram resistencia incontestavel á prova. Assim, qualquer que seja a via que se utilize, sub-cutanea ou intra-cerebral, para injectar a anatoxina, a resistencia conferida por uma mesma dose de antigeno é sempre de valôr immunizante equivalente. Não ha, pois, sensibilidade particular do encephalo á toxina tetanica; não ha, tambem, immunidadade particular a este orgão. Ella permanece sempre em estreita dependencia das qualidades anti-toxicas dos humores. O auctor comprovou, tambem, a presenca das anti-toxinas tetanicas tanto no caso de vaccinaçãõ intra-cerebral, como no de injeccão sub-cutanea. Donde se conclue que a injeccão intra-cerebral é seguida da producçãõ de anti-toxinas. Esta producçãõ é quantitativamente muito variavel de um individuo para outro, aliás isso se observa, tambem, na vaccinaçãõ pela via sub-cutanea. Um cobaio, por exemplo, resiste á 20 doses mortaes, enquanto que outro, preparado de modo identico, succumbe á injeccão de 1 ou 2 doses mortaes sómente.

Considerando-se que o titulo anti-toxico humoral obtido por vaccinaçãõ intra-cerebral é pouco elevado, pelo facto de permittir que se injecte por esta via sómente fracas quantidades de antigeno, o que faz com que o sôro dos animaes assim preparados resista apenas á injeccão de algumas doses mortaes de toxina; que, tambem, esta immunidadade é da mesma ordem que aquel-

la desenvolvida por injeccão sub-cutanea — conclue-se que esta ultima via deve em pratica merecer a preferencia por ser de mais simples technica e por permittir a injeccão de fórtes dóses de anatoxina, tornando, assim, o animal mais resistente á inoculação experimental.

Esse cobaio vaccinado por 1 cc. de anatoxina tetanica sob a pelle do abdomen supporta perfeitamente, no fim de um mez, a quantidades de toxina indo de 10 a 500 dóses mortaes, tanto em inoculação sub-cutanea como intra-cerebral. Ainda mais, Descombey constatou que cobaios vaccinados por duas injeccões de 1 cc. e de 2 cc. de anatoxina, resistem á injeccão intra-cerebral de 15.000 e mesmo 20.000 dóses mortaes de toxina tetanica.

E' difficil negar, deante de taes factos, o papel das anti-toxinas na resistencia desses cobaios; difficil, tambem, sustentar que estas anti-toxinas não tenham accesso aos centros nervosos.

Percebe-se, do mesmo modo, que a resistencia do encephalo é proporcional á taxa anti-toxica dos humores, pois que basta fazer crescer o valôr anti-toxico do sangue para augmentar, tambem, automaticamente, a resistencia do cerebro.

Assim, Descombey, conclue: “não sómente é desnecessario collocar o antigeno directamente ao contacto dos centros nervosos para tornar estes refractarios á injeccão de toxina, assim como o melhor meio disso conseguir é injectar o antigeno sob a pelle.”

VACCINAÇÃO DO CAVALLO

Trataremos aqui de uma maneira mais particular quanto ao emprego da anatoxina na vaccinação do cavallo, por ser este animal de grande sensibilidade á toxina tetanica, e por ser elle, tambem, de escolha para o preparo e obtenção do sôro especifico therapeutico.

Descombey chegou á conclusão de que a immunização activa do cavallo é praticamente realizavel, mesmo por doses reduzidas de anatoxina, collocando-o refractario não só á intoxicação severa, como tambem, e com mais forte razão, á doença naturalmente contractada.

As experiencias foram praticadas, por esse auctor, em 300 cavallos collocados em condições diversas e cuidadosamente observados; no decorrer das vaccinações, eram effectuadas colheitas de sangue para se apreciar o apparecimento e augmento progressivo das anti-toxinas no sôro do animal em estudo.

Para se obter um grau de immunidade activa sufficiente, o valôr antigenico da anatoxina utilizada deve ser sempre o mesmo para que, tambem, os resultados obtidos possam ser perfeitamente contrólados, visto que anatoxinas, mesmo quando procedentes de uma mesma toxina original, nem sempre encerram e offerecem igual valôr immunizante. Ramon e Descombey aconselham que se injecte, no cavallo, uma anatoxina tetanica titulado de 1,5 a 2 unidades anti-toxicas.

Desenvolvimento da immunidade

A marcha da immunização activa obedece sempre, aliás como em toda vaccinação, a um rythmo progressivamente ascendente e variando muito pouco com as condições de experimentação. Assim é que uma primeira injectão de anatoxina tetanica de 10 cc. provoca, decorridos alguns dias, sómente uma fraca immunidade, porém facilmente evidenciavel.

Essa immunidade activa devida á primeira dose de anatoxina é sempre pouco elevada, ainda mesmo que para isso se augmente a quantidade do antigeno, injectando-se, por exemplo, 20, 50, 100, 150 cc. e mais.

Nota-se, pois, que a quantidade de anti-toxinas cor-

respondentes, provocada por uma primeira injeção vaccinante, é de valôr pouco elevado e se traduz pela neutralização de algumas doses mortaes. Mas, o que é de importancia capital — sob a influencia dessa primeira dose o organismo adquire uma aptidão especial para **responder**, ulteriormente, á segunda injeção de anatoxina, com producção de anti-toxinas humoraes tanto mais rapida e elevada, quanto maior tiver sido o tempo deixado como intervallo entre as duas injeções preparatorias.

Os auctores frizam que esta noção de espaço entre as duas primeiras doses vaccinantes deve ser cuidadosamente observada para que se obtenha immunização satisfactoria.

Senão vejamos: Ramon e Descombey experimentaram tres séries de cavallos e em cada uma injectaram duas doses de anatoxina tetanica, porém obedecendo a intervallos diferentes.

Assim, na **primeira série**, praticaram duas injeções de 10 cc. cada uma e intervalladas de 15 dias; a immunnidade, fraca antes da segunda injeção, permittiu, tres semanas após, a 1 cc. do sôro desses animaes neutralizar de 1 a 3 doses mortaes de toxina tetanica, para o cobaio.

Na **segunda série**, effectuaram as injeções com tres semanas de intervallo, e o sôro dos animaes assim tratados, 15 dias após a segunda injeção, neutralizava de 1 a 5 doses mortaes, para o cobaio.

Na **terceira e ultima série**, emfim, a segunda injeção foi praticada um mez após a primeira, o que permittiu ao sôro neutralizar, 10 dias depois desta ultima dose de anatoxina, de 5 a 20 doses mortaes de toxina tetanica, tambem para o cobaio.

“Resulta, pois, que duas injeções são indispensaveis para se obter uma immunnidade conveniente e que, doutra parte, é preciso collocar entre ambas um inter-

vallo que não deve ser inferior a tres semanas e que melhor será extender até a um mez." (Ramon e Descombey).

Essas doses vaccinantes podem ainda ser reduzidas, mas o que se não póde é, com uma unica injeção de anatoxina, provocar o desenvolvimento de immumidade sufficientemente rica em anti-toxinas.

Para demonstrar esta affirmação, Descombey vaccinou 9 cavallos do modo seguinte:

Dois desses animaes receberam **uma** injeção de 5 cc. de anatoxina tetanica;
outros dois, **uma** injeção de 10 cc.;
dois outros foram injectados com **uma** dose de 5 cc.;
e, finalmente, tres cavallos receberam duas injeções de 5 cc. com intervallo de 20 dias.

Os seis primeiros desses cavallos, os que receberam uma unica dose de anatoxina, foram sangrados 5 semanas após a data da injeção.

Os tres ultimos, 2 semanas depois da segunda dose de anatoxina.

E, nos sóros obtidos, esse auctor pesquisou a presença das anti-toxinas tetanicas, misturando cada soro, em dose fixa e uniforme de 3 cc., a quantidades variaveis de toxina tetanica: $1/5$, $1/2$, 1 e 2 doses mortaes; essas misturas, após 30 minutos de contacto á temperatura ordinaria para que a neutralização se operasse, elle as injectou em cobaios de 300 grammas. Ao mesmo tempo, cobaios testemunhas recebiam doses correspondentes de toxina. Destes, os que receberam $1/5$ ou $1/2$ da dose mortal, apresentaram tetano local após 48 horas de incubação, e aquelles que receberam 1 ou 2 doses, succumbiram em 4 a 5 dias.

No entanto, as anti-toxinas mostraram-se presentes

em notaveis quantidades nos cavallos tratados com duas injeções de 5 cc. cada uma, ao passo que naquelles vacinados por uma unica dóse de anatoxina, a immuni-
dade evidenciou-se por traços muito apagados.

Na verdade, estes resultados não valem senão em funcção do poder antigenico da anatoxina empregada. Quem sabe, se resultados ainda mais demonstrativos obter-se-iam se, tambem, toxinas muito mais activas fossem utilizadas no preparo das anatoxinas? Porém, actualmente, "o que importa, é mais a repetição das injeções que a quantidade absoluta da anatoxina injectada" (Descombey).

A immuniidade conferida pela anatoxina póde ser, ainda, vantajosamente augmentada em valôr anti-toxico pelo emprego das injeções constituídas por misturas de **anatoxina e tapioca.**

Vejamos quaes são os resultados que os auctores, de preferencia Ramon, obtiveram com o emprego dessa mistura na immunização activa do cavallo contra o tetano.

A tapioca, préviamente, é pulverizada e esterilizada a secco. E, a mistura uma vez constituída, injecta-se-a sob a pelle do animal, o que provoca artificialmente uma reacção do organismo, a qual augmenta por sua vez a producção de anti-toxinas especificas. A technica é a mesma que para a vaccinação sómente com a anatoxina:

- 1.^a Injeção de 10 cc. de anatoxina tetanica + tapioca;
intervallo de um mez;
- 2.^a injeção de 10 cc. de anatoxina tetanica + tapioca.

Decorridos oito dias após esta ultima injeção, 1 cc. do sôro dos cavallos assim vaccinados neutraliza a

quantidade de toxina tetanica representada por 1000 doses mortaes para o cobaio. Ao passo que no mesmo espaço de tempo um sôro unicamente tratado pela anatoxina neutraliza sómente de 5 a 20 doses mortaes.

Com um mesmo fim de augmentar a immuniidade anti-toxica e ao mesmo tempo realizar uma dupla immuniidade em uma só série de vaccinação, no cavallo, tambem as "vaccinas associadas" foram ensaiadas. Cavallos, por exemplo, injectados com duas doses de anatoxina tetanica (10 cc.) adicionada á uma cultura de estreptococcus aquecida durante 40 minutos a 54 - 55 graus, fornecem, uma semana após a ultima injectão, sôros que neutralizam ao centimetro cubico 50 a 100 doses mortaes de toxina tetanica, para o cobaio.

Resultados mais nitidos obteremos com tres injectões de anatoxina nestas condições.

Outros auctores experimentaram neste sentido os efeitos de diversos corpos propositalmente addicionados á anatoxina e com o intuito de augmentar a producção das anti-toxinas. Nattan e Larrier, por exemplo, ensaiaram o atoxyl e a tryparsamida. De facto, taes misturas são capazes de augmentar o poder antigenico da anatoxina, mas nenhuma dellas conseguiu dar tão excellentes resultados, como aquelles offerecidos pela tapioca.

Duração da immuniidade

A vaccinação produzida, seja por injectões de anatoxina só ou, então, addicionada de tapioca, se desenvolve, como já foi dito, obedecendo sempre a um rythmo ascendente até attingir um maximo, ahi permanece um certo tempo, e depois decresce lentamente.

Assim sendo, devemos procurar saber até quando essa immuniidade assegurará ao animal um poder anti-toxico capaz de collocar-o a salvo do tetano.

Não resta a menor duvida que essa protecção se prolonga por um espaço bastante dilatado, conforme muito bem demonstraram Ramon e Descombey nas varias pesquisas das anti-toxinas tetanicas no sôro dos cavallos vaccinados e examinados em differentes epochas de sua vaccinação.

E' para notar que 1 cc. desse sôro neutralizava, immediatamente após á segunda injecção preparatoria, 400 doses mortaes e, passado um anno, não neutralizava mais que 60 doses.

No caso do animal tiver sido vaccinado por misturas de anatoxina e tapioca, essa protecção será muito maior.

Assim, cavallos deste modo immunizados e 10 dias após a segunda injecção apresentando 1 cc. de sôro capaz de neutralizar 600 a 800 doses mortaes, 2 annos depois uma nova dosagem fez conhecer que possuiam, ainda, um alto grau de immunidade (1 cc. de sôro capaz de neutralizar 40 a 80 doses mortaes para o cobaio).

E' frizante que se 2 annos após a vaccinação preparatoria possuiam, ainda, tal poder anti-toxico, bem se póde imaginar que, forçosamente, permaneceriam ainda por muito tempo com um grau de immunidade capaz de collocal-os a salvo do tetano.

Donde se póde bem perceber que a immunidade conferida pela anatoxina é incomparavelmente superior á immunidade passiva doada pelo sôro anti-tetânico, que, como bem se sabe, dura sómente 3 semanas.

Uma terceira injecção de anatoxina tetanica sendo, então, praticada, por exemplo, um anno depois, elevará rapidamente essa immunidade activa.

Um cavallo, supponhamos, apresentando um anno após a segunda dose preparatoria (anatoxina+tapioca), um poder neutralizante equivalente a 60 doses mortaes de toxina tetanica, quando, passado esse tempo, receber nova injecção de anatoxina, nestas condições, rapida-

mente elevará a taxa immunizante, por exemplo, a 1000 - 2000 doses mortaes (para o cobaio).

A immunidade activa soffreu um augmento que bem podemos classificar de notavel, graças ao appello que a nova injeção veiu fazer ao organismo anteriormente vaccinado, respondendo este, então, por hyperprodução de anti-toxinas especificas — é a “reactivação adquirida”.

Considerações praticas

As experiencias que abaixo vamos relatar demonstram de maneira eloquente a efficacia que offerece esse novo antigeno. Devemol-as, tambem, a Descombey. Elle experimentou um determinado numero de cavallos vaccinados, seja por tres ou seja por duas injeções sub-cutaneas de anatoxina tetanica. Dias após a ultima dose vaccinante, os animaes foram postos em prova por injeção sub-cutanea de 1 cc. de toxina tetanica estabilizada, encerrando varias dezenas de doses mortaes para um cavallo novo. Sendo que aquelles vaccinados por tres injeções receberam esta dose de prova duplicada.

O primeiro lote era constituido de dois cavallos tendo recebido cada um tres injeções de anatoxina nas quantidades de 20, 20, 30 cc., com sete dias de intervallo. Uma semana após a ultima injeção, cada um dos animaes recebeu, sub-cutaneamente, 2 cc. de toxina tetanica, identica áquella commumente empregada no Instituto Pasteur de Paris para immunização dos cavallos productores de sôro anti-tetânico.

O segundo lote, representado por cinco cavallos vaccinados cada um por duas injeções de anatoxina de 20 cc., praticadas, tambem, com sete dias de intervallo uma da outra. A titulo de experiencia um dos animaes recebeu, uma semana após a segunda injeção, 1 cc. de

toxina tetanica; e os restantes, uma dóse igual, mas 14 dias depois desta ultima injecção de anatoxina.

O terceiro lote, em numero de tres cavallos, foi assim experimentado: cada um dos animaes recebeu duas injecções de anatoxina, sendo a primeira de 15 cc. e a segunda de 20, havendo entre ambas 7 dias de intervallo. A prova da immundidade foi effectuada 14 dias após a ultima dóse e constituiu tambem na injecção sub-cutanea de 1 cc. de toxina tetanica.

Todos esses cavallos supportaram perfeitamente a dóse de prova sem apresentar o menor symptoma que traduzisse tetano local ou geral — circumstancia que bem demonstra o grau de immundidade em que se achavam, devido ás injecções de anatoxina convenientemente espaçadas.

E' conclusão muito logica que, se esses cavallos submettidos a rigorosa prova de sua immundidade, recebendo, de repente e já elaborada, uma quantidade elevada de toxina tetanica, supportaram-na perfeitamente sem o menor signal de tetano, com muito mais probabilidades elles resistiriam á doença naturalmente contrahida, mesmo em suas fórmias as mais graves.

Nas condições ordinarias, os animaes estão expostos unicamente á contaminação de um ferimento por espóros tetanicos associados a germes e a substancias sahidas do meio donde procedem os proprios espóros; esta circumstancia contribue para lhes offerecer as condições necessarias á sua germinação e á secreção de toxina. Além disso, a secreção "in vivo" não é repentina e brutal, mas sim se processa progressivamente.

A immundidade, neste caso, é necessario que possua um poder anti-toxico não tanto elevado como aquelle que exige a neutralização immediata de uma enorme quantidade de toxina brutalmente introduzida no organismo. E' sufficiente que ella a neutralize á medida de

sua producção, antepoendo a formação correlativa das anti-toxinas.

Procurando indagar como se portam em face da doença natural os cavallos vaccinados por uma, duas, tres dósés de anatoxina, aquelle mesmo auctor fez com que elles adquirissem o tetano por meio de pequenos fragmentos de madeira, préviamente esterilizados, e de proposito mergulhados numa cultura de bacillos tetanicos datando de tres semanas.

“Uma lasca assim preparada dá sempre ao cobaio um tetano mortal.”

Afim de tornar a prova de maior rigor, para certos animaes, essas lascas de madeira, além de serem embebidas em veneno tetanico, ainda o eram numa mistura de tres culturas, em meio liquido, de: estaphylococcus, bacillo pyocyanico, bacillo de Friedländer. Sabe-se o papel favorecedor de que gozam taes associações no desenvolvimento do tetano. Os fragmentos permaneciam em contacto com a mistura, agitada de tempos a tempos para melhor repartir os espóros, assim tratados durante 24 horas. E, no dia seguinte, o todo era collocado a banho-maria e ahi mantido por uma hora e meia á temperatura de 80 graus. Uma vez a lasca bem impregnada de taes culturas, Descombey introduzio-as por meio de um trocart ao nivel do musculo mastoïdo-humeral até aos musculos do nucleo central, e tomando todo cuidado para que ella ahi permanecesse sem ser eliminada, em pleno tecido muscular. Ao mesmo tempo, outros cavallos não vaccinados e a titulo de testemunhas recebiam a inoculação por lascas preparadas de modo identico.

Decorridos dois a tres dias, estes, depois de soffrem symptomas de tetano que rapidamente se aggravou, haviam succumbido á infecção.

Os primeiros, os vaccinados, portaram-se, por sua vez, do seguinte modo:

- a) Os tratados por uma injeção sómente (10 cc. de anatoxina), manifestaram uma resistencia fraca e oscillando de um para outro animal. Por exemplo: de tres cavallos, um morreu de tetano agudo de evolução rapida; outro, tambem morreu de tetano, porém de caracter local e de marcha chronica (o que torna evidente que elle possuia uma certa immuidade); o terceiro, finalmente, resistiu completamente. Donde se conclue que existe, entre os animaes da mesma especie, differenças individuaes de receptividade;
- b) Daquelles tratados por duas injeções de anatoxina (10 ou 20 cc. cada uma e intervalladas de tres semanas), não apresentaram caso de tetano, mesmo local;
- c) Emfim, os cavallos vaccinados por tres doses de anatoxina (10 cc. cada uma), e normalmente espaçadas, resistiram sem que o menor signal de tetano, local ou geral, vencesse a solida immuidade em que se encontravam.

Nota-se que o valor anti-toxico conferido por duas injeções sub-cutaneas de anatoxina de 10 - 20 cc. cada uma e com o intervallo de um mez entre a primeira e a segunda é, pois, bastante satisfactorio.

Com tres injeções, esse poder é, ainda, muito mais elevado.

Porém, tanto o processo de provar a resistencia do animal á intoxicação experimental como o de demonstral-a á doença naturalmente contrahida, têm o inconveniente de serem muito dispendiosos, porque comportam

o sacrificio dos cavallos incompletamente vaccinados e o dos que servem de testemunhas. Além disso, os animaes tratados, seja pela toxina ou seja pela lasca tetanigena, são, com effeito, sacrificados sob o ponto de vista experimental, pois ambos os processos constituem o termo ultimo de uma experiencia, a qual tem o inconveniente de não permittir seguir o progresso e o declinio do estado de immundade.

Ora, sabe-se que a vaccinação pela anatoxina tetanica determina appareição das anti-toxinas correspondentes nos humores, e que essa immundade permanece em estreita dependencia das qualidades anti-toxicas desses mesmos humores.

Logo, o seu contrôle pela pesquisa das anti-toxinas especificas, prova simples de ser executada, vem remediar os inconvenientes dos dois processos ha pouco citados.

Assim é que Descombey effectuou a dosagem dessas anti-toxinas no sôro dos cavallos submettidos á prova das lascas, e demonstrou este parallelismo: a immundade traduzida pela resistencia á prova coincidia com a presença das anti-toxinas correspondentes no sôro, e que a ausencia destas estava perfeitamente em relação com a ausencia da immundade.

Utilização

A immundação pela anatoxina tetanica, na prophylaxia do tetano em medicina veterinaria, encontra sua verdadeira indicação na vaccinação do cavallo e dos outros animaes domesticos susceptiveis de contrahirem tal infecção. Assim é que esta vaccinação systematica, será muito util quando praticada especialmente nas cavallariças, estrebarias, na exportação desses animaes, nos

meios onde o tetano é endemico (em certas regiões da França, na Africa, no extremo Oriente).

Ella se impõe, egualmente, para os cavallos do exercito.

As considerações, que traçámos acerca da immunição activa do cavallo, nos mostraram que, para este animal, o maximo de protecção em face da toxi-infecção tetanica póde ser obtida no minimo de tempo, procedendo-se do modo seguinte: Faz-se asepticamente uma primeira injecção de 10 cc. de anatoxina (só ou addiccionada á tapioca), possuindo um bom valôr antigenico, pelo minimo 1 a 5 unidades ao centimetro cubico; depois, passadas tres semanas ou melhor um mez, effectua-se segunda injecção na mesma dóse (Descombey).

Essas injecções deverão ser praticadas sub-cutaneamente e em regiões não expostas aos attrictos dos arreios, de preferencia ao nivel do pescoço e por debaixo da crina.

Se uma outra vaccinação, microbiana por exemplo, tiver que ser realizada no mesmo animal, poder-se-á associar-as, injectando a mistura, effectuada extemporaneamente, de vaccina microbiana e anatoxina, porém sem tapioca.

Repetindo-se dois ou tres annos após uma nova injecção de anatoxina addiccionada de tapioca, collocar-se-á, então, o animal seguramente ao abrigo do tetano para o resto da vida.

Quando um animal não vaccinado ou em curso de vaccinação ainda incompletamente estabelecida, apresentar um ferimento suspeito ou deva soffrer uma operação cirurgica — a sôrotherapia é e deve permanecer o unico methodo de urgencia.

Porém, como affirma Descombey, se o animal, um mez antes, recebeu a primeira dóse de anatoxina, a injecção preventiva de sôro póde ser perfeitamente sub-

stituida pela segunda dose de anatoxina, que ocasionará uma immuniidade activa, solida e duravel.

Para os bovinos, ovinos e outros, obedece-se a este mesmo methodo: receberão identicas doses de anatoxina e com os mesmos intervallos, que para o cavallo. Sendo que para os pequenos animaes a dose será sómente de 5 cc. para cada uma das duas injeccões exigidas.

São essas, de um modo geral, as acquisições que actualmente devemos á anatoxina tetanica utilizada em veterinaria.

Assim baseado sobre principios solidamente estabelecidos e amparado por uma longa e edonea experimentação, o methodo de vaccinação pela anatoxina constitue um meio inteiramente novo na lucta contra a toxinfecção tetanica.

Utilizado em medicina veterinaria de maneira judiciosa e systematicamente, nas condições que acabámos de expôr, elle permittirá assegurar a prophylaxia geral e duravel do tetano no cavallo e nas outras especies domesticas sensiveis a essa mesma infecção.

Sómente após esta affirmação é que os experimentadores foram naturalmente levados a ensaiar-o tambem na especie humana. E, como a seguir constataremos, os resultados alcançados confirmam ainda mais o valôr immunizante da anatoxina tetanica.

A principio, porém, traçamos algumas breves considerações visando a sôrotherapia anti-tetanica, unicamente com o intuito de realçar as principaes circumstancias em que uma immunização activa, pratica e ao mesmo tempo efficaz, se faz sentir para preencher as lacunas que a passiva não póde satisfazer.

Necessario se torna accentuar que, absolutamente, não queremos destituir, dentro de seus limites, de seu verdadeiro valôr a sôrotherapia anti-tetanica, seria,

portanto, ir de encontro ao que a pratica deste methodo therapeutico diariamente traduz.

Ambas essas immunizações, a passiva e a activa, encontram innumeradas occasiões em que uma completa a outra de um modo perfeitamente harmonioso e fructifero em beneficio para o doente; assim como, noutras, o emprego isolado de uma dellas satisfaz plenamente as exigencias requeridas pelo caso.

b) — NA IMMUNIZAÇÃO ACTIVA DO HOMEM

A Sôrotherapia começou, sabe-se, com o emprego dos sôros anti-diphtherico e anti-tetanico, constituindo este methodo uma das mais brilhantes conquistas realizadas pela Therapeutica de nossos dias. E, no decorrer de um espaço de tempo que já se calcula em trinta annos, grandes e indispensaveis têm sido os beneficios que ella vem prestando á lucta contra a diphteria e o tetano, até então de uma therapeutica precaria e de muito incerta efficacia.

Porém, para que se lhe possa tirar o maximo de rendimento, é necessario que, tambem, se consiga reunir um determinado numero de circumstancias que fazem variar os effeitos dessa immunização passiva; e, nem sempre, dadas as condições, isso é possivel.

Por exemplo, um sôro guarda todo seu valôr quando applicado durante as primeiras horas que se seguem á injectão. E, em se tratando de tetano, esta noção de precocidade cresce de importancia, exigindo mesmo que se injecte o sôro no "primeirissimo estadio da molestia", como justamente frizam os auctores. Porque sob esta condição é que o sôro anti-tetanico guarda, quasi integralmente, o seu poder de neutralizar as toxinas elaboradas pelos germes. Se assim não procedermos, dei-

xando de intervir immediatamente com o sôro, os bacillos tetanicos se desenvolverão, as toxinas por elles elaboradas attingirão a corrente sanguinea e por esta as cellulas motoras do systema nervoso central, intoxicando-as e augmentando a excitabilidade reflexa dos centros motores do cerebro e da medulla. Em taes condições, será demasiado tarde para o completo exito da sôrotherapia, porque o terrivel veneno tetanico já teve o tempo necessario para impregnar as cellulas nervosas motoras, e o sôro, assim, não. poderá neutralizal-o; seu papel, quando muito, será o de aniquilar, neutralizando, as toxinas ainda não fixadas e circulando livremente no sangue.

Portanto, é como agente prophylactico que o sôro anti-tetanico, convenientemente manejado, encerra e offerece a sua maior efficacia.

Assim considerado, deve ser empregado após todo e qualquer ferimento occasionado em condições que possam fazer pensar em appareição ulterior de uma infecção tetanica declarada.

Porém, se o sôro de um individuo já fosse dotado de certa taxa em anti-toxinas tetanicas, doadas por immunização activa, esse organismo estaria sempre em condições de satisfazer a importante necessidade de "precoceidade", luctando contra o veneno desde a penetração e a medida de sua producção.

Não existindo, entretanto, essa protecção, só a sôrotherapia precóce, trazendo de prompto á corrente circulatoria grande quantidade de anti-toxinas especificas, já elaboradas e aptas para a acção — será capaz de collocar, desde as primeiras horas, o organismo infectado a salvo do tetano. Porém, tal protecção é curta, pois a eliminacão do sôro se realiza gradativamente e, decorridas mais ou menos duas a tres semanas, os anticorpos que elle emprestou já desapareceram do sangue; assim, o ferido permanecerá desarmado para luctar

contra a éclosão da fôrma de tetano denominado **tardio** ou **post-serico**. O apparecimento desta especie de tetano é perfeitamente justificavel, porquanto sabemos que o sôro anti-tetanico não é bactericida, mas sim anti-toxico; ora, se as injecções não tenham sido sufficientemente repetidas, e pelo facto da eliminação do sôro injectado já se ter processado, os bacillos, mais especialmente os espóros, continuarão a viver e a produzir as toxinas; estas, não encontrando em seu caminho as **anti-toxinas** correspondentes que lhes neutralizem a acção, justificam de uma maneira cabal o tetano post-serico.

Resalta, pois, a grande importancia que assume a necessidade de se repetir por um certo numero de dias as injecções de sôro. Mas, até quando devemos prolongal-as? Será, entretanto, o aspecto do ferimento, a sua evolução lenta e suspeita que commandarão injectar-se uma nova dóse de sôro ou mesmo repetil-a varias vezes durante um determinado tempo.

Sobrevem, então, a possibilidade de surgirem accidentes sericos que, embora os mais das vezes pouco alarmanes, nem por isso se deve deixar de evital-os. Para este fim, póde-se empregar o sôro purificado de Ramon; porém, tratando-se de um tetano declarado, e sendo necessario doses enormes de anti-toxinas, os accidentes sericos pódem apparecer e, assim, o sôro de Ramon perde a sua principal vantagem. Emfim, certos auctores fazem vêr, que em unidades anti-toxicas eguaes, esse sôro purificado é menos activo que o ordinario.

Casos ha, entretanto, em que as injecções reiteradas de sôro ordinario ou, então, do desalbuminado de Ramon não conseguem collocar o individuo ao abrigo de contrahir o tetano. Esses casos, felizmente, são raros e em muito pouco diminuem o valôr da sôrotherapia anti-tetanica, pois é indiscutivel que a immunização passiva — quando applicada convenientemente — constitue um

processo therapeutico de grande efficacia na lucta contra a infecção do bacillo de Nicoläer.

“E’ como agente prophylactico, criteriosamente empregado, que o sôro anti-tetanico offerece o maximo das vantagens que encerra.”

Como curativo, num tetano symptomatologicamente já declarado, a acção da sôrotherapia é incerta em seus resultados e não permite se affirmar que seja segura e constante, ainda mesmo que se utilize o sôro de maneira intensiva e por diversas vias de introducção. Ella depende de multiplas condições, entre as quaes realça a precocidade das injeccões de sôro e a relativa lentidão do desenvolvimento do tetano.

Até aqui, considerámos o individuo que soffreu ferimento em condições que possam fazer temer uma possível infecção tetanica; ou, então, que apresenta tetano symptomatologicamente declarado.

No primeiro caso, a acção do sôro é prophylactica, e no segundo, curativa. Consideremos, tambem, aquellos individuos que, por seus meios de vida, estão particularmente expostos á infecção tetanica: agricultores, palafreneiros, militares de tropas montadas, etc. Nesses individuos a pratica de injeccões de sôro anti-tetanico a cada novo ferimento offerece multiplos inconvenientes a par de difficuldades.

As creanças, e de um modo especial as que habitam na campanha, estão diariamente expostas ao tetano, pois que frequentemente se ferem no curso de seus brincados em lugares onde é facil encontrar o bacillo tetanico.

Os animaes, particularmente o cavallo, são egualmente merecedores das nossas attenções em face do tetano.

Emfim, devemos considerar os casos em que a infecção se declara após ferimentos que passam completamente desapercibidos.

Para prevenção destes e a de todos os de tetano agrupados sob o nome improprio de "expontaneo ou interno" — a sôrotherapia pouco vale, pois que ella não justifica seu emprego na phase em que mais beneficios poderia offerecer: isto é, prophylacticamente.

Consideremos, tambem, que para muitas doenças infecciosas, entre as quaes a diphteria, a escarlatina, a dysenteria bacillar, etc., o organismo é capaz de adquirir immuidade em consequencia de infecção occulta constante e attenuada, mas perfeitamente sufficiente para conferir ao sôro anti-toxinas especificas que o colloquem em immuidade activa.

Procurou-se, então, indagar se uma tal immuidade existe para o tetano; porém, a resposta dada pelos experimentadores — é negativa: o sôro sanguineo do homem e o dos animaes não possuem anti-toxinas tetanicas de origem natural.

O cavallo, por exemplo, particularmente sensivel ao tetano, não apresenta immuidade natural em face desta toxí-infecção, apesar de abrigar normalmente em seu intestino espóros ou bacillos tetanicos. Pelo contrario, é possivel encontrar em seu sôro anti-toxinas diphtericas, cuja origem só pôde ser ligada a um contacto especifico, comquanto não seja muito corrente encontrar nesse animal o bacillo correspondente.

Do mesmo modo, uma infecção tetanica declarada não confere immuidade — isso vale tanto para o homem, como para os animaes — continuando os individuos, uma vez curados, perfeitamente receptivos e podem, portanto, succumbir a um segundo attentado.

Ramon e Zoeller, que muito especialmente emprehenderam estudos nesse sentido, assim se expressam: "Não conseguimos evidenciar traços sequer de anti-toxinas tetanicas de origem natural em mais de uma

centena de cavallos examinados sob este ponto de vista, sendo que alguns já haviam sido attingidos por tetano, de que curaram.”

Um outro factor que deve ser considerado, tambem, na apreciação de “immunidade occulta”, é a pesquisa da “reactivação adquirida”, que se traduz por uma aptidão particular do organismo em produzir rapidamente anti-toxinas especificas sob a influencia de nova estimulação.

Ora, os mesmos auctores acima citados constataram, egualmente, que, se algumas vezes, o individuo adquire immunidade contra o tetano, por vaccinação, de uma maneira mais rapida que outro, a vantagem não reside numa reactivação adquirida por infecção occulta, porquanto as injeções progressivas de anatoxina tetanica, praticadas em grande numero de individuos que haviam apresentado anteriormente ferimentos infectados em condições favoraveis ao tetano, não determinaram, em nenhum delles — immunidade melhor nem mais rapida. O mesmo acontecendo para com aquelles attingidos anteriormente de tetano: taes individuos não eram dotados de melhor aptidão vaccinal e seu sôro, totalmente desprovido de anti-toxinas tetanicas.

Considerando o que até aqui expômos a respeito da immunização passiva pelo sôro anti-tetanico, e no que de positivo existe acerca da immunidade natural correspondente ao tetano, concluímos, com a maioria dos auctores:

- a) a acção da sôrotherapia anti-tetanica conhece limites;
- b) o sôro é valioso como meio prophylactico, exigindo, porém, precocidade e oportunidade nas doses e na repetição das mesmas;

- c) como methodo curativo, o sôro é incerto em sua efficacia, por depender de multiplas circunstancias, nem sempre possiveis, em pratica, satisfazel-as;
- d) não existe "immunidade occulta", naturalmente adquirida, contra o tetano.

Nota-se, deante de taes considerações, a importancia que assume a aquisição de um processo de immunização activa, collocando permanentemente o organismo em condições de lutar e aniquillar as toxinas, desde os primordios da infecção tetanica.

Assim é que Ramon, Zoeller e Descombey, norteados para esse rumo e baseados nos excellentes resultados obtidos com a anatoxina tetanica na vaccinação do cobaio e, especialmente, no cavallo, ensaiaram-na, tambem, no homem.

A technica seguida obedece, em suas linhas geraes, a de toda immunização pela anatoxina, e com mais identidade áquella para a diphteria. Sendo que os individuos submettidos á vaccinação não possuiam traços apreciaveis de anti-toxinas tetanicas em seu sôro. E a anatoxina empregada, possuindo um valor antigenico intrinseco elevado: 2,5 unidades antigenicas, préviamente avaliadas pela flocculação.

A technica obedece ao seguinte rythmo:

- Primeira injeccão de 1 cc. de anatoxina.
- Intervallo de um mez.
- Segunda injeccão de 2 cc.
- Intervallo de oito dias.
- Terceira dóse, tambem, de 2 cc.

Todas, subcutaneamente.

Poucos dias após a primeira injeção, a taxa de anti-toxinas começa já a se elevar e permite a 1 cc. de sôro retardar a morte de um cobaio, injectado com uma dóse mortal de toxina.

Porém, 10 dias após a 2.^a dóse de anatoxina, esse mesmo sôro neutraliza em 1 cc. a quantidade de toxina tetanica correspondendo a 100 doses mortaes (para o cobaio).

A differença entre a taxa immunizante, conferida pela 1.^a injeção e a 2.^a, é bem nitida: esta estabelece uma reactivação adquirida que aquella, praticada em tempo opportuno, nada mais faz que desenvolve-a.

Frizam esses auctores que a oportunidade da 2.^a dóse de anatoxina é condição que bem se deve observar, pois a reactivação adquirida não se estabelece de inicio, inopinadamente; antes, pelo contrario, ella obedece á uma maturação progressiva.

Observemos:

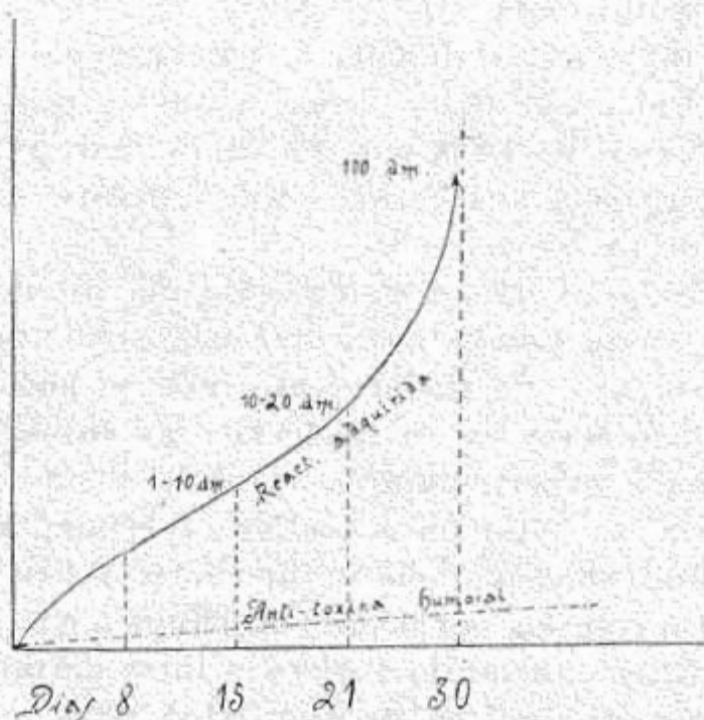
Quando a 2.^a injeção é praticada 8 dias após a 1.^a, o seu effeito é quasi nullo.

Quando, effectuada com 15 dias intervallados da primeira dóse de anatoxina — a proporção das anti-toxinas humoraes é tal, que, 10 dias após, 1 cc. do sôro dos individuos tratados dessa maneira neutraliza 10 doses mortaes (para o cobaio).

Augmentemos para 3 semanas o intervallo entre as 2 primeiras injeções, e esse mesmo sôro possuirá ao centimetro cubico, 8 a 10 dias após a 2.^a dóse de anatoxina, um poder immunizante capaz de se contrapôr á acção de 20 doses mortaes de toxina tetanica (no cobaio).

Esperemos 1 mez para praticar a 2.^a injeção, e obteremos uma immunidade que corresponde á neutralização de 100 doses mortaes.

Afim de melhor gravar esse augmento do poder immunizante, conforme o intervallo entre as duas primeiras injeções de anatoxina, Ramon e Zoeller schematizaram-no no seguinte graphico:



No qual se vê perfeitamente o pouco augmento da taxa de anti-toxinas humoraes conferida pela 1.^a dose; a sua frizante differença com a da 2.^a injeção; e, assim como, a elevação differentemente ascendente da reactivação adquirida, traduzida pela neutralização de doses mortaes (para o cobaio) cada vez maiores, conforme o espaço de tempo deixado entre as duas injeções preparatorias.

Com duas doses, portanto, o poder immunizante do soro já é bastante elevado e permite ao individuo se pôr a salvo de contrahir o tetano, nas condições ordinarias de infecção.

A 3.^a dose de anatoxina (2 cc.) é sómente para consolidar ainda mais a immunidade, hypermunindo o

sôro: os auctores denominam-na, sabemos, "injecção de appello". A dosagem praticada uma dezena de dias após esta injecção demonstra que 1 cc. do sôro do individuo vaccinado neutraliza 1.000 a 2.000 doses mortaes de toxina tetanica, para o cobaio, e, em alguns casos, muito mais.

A injecção de appella é, portanto, de uma importancia toda capital no caso em que se quizer elevar a taxa dessas anti-toxinas no individuo anteriormente vaccinado pela anatoxina. Mais adiante voltaremos a tratar desta importancia.

A questão da necessidade de um intervallo conveniente, como vimos, entre as duas primeiras injecções vaccinantes — "é ineluctavel e não se pôde incurtal-o, multiplicando-as ou variando-lhes as doses." E' o que affirmou a experimentação classica.

Para isso, Ramon e Zoeller experimentaram immunizar individuos por doses inferiores a 1 cc. (doses minimas) ou, então, por doses superiores a 1 cc. (doses fortes). Elles ensaiaram injecções intra-dermicas de 1/10 de centimetro cubico de anatoxina pura, e tambem a 1/20 nagua physiologica: taes injecções se mostraram inefficazes.

Quanto ás doses fortes, esses mesmos auctores vaccinaram 3 individuos com duas injecções de 4 cc. com intervallo de 15 dias. E a titulagem das anti-toxinas tetanicas, effectuada uma semana após a ultima dose, demonstrou que 1 cc. do sôro neutralizava sómente 1 dose mortal. Ora, é justamente o que se consegue, no mesmo espaço de tempo, com o emprego de doses de 1 e 2 cc. de anatoxina.

Do mesmo modo que "o augmento ou a diminuição das doses, a approximação das injecções é inefficaz." (Ramon e Zoeller). Pois, individuos vaccinados da maneira seguinte: 2 cc., 3 cc., 5 cc. de anatoxina tetanica com 5 dias de intervallo, não possuíam, no fim de 10

dias após a ultima injeção, traços sequer de anti-toxinas no sôro sanguineo (Ramon e Zoeller).

Essas experimentações levam á conclusão de que “é preciso, para crear uma immuidade anti-tetanica sufficiente, contar mais com o factor **tempo** do que com a multiplicação das injeções ou accrescimo de volume das doses.”

Justamente assim se expressam esses auctores.

E' indiscutivel que a anatoxina tetanica é bem capaz de provocar, no homem, immuidade anti-toxica especifica, caracterizada pelo apparecimento, no sôro, da anti-toxina correspondente e pela installação da reactivação adquirida. Pois, antes de tudo, é contra a toxina que o individuo adquire um estado refractario; porém, praticamente, é contra a toxi-infeção tetanica que importa segurar a protecção. Ora, a importancia da toxina na acção pathogena do bacillo é tal, que a immuidade anti-toxica equivale bem a uma vaccinação contra a infeção tetanica.

Estabilidade da immuidade

Sem duvida, uma prova rigorosa não será dada, no homem, senão no dia em que os individuos vaccinados pela anatoxina, depois de expostos aos riscos do tetano, permanecerem absolutamente indemnes; isso será o caso, por exemplo, para os militares submettidos aos traumatismos de guerra. No entanto, como vimos, as provas por que Descombey fez passar os cavallos, por elle vaccinados pela anatoxina, demonstram perfeitamente o valôr e a estabilidade dessa immuidade.

Além disso, a immuidade pela anatoxina apresenta a vantagem de ser estavel, não exposta a enfraquecer sob a influencia de circumstancias accessorias, o que constitue questão importante sob o ponto de vista pratico. Mesmo quando os individuos vaccinados são sub-

mettidos a causas que lhes diminuem a resistencia: frio, calôr, estafa, infecções anergisantes (sarampo, gripe, etc.); pela existencia de uma angina; de uma reacção serica; por um traumatismo recente com effusão sanguinea abundante — a immuidade guarda, ainda, todo o seu valôr e persiste sob sua dupla fórma de anti-toxina humoral e de reactivação adquirida (Zoeller).

Experimentalmente, no cobaio, este auctor praticou a prova da estabilidade da vaccinação pela anatoxina tetanica. Aproveitando a acção favorecedora que representam as associações microbianas na éclosão do tetano, elle primeiramente injectou uma mistura formada de 1/3 de cultura de bacillos subtilis e de 2/3 de bacillos tetanicos, nos musculos da pata anterior. O tetano não se declarou, com vaccinação por uma só dóse de anatoxina, quando Zoeller enfraqueceu, após a inoculação de prova, a resistencia do animal, seja impondo-lhe um estafamento, seja produzindo uma fractura ao nivel do ponto inoculado seja, ainda, immergindo os quartos posteriores nagua a zero grau, durante 1 hora, duas vezes ao dia. Nesta ultima circumstancia, entretanto, dava-se ás vezes o apparecimento de tetano local. Porém, após vaccinação por duas injeccões de anatoxina, esse tratamento já não produzia effeito.

Comquanto não sejam validos senão para o cobaio, com taes resultados bem se póde imaginar que a immuidade conferida pela anatoxina tetanica possui estabilidade notavel em face dos factores accessorios, e principalmente o frio, em individuos convenientemente vaccinados.

Contribuem, doutra parte, para estabelecer que a immuidade doada pela anatoxina não protege sómente contra a inoculação experimental da toxina, mas tambem contra a infecção tetanica. E reforçam ainda mais aquellas experimentações no cavallo, realizadas por Descombey visando identico fim, e por nós já citadas.

Durabilidade da immunitade

Ella é bôa ainda após um anno.

A taxa de anti-toxinas baixa lentamente.

E a reactivação adquirida persiste inteira: solicitada por uma "injecção de appello", ella manifesta sua persistencia por uma elevação muito accentuada do poder anti-toxico.

Individuos vaccinados por G. Ramon e Zoeller com tres injecções de anatoxina tetanica, segundo a technica que espaça as doses, apresentaram, 9 dias após a terceira injecção, 1 cc. de seu sôro neutralizando 1000 doses mortaes (para o cobaio).

Passados 4 mezes, o valôr anti-toxico desse sôro era ainda superior a 300 doses mortaes. E, 1 anno após, neutralizava ainda 100 doses. Sendo que entre esses individuos existia um que havia fornecido no curso do anno 450 cc. de sangue para transfusão, e as anti-toxinas especificas, passivamente transmittidas, foram encontradas no sôro do recebedor.

Vê-se que decorrido um anno após a vaccinação o sôro possui ainda um valôr em anti-toxinas humoraes bastante elevado, e o individuo, quando exposto á infecção tetanica, encontrar-se-á protegido immediatamente por essa quantidade de anti-toxinas presentes nos humores, protecção que dispensa, na maioria dos casos, a injecção preventiva de sôro.

Pelo facto da reactivação adquirida não esmorecer com o decorrer do tempo, é possível, desde o ferimento, hypermunir esse individuo por uma injecção de appello de 1 cc. Neste caso, diz Zoeller, o augmento anti-toxico é tão rapido, que no quarto dia a taxa de anti-toxinas é sempre nitidamente superior áquella que poderia fazer apparecer, no mesmo espaço de tempo, uma injecção de sôro.

Essa injeccão de appello poderá ser feita, por exemplo, de anno em anno, afim de manter o organismo sempre num grau bastante elevado de immuniidade activa.

Vias de introduccão

Usualmente, os auctores têm recorrido á via sub-cutanea, no animal, para a introduccão da anatoxina no organismo; em verdade, ella tem se mostrado a mais favoravel ao desenvolvimento da immuniidade anti-toxica em geral. A anatoxina introduzida no tecido conjunctivo não deixa localmente, nem na economia geral, nenhum traço prejudicial de sua passagem. Aliás, é um dos seus caracteristicos: injectada em animaes mais sensiveis, ella sempre se mostrou inoffensiva.

No homem, tambem, assim tem acontecido.

Entretanto, os auctores têm procurado indagar se esse novo antigeno não produziria alguma reacção proteínica especifica, semelhante áquella provocada, algumas vezes, pela anatoxina diphtherica, e que Zoeller denomina "anatoxi-reacção".

Procedendo por etapas, Ramon injectou no derma, a principio diluições de anatoxina a 1/100, a 1/10, depois sob a pelle anatoxina pura na dóse de 1/2, 1 cc., 3 cc. e mesmo 5 cc. Jamais observou elle reacções algumas, apezar de as ter pesquisado em perto de um milhar de experiencias.

Essa falta de reacção nociva justifica a preferencia em utilizar a via sub-cutanea para fazer penetrar a anatoxina no organismo humano.

Outras vias, no emtanto, foram tambem ensaiadas e entre as quaes a buccal, a nasal e a sanguinea.

No animal de experiencia, cobaio ou coelho, póde-se obter immuniidade por via buccal, embora de intensidade menor que pela sub-cutanea. Ramon e Zoeller fizeram as mesmas provas, procurando saber se esta via

poderia servir á vaccinação do homem pela anatoxina tetanica. Assim é que a sete individuos adultos e em jejum, fizeram elles ingerir 5 cc. de anatoxina (pura ou diluida seja nagua physiologica, seja nagua bicarbonatada). Duas doses assim preparadas e ingeridas com um mez de intervallo, não revelaram á titulação traços de anti-toxinas tetanicas no sôro sanguineo, 8 dias após a ultima.

A seis individuos, elles fizeram preceder as ingestões de anatoxina de absorpção prévia de pilulas de bile. E a dosagem das anti-toxinas, effectuada um mez após, mostrou-se completamente negativa.

Esses resultados contrastam com aquelles obtidos no animal de experiencia. A explicação talvez resida nas diversidades de estrutura do tubo digestivo ou ainda nas differenças de regimes alimentares. Os succos digestivos do herbivoro têm acção mais nociva para o antigeno ingerido que o chimismo do omnivoro. No caso da anatoxina ingerida ser precedida de bile, administrada sob a fórma liquida, os insuccessos pôdem, tambem, ser imputaveis á uma acção drastica produzida por esta.

Os mesmos auctores emprehenderam ensaios de vaccinação pela anatoxina tetanica utilizando a via nasal. Quatro individuos que, tendo feito injecções sub-cutaneas de anatoxina, effectuadas varias semanas antes, e após apresentarem uma certa proporção de anti-toxinas no sôro, foram submettidos durante 6 dias a instillações bi-quotidianas de anatoxina tetanica, préviamente concentrada e glicerinada: 1 parte de anatoxina concentrada por evaporação para 4 ou 5 de glicerina pura. Sendo que, antes da primeira instillação, o sôro desses individuos neutralizava respectivamente 40, 50, 100 e 300 doses mortaes, para o cobaio. E, 8 dias após a ultima instillação: 200, 300, 400, 500 doses mortaes. Augmento este que só poderia ser ligado á acção da anato-

xina absorvida por via nasal e augmentando, assim, a taxa anti-toxica, graças á reactivação adquirida, instalada pelas doses de anatoxina applicadas anteriormente por via sub-cutanea. E' frisante, pois, que a anatoxina introduzida por via nasal verdadeiramente é absorvida pelas mucosas do rhino-pharinge e que produz uma immuniidade anti-toxica analoga a que resulta utilizando-se a via sub-cutanea. Porém, comparativamente a esta, menos pronunciada se mostra a immuniidade conferida pela anatoxina introduzida por aquella via, sobretudo se levarmos em conta a quantidade de antigeno empregada, muito maior na rhino-vaccinação que na immuniização sub-cutanea.

Esta, permanece ainda a mais segura e tambem a mais economica para a producção de immuniidade anti-toxica em geral.

Vaccinas associadas

Ramon e Zoeller crearam as vaccinas associadas, propondo reunir antigenos dissemelhantes, taes como uma anatoxina e uma vaccina anti-microbiana ou, então, anatoxinas afastadas em sua especificidade, por exemplo, anatoxina tetanica e anatoxina diphterica.

Essa pratica exige, para justificar a vantagem de seu emprego, duas condições: é necessario que cada um dos elementos conserve o seu valôr antigenico e, doutra parte, que as reacções consecutivas permaneçam toleraveis, apesar de addicção de dois grupos de manifestações vaccinaes.

No emtanto, essas reacções são uteis quanto á immuniidade provocada pela anatoxina. E' o que acontece quando se mistura anatoxina ao pós de tapioca, na vaccinação do cavallo, pois a immuniidade assim obtida, mostra-se mais exaltada, dando maior rendimento em anti-toxinas. Mas, ao homem, o emprego da mistura vaccinante com tapioca é inapplicavel. Por isso, os auctores

acima citados, procuraram crear uma technica, utilizando a associação de outros productos á anatoxina, precisamente com o fim de provocar, por occasião da injecção vaccinante, uma reacção local ou geral adjuvante.

Foram, então, ensaiadas as seguintes misturas: anatoxina + uma fecula; anatoxina + leite esterilizado. Citam-se, igualmente, os bons resultados obtidos com uma technica consistindo em retirar 10 cc. de sangue do individuo numa seringa contendo já $\frac{1}{2}$ ou 1 cc. de anatoxina e, em seguida, injectar a mistura no tecido subcutaneo; produz-se, assim, localmente uma reacção favoravel ao estabelecimento da immunidadade procurada.

Uma vaccina microbiana, tambem, é capaz de provocar essa reacção util, além de offerecer a vantagem de permittir reunir, numa só vaccinação, duas immunições contra doenças muito differentes em sua origem e natureza. Precisamente é este o fim das "vaccinas associadas".

Commumente, costuma-se alliar a anatoxina tetanica (e o mesmo acontece para diphtherica) á vaccina T. A. B.

Ramon e Zoeller experimentaram os effeitos dessa mistura em animaes de laboratorio, e os resultados adquiridos os levaram a empregal-a tambem no homem. A acção da anatoxina tetanica por si é desprovida de qualquer reacção local ou geral, mas a vaccina T. A. B. determina essas reacções propositalmente procuradas e que se tornam, por sua vez, opportunas á acção immuniante da anatoxina. Acresce-se ainda a vantagem de permittir crear uma vaccinação associada.

Os effeitos dessa technica são bem nitidos, por exemplo: individuos vaccinados por tres injecções de anatoxina tetanica nas doses de 1 cc., 1 cc. e 2 cc., respectivamente intervalladas de 20 dias entre a primeira e a segunda, e de 8 entre esta e a terceira, adquirem, 8 dias após a ultima dose de anatoxina, um valôr immuni-

zante oscillando entre 1000 e 2000 doses mortaes (para o cobaio) ao centimetro cubico de sôro. Se, em vez de empregarmos a anatoxina só, addicionarmos 1 cc. da vaccina T. A. B. em todas as injeccões effectuadas, esse mesmo sôro neutralizará, ao em vez de 1000 a 2000 doses mortaes, 3000 a 4000; augmento, portanto, bem sensível e que demonstra que o emprego das vaccinas associadas é favoravel á immuidade anti-tetanica.

A vaccinação anti-typhica nada se prejudica em se associando á anatoxina tetanica, porquanto o sôro dos individuos tratados por essa technica, com a condição de não terem soffrido anteriormente vaccinação anti-typhica, adquirem normalmente o poder agglutinante para os bacillos correspondentes.

Assim, o organismo pôde ao mesmo tempo ficar possuindo duas immuidades, sem que uma estorve a outra.

Mas, uma affirmação definitva só será dada pelos resultados obtidos com a introducção desse methodo numa collectividade exposta ás infecções typhoides, por exemplo: numa epidemia ou estados de endemias.

Utilização pratica

A anatoxina tetanica pôde ser empregada em duas circumstancias:

Primeira — Trata-se de um individuo ferido e não vaccinado, ao qual se procura associar a vaccinação á sôrotherapia afim de extender o mais possivel a acção prophylactica. E', portanto, vaccinação anti-tetanica de urgencia.

Segunda — Para immunização activa contra o tetano, tendo-se em vista os membros de uma collectividade, fóra da ameaça imminente e actual de infecção. Constitue a vaccinação systematica.

Ocupar-nos-emos, a principio, da primeira eventualidade, isto é, da

Vaccinação de urgencia

E' por occasião de um ferimento de certa gravidade e sobrevivendo em condições favoraveis á éclosão e desenvolvimento do tetano, num individuo não vaccinado, que teremos oportunidade de praticar a immunização activa de urgencia pela anatoxina tetanica.

Sabemos, porém, que essa immunidade exige determinado tempo para que seus effeitos comecem a se externar.

Assim sendo, só a sôrotherapia precóce, intervindo immediatamente com as anti-toxinas especificas, será o unico modo de collocar o ferido em condições de lutar prophylacticamente, desde as primeiras horas, contra a infecção: portanto, elle deve, **antes de tudo**, receber o sôro anti-tetanico.

Aqui, aliás, é lugar opportuno para salientarmos mais uma vez que essa protecção immediata offerecida pela immunização passiva é de valôr indiscutivel e em cujo emprego não se deve vacillar.

Entretanto, como sabemos, ella é passageira, porquanto o sôro se elimina completamente depois de um certo tempo, o que obriga repetil-o em momento opportuno, geralmente no oitavo dia, quando se tem alguma duvida acerca da esterilidade do ferimento; sendo que em casos de traumatismos com grande mortificação dos tecidos deve-se, mesmo, repetir a injeccão todas as semanas, durante um mez.

Porém, mesmo após todas estas precauções, pôdem, ainda, surgir symptomas de tetano.

Durante a guerra européa, por exemplo, eram comuns esses casos de tetano post-serico, apparecendo algumas semanas e mesmo mez após ao ferimento, quando nada mais levava á lembrança de possivel apparecimento de tetano.

E' principalmente na prophylaxia desse tetano

post-serico ou tardio, que a vacinação pela anatoxina, alliada á sôrotherapia precóce, se propõe intervir e a protecção deste modo é representada por injeções simultaneas de anatoxina e de sôro.

No emtanto os auctores, a principio, procuraram indagar qual seria o effeito, sobre o apparecimento e desenvolvimento da immuniidade activa, de uma injeção concomitante de sôro anti-tetanico.

Ramon e Zoeller, para este fim, injectaram numa série de individuos simultaneamente 1 cc. de anatoxina tetanica e 5 cc. de sôro correspondente; e, decorridos 45 dias, effectuaram uma nova injeção de anatoxina de 2 cc., não repetindo, porém, o sôro. As dosagens das anti-toxinas especificas, realizadas alguns dias depois desta ultima dóse de anatoxina, demonstraram um valôr anti-toxico que de nenhum modo poderia ser ligado á immuniidade passiva. E os individuos assim preparados respondiam perfeitamente, após a ultima injeção vacinante, a uma "injeção de appello" de maneira identica áquella apresentada por immunização só com anatoxina; portanto, houve reactivação adquirida — apanagio da immunização activa, demonstrando que o sôro, absolutamente, não teve por effeito suspender a efficaacia da vacinação pela anatoxina injectada.

Identico resultado se obtem, não só com o emprego de doses moderadas de sôro, como tambem com o de doses elevadas.

Entretanto, aquellos auctores se propuzeram examinar o problema mais de perto e conseguiram provar que as anti-toxinas reveladas nas dosagens têm a sua origem da immunização activa e que, doutra parte, não são devidas ao sôro injectado; esta distincção tem que ser cuidadosamente observada no curso dessas pesquisas, porquanto umas como as outras dessas anti-toxinas, passivamente conferidas ou activamente creadas, neu-

tralizam de maneira identica a toxina tetanica injectada, neste caso no cobaio.

Tal confusão teria por effeito, por exemplo, inscrever em beneficio da vaccinação uma immuniidade que, na realidade, não seria senão um resto daquella passivamente conferida.

Por isso, os auctores ha pouco citados, examinaram o sôro sanguineo, após um longo espaço de tempo, de um individuo tratado (2 mezes antes, por exemplo) pela anatoxina e sôro anti-tetanico, para que todo traço de anti-toxinas passivas, completamente já eliminadas, não viesse alterar a identidade daquellas correspondentes á immunização activa.

Porém, este modo de proceder não dá o valôr da immuniidade activa nos primordios, portanto num periodo assaz importante sob o ponto de vista pratico.

Ramon e Zoeller, entretanto, resolveram a questão em titulando duas vezes, com uma ou varias semanas de intervallo, as anti-toxinas tetanicas existentes no sôro dos individuos immunizados, concomitantemente, pela vaccinação e sôrotherapia, isto é, primeira injeção de anatoxina mais sôro, intervallo de 45 dias, segunda injeção só de anatoxina.

E' logico que, se um sôro immunizado desse modo e examinado após uma ou varias semanas intercaladas entre as dosagens, conservar a mesma taxa immunizante ou, então, esta augmentar de uma titulação a outra, forçosamente elle possui immuniidade activa.

Se tal não bastasse, a reactivação adquirida viria provar, por intermedio de uma injeção de appello, a realidade da immuniidade activa.

Em conclusão: "a associação das immuniidades, activa, pela anatoxina, e passiva, pelo sôro, é praticamente realizavel de modo bastante satisfactorio."

No entanto, quando com essas injeções de sôro e de anatoxina procuramos, prophylacticamente, salvar um individuo apresentando um ferimento que se preste á suspeitas de possivel infecção tetanica, surge uma outra questão importante, que constitue em se saber se não ha lacunas entre uma e outra dessas immu- nidades. Porque, quando se injecta no mesmo momento o sôro e a anatoxina, pelo facto da immuni- dade conferida por esse diminuir rapidamente, acontece que mais ou menos 10 dias depois de uma injeção de sôro as anti- toxinas emprestadas tenham completamente desapare- cido; ora, nesse momento a immuni- dade activa existe apenas em traços ainda bastante apagados, sendo ne- cessario esperar alguns dias antes de se injectar nova dóse de anatoxina, effectuada com intervallo de 15 dias ou, melhor, 3 semanas espaçadas da primeira, para que, tambem, se obtenha uma taxa immunizante elevada em anti-toxinas especificas.

Assim, comprehende-se, haverá uma lacuna bem evidente entre o desaparecimento da acção do sôro e o começo dos effectos vaccinantes da anatoxina.

Por isso, Ramon e Zoeller aconselham que se repita a injeção de sôro, e crearam a seguinte technica, pro- curando deste modo supprimir tal inconveniente.

“Praticar uma injeção de sôro de 10 cc. e, no mes- mo momento, mas não no mesmo ponto de applicação, uma de 1 a 3 cc. de anatoxina tetanica. Esperar 10 dias, depois fazer uma segunda injeção de sôro de 10 cc. Nova espera de 10 dias, depois segunda injeção de ana- toxina (2 cc.).

Nota-se que desse modo effectuam-se duas injeções de sôro com 10 dias de intervallo e outras duas de ana- toxina espaçadas de 3 semanas, sendo que a primeira injeção coincide com a primeira dóse de sôro, conforme o schema:

Sôro N.º 1; anatoxina N.º 1
10 dias
Sôro N.º 2
10 dias
Anatoxina N.º 2.

Analysando-se, porém, o schema acima, abrimos um parenthesis, para bem observarmos o espaço de tempo que esses auctores aconselham que se deixe entre a primeira e a segunda injecção de sôro. O primeiro intervallo de 10 dias parece-nos um pouco grande, porque justamente faz cair a segunda dóse de sôro dentro de um periodo de tempo muito favoravel ao desencadear dos phenomenos anaphylacticos, que geralmente surgem quando se deixa transcorrer entre a primeira e a segunda injecção de sôro um intervallo de 9 a 14 dias, entretanto variavel, é verdade, de um individuo para outro, porém, raramente inferior a uma semana.

Assim sendo, muito mais prudente seria effectuar essa segunda injecção, por exemplo, com um intervallo de 7 dias após a primeira, o que em nada prejudicaria o successo do methodo.

Aqui fechamos nosso parenthesis e continuamos dentro das experimentações de Ramon e Zoeller.

No inicio do tratamento pela anatoxina, no setimo dia o individuo está em estado de immuidade passiva; a partir da injecção de anatoxina N.º 2, a immuidade activa se desenvolve e se substitue insensivelmente á passiva.

Esses auctores praticaram duas colheitas: uma no dia da anatoxina N.º 2, a outra 10-20 dias mais tarde, e as dosagens effectuadas fizeram conhecer a presença das tres eventualidades seguintes:

- A) — As anti-toxinas tetanicas decrescem de uma colheita á outra.

- B) — As anti-toxinas tetánicas permanecem estacionárias de uma colheita á outra.
- C) — As anti-toxinas tetánicas augmentam de uma colheita á outra.

No primeiro caso, póde-se suppor que a immuni-
dade activa se substitue á immuni-
dade passiva, mas sem se poder affirmar, pois que as anti-toxinas diminuem.

Nas eventualidades B e C, é evidente que a immuni-
dade activa succede á passiva, pois que não se concebe,
com effeito, que esta póssa se manter ao mesmo nivel
durante 8 dias nem, com mais forte razão, que ella aug-
mente.

Aliás, a comprovação da “reactivação adquirida”
confirma o apparecimento de uma immuni-
dade activa.

Entretanto, como fazem vêr aquelles experimenta-
dores, a injecção de 10 cc. de sôro deprime um pouco,
em certos individuos, o valôr anti-toxico da immuni-
dade activa; no conjuncto total, porém, obtem-se uma
taxa immunizante, apesar disso, bastante sufficiente
para assegurar protecção contra a infecção tetánica.

Em summa: “Deve-se praticar uma primeira de
anatoxina (1 cc.) no mesmo dia que a primeira injecção
de sôro (10 cc.), mas não no mesmo ponto de applicação.

No 10.º dia, nova injecção de sôro (10 cc.). Esta
injecção póde-se manter ou supprimir, segundo as cir-
cumstancias.

E, no 20.º dia, 2 cc. de anatoxina.

Até essa data o individuo permanece sob a influen-
cia da immunização passiva; e, a partir dahi e da se-
gunda injecção de anatoxina, a immuni-
dade activa se estabelece definitivamente.” (Ramon e Zoeller).

Vaccinação systematica

A anatoxina assume grande papel na immunização
activa contra o tetano, premunindo, de um poder anti-

toxico sempre elevado, os individuos particularmente expostos á infecção tetanica. Fazendo-se vaccinação anti-tetanica systematica não se tem a preocupação de dotar o sôro, o mais depressa possivel, com uma taxa elevada em anti-toxinas, porque não ha imminencia de tetano. Dahi, não se deve encurtar o intervallo entre as duas primeiras injecções, como observámos na vaccinação precedente, e sim extendel-o ao espaço de tempo que os auctores aconselham, isto é, a um mez, para que tambem se possa obter o maximo de rendimento. "Este cuidado tem por consequencia deixar amadurecer sufficientemente a reactivação adquirida e quando uma estimulação opportuna fôr necessaria esta tirará melhor proveito."

Já tivemos occasião de considerar a technica seguida por G. Ramon e Zoeller para a vaccinação do homem pela anatoxina tetanica, fóra da imminencia de tetano; é a mesma observada para a vaccinação systematica. Repetimol-a, para melhor accentual-a:

- 1.^a injecção de 1 cc. de anatoxina tetanica;
intervallo de 1 mez;
- 2.^a injecção de 2 cc.;
- intervallo de 8 dias;
- e 3.^a injecção de 2 cc.

Esta technica dá o seguinte resultado: 10 dias depois da 2.^a injecção, obteremos immuniidade correspondendo a 100 doses mortaes por centimetro cubico de sôro, em média; oito dias após a 3.^a, a immuniidade realizada corresponde, geralmente, a 1000 doses mortaes.

Durante o intervallo de 4 semanas que separa a 2.^a injecção da 1.^a, o individuo permanece receptivo; se, por acaso, elle se encontrar exposto á ameaça de infecção tetanica, dever-se-á protegê-lo, immediatamente, por uma injecção de sôro, porque a immuniidade activa ainda

não está installada de modo definitivo. Porém, após a 2.^a injeção preparatoria essa immuidade é já sufficiente para proteger, por si só, o individuo vaccinado.

A 3.^a injeção, sabemos, não intervem senão para elevar o poder anti-toxico a um nivel bastante alto e donde elle decrescerá lentamente, sendo que, passado um anno, o sôro ainda possui a taxa immunizante equivalente a 100 doses mortaes.

E, por occasião de um traumatismo em condições suspeitas, uma "injeção de appello", 1 cc. de anatoxina, será o bastante para hypermunir esse individuo, elevando-lhe rapidamente o valôr neutralizante de seu sôro, em consequencia do estimulo levado á reactivação adquirida, o que, neste caso, dispensa perfeitamente a injeção de sôro preventivo.

A vaccinação systematica é util áquelles individuos, cuja profissão expõe aos riscos do tetano, em particular aos militares de tropas montadas, aos agricultores, aos operarios em geral, aos palafreiros, etc.

Em tempo de guerra, ella offerece a grande vantagem de substituir a sôrotherapia preventiva e de evitar as reinjeções de sôro e os accidentes aos quaes ella expõe. Antes de uma campanha, por exemplo, a vaccinação dos soldados, ao mesmo tempo contra as infecções typhoides e ao tetano, utilizando-se as vaccinas associadas, tem um interesse altamente pratico.

Além disso, qualquer individuo está exposto a um dia receber uma injeção de sôro anti-tetânico; este, porém, o sensibilizará á toda injeção de um sôro therapeutico qualquer e collocando-o á mercê dos inconvenientes da anaphylaxia.

A anatoxina tetânica, tambem, por sua innocuidade absoluta, simplicidade e grande efficacia, presta-se perfeitamente para a vaccinação systematica das crianças. Tal pratica encerra muitas vantagens, porque dota o individuo de immuidade duravel desde a infancia e

facil de ser mantida em um nivel elevado: para isso, é sufficiente que se pratique uma injeção de anatoxina de 1 cc. annualmente, porquanto a reactivação adquirida persiste sempre.

Essa immundade activa póde ser provocada mesmo desde o nascimento, pelo facto da anatoxina tetanica ser um producto absolutamente desprovido de toda e qualquer toxidade e, segundo estudos recentes, perfeitamente supportada pelos recém-nascidos. Ella não determina reacção local nem geral. E' aconselhavel que se injecte, no recém-nascido, primeiramente 0,5 cc. de anatoxina tetanica; decorrido um mez, effectuar uma nova injeção, mas desta vez, 1 cc. A dosagem praticada 10 dias após a primeira dóse faz vêr que 1 cc. do sôro desse lactente neutraliza 2 dóses mortaes de toxina tetanica (para o cobaio).

Nota-se, se levarmos em conta a quantidade de anatoxina empregada, que essa immundade especifica provocada no lactente é mais fraca do que aquella realizada no adulto por quantidades proporcionalmente menores. Comtudo, ella é bem sufficiente para estabelecer a reactivação adquirida, que facilmente permittirá elevar o poder anti-toxico, quando por occasião de novas injeções (1 cc.) de anatoxina tetanica.

Não só o recém-nascido póde ser immunizado pela anatoxina, pois, se descermos mais baixo ainda, veremos que o proprio féto é susceptivel de ser influenciado pela vaccinação por meio da anatoxina injectada na mãe, no curso da gestação.

Para bem illustrarmos esta affirmação, é muito opportuno observarmos os estudos que Nattan-Larrier, Ramon e Grasset ultimamente effectuaram, concernentes á passagem das anti-toxinas tetanicas através da placenta.

Esses auctores chegaram a conclusões precisas.

Em primeiro lugar indagaram se a immundade que

se póde conferir á mãe por intermedio da anatoxina tetanica é transmissivel e sob quaes fórmias aos descendentes. Injectaram em duas coelhas no curso da gestação 2 dóses de anatoxina de 1 cc. (titulando duas unidades antigenicas) cada uma e sub-cutaneamente; a primeira injeccção logo no dia seguinte á fecundação, e a segunda, mais ou menos, 18 dias após. Desses animaes, elles colheram sangue immediatamente no dia seguinte ao parto e, ao mesmo tempo, examinaram o sangue dos filhótes. Os sôros assim obtidos, tanto o da mãe como o dos filhótes, apresentaram um valôr anti-toxico muito approximado e por assim dizer equivalente: 1 cc. de cada um desses sôros neutralizava de 1500 a 2000 dóses mortaes. O que bem demonstra que a immuniidade especifica que a femea em gestação adquire por injeccções de anatoxina tetanica se transmite, tambem, aos seus filhótes.

Mas, de que natureza é essa immuniidade? Foi o que Nattan e seus collaboradores trataram de especificar: se passiva, o fêto recebendo os anti-corpos já preparados, ou, pelo contrario, activa, o fêto elaborando por si proprio esses anti-corpos á custa da anatoxina injectada na mãe.

Ora, comparativamente, a durabilidade dessas duas immuniidades, isto é, a da mãe vaccinada e a dos seus filhótes, mostrou-se dissemelhante.

Naquella, a taxa de anti-toxinas augmentou durante os primeiros dias que se seguiram ao parto, estacionou e depois lentamente decresceu.

Naquelles, o inverso se deu: a immuniidade baixou immediatamente após ao nascimento, e passados tres mezes uma nova colheita fez vêr que o sôro não continha mais traços apreciaveis de anti-toxinas tetanicas.

Logo, com taes constatações, esses auctores concluíram que a immuniidade da mãe era activa e que a dos filhótes era passiva, porque nestes, a immuniidade ad-

quirida, por sua instabilidade inicial, aproximou-se muito mais da passiva.

Idênticas pesquisas fizeram elles na especie humana e chegaram ás mesmas conclusões.

“A placenta é permeavel ás anti-toxinas elaboradas na mãe vaccinada ou adquirida de um sôro anti-toxico, e immunizam, assim, passivamente o fêto.”

Vimos que essa immunidade passiva que o filhote adquire perdura por dois a tres mezes, o que é não destituido de interesse pratico: para a prophylaxia do tetano umbilical.

A vaccinação da mãe, preserva-a do tetano obstetrical.

Em verdade, essas fórmas de tetano são muito raras entre nós, porém, em diversos paizes da Africa, da Asia e mesmo entre os indigenas ainda existentes aqui na America do Sul, 20 a 30 % dos recém-nascidos succumbem por tetano de origem umbilical, sendo tambem frequente o obstetrical.

Entre os animaes domesticos, esses tetanos são muito mais frequentes.

Portanto, a vaccinação da mulher ou da femea prenhe, immunizando-a e visando tambem premunir o fêto com uma immunidade passiva, não é completamente inutil.

Na posse de taes conhecimentos, vejamos qual o criterio a seguir para vaccinar uma mulher prenhe. Em primeiro lugar, porém, façamos vêr que a anatoxina tetanica tem se mostrado completamente inoffensiva, quando injectada numa mulher grávida. Devem-se effectuar tres injecções de anatoxinas de 1 cc. cada uma: a primeira injecção no oitavo mez da gravidez; 20 dias depois, a segunda; e 8 dias após esta, a terceira.

O sôro da gestante deste modo vaccinada adquire, pouco depois da ultima dóse de anatoxina, uma im-

munidade tal, que em 1 cc. neutraliza de 300 a 1000 doses mortaes de toxina tetanica, para o cobaio.

O recém-nascido, por sua vez, apresenta um sôro (sangue do cordão) que tambem na quantidade de 1 cc. neutraliza de 100 a 300 doses mortaes; esta immuni-
dade, como acabámos de vêr no animal de experiencia, é passiva e unicamente devida á passagem das anti-toxinas maternas atravéz da placenta; ella egualmente se prolonga por 2 a 3 mezes.

Procedendo-se, agora, um apanhado geral das constatações, que nesta parte relatámos, effectuadas por esses experimentadores citados, percebe-se que a immunização activa pela anatoxina tetanica na especie humana é bem uma realidade e que offerece muitas vantagens sobre os demais processos antigenicos, com que os auctores procuraram chegar a esses resultados tão satisfactorios.

Entretanto, como bem diz Ramon, “só a utilização, em grande escala, desse novo antígeno e nas condições varias da pratica nos dirá, num futuro mais ou menos afastado, o seu verdadeiro valôr.”

c) — NA OBTENÇÃO DO SÔRO THERAPEUTICO

Ao se considerar a utilização da anatoxina tetanica na obtenção do sôro therapeutico, é que o valôr immunizante desse antigeno sobresahe de maneira incontestavel.

Em verdade, por suas qualidades caracteristicas e basicas, a anatoxina tetanica possui sobre a toxina correspondente um grande numero de vantagens praticas que levaram a utilizal-a exclusivamente, em França principalmente, na immunização dos cavallos destinados á producção de sôro anti-tetanico.

Até então, o unico antigeno empregado para este fim era a propria toxina. Sabe-se, porém, o quanto é difficil e ao mesmo tempo perigosa a sua utilização, em razão da grande toxicidade encerrada nesse producto.

Na immunização activa do cavallo productor de sôro, para se lograr este intento, começa-se por estabelecer nesse animal a resistencia primeiramente á injeccão de toxina em doses mortaes ordinarias; mas, para se alcançar essa chamada "immunidade fundamental", é sómente após um preparo gradativo e longo. A principio, o animal recebe injeccões de doses pequenas de toxina completamente attenuada (commumente pelo calôr ou pela mistura com uma soluçã iodo-iodurada); aos poucos, essas doses são injectadas cada vez maiores e tambem mais virulentas, até que o organismo do ani-

mal chegue a supportar, sem perigo, doses mortaes ordinarias. Nesse ponto, elle já é possuidor de um certo grau de immuidade activa em face da toxina. Essa immuidade, pelo mesmo processo de doses gradativamente maiores, é, então, aperfeiçoada até attingir um nivel sufficiente, traduzido pela resistencia á injectão de doses mortaes de toxina pura, sensivelmente maiores que as communs.

Porém, para se conseguir uma tal immuidade, são necessarios não poucos dias, porque, pelo minimo, é exigido deixar entre uma e outra injectão um intervallo mais ou menos equivalente a 72 horas, indispensaveis para que os phenomenos que caracterizam a "phase negativa" tenham o tempo sufficiente para se dissiparem.

Esses phenomenos são mais accentuados, principalmente, após ás primeiras injectões preparatorias e se caracterizam pelas reacções locaes (vermelhidão, dôr, edema e, ás vezes, abcessos) e geraes (febre, anorexia).

Procedendo-se, agora, um confronto do emprego deste methodo, isto é, utilizando a toxina, e o que emprega a anatoxina para esse mesmo fim, percebe-se claramente as principaes vantagens que este possui sobre aquelle.

Em primeiro lugar, o manejo da anatoxina tetanica é commodo e não requer, por ser um producto atoxico, as precauções exigidas pelo emprego da toxina correspondente. Pelo mesmo facto, as primeiras injectões vaccinantes de anatoxina pôdem ser muito maiores e, tambem, levadas directamente á corrente sanguinea por injectão intra-venosa, sem que o animal venha a soffrer dolo algum. Teremos, opportunamente, occasião de bem salientar e, ao mesmo tempo, documentar por observações, essa completa ausencia de toxidade da anatoxina tetanica.

Com a toxina, vimos, as reacções locaes e geraes após ás injectões não são raras em seu apparecimento

e frequencia, collocando os animaes muitas vezes em condições precarias de saúde.

Ao envez, elles supportam impunemente, na primeira injectão, uma dóse sensivelmente elevada de anatoxina, mesmo quando introduzida por via endovenosa. Dóses que, em se tratando de toxina, seriam seguramente mortaes.

Confrontemos, por sua vez, em um numero igual de injectões, o poder antigenico desses dois antigenos.

Pela propria circumstancia da toxina permittir ser injectada, nas primeiras injectões preparatorias, sómente em dóses muito reduzidas, a immuidade inicial é, por isso, muito fraca e apenas se consegue evidenciar, no sôro, traços bastante apagados, não raro imperceptiveis, de anti-toxinas tetanicas.

De outro lado, a anatoxina, possuidora que é de um elevado e forte poder antigenico e podendo ser injectada de inicio em dóses sensivelmente maiores, proporciona a essa immuidade fundamental uma taxa incipiente de anti-toxinas comparativamente muito mais accentuada que aquella occasionada, no mesmo intervállo de tempo e em identicas condições, pela toxina.

Por exemplo, uma semana após uma primeira injectão de 2 cc. de anatoxina, effectuada sub-cutaneamente em um determinado numero de cavallos, o sôro destes animaes já se revela possuidor de um poder neutralizante equivalente a 10 - 20 unidades anti-toxicas por centimetro cubico.

Ora, o methodo que utiliza a toxina está muito longe de, na dóse commumente empregada, provocar, após a primeira injectão vaccinante e nesse mesmo espaço de tempo, esse valôr immunizante, e nem mesmo sequer approximado.

Mesmo antes desse intervallo de uma semana, a presença das anti-toxinas especificas já se faz perceber no sôro dos animaes tratados por 1, ou 5, ou 10 cc. de

anatoxina tetanica, sendo que em alguns desses animaes, assim injectados por uma primeira e unica dóse, o sôro sanguineo 48 horas após já se apresenta anti-toxico, em verdade num grau pouco elevado, mas com-tudo sufficiente para neutralizar, em um centimetro cubico, algumas doses mortaes de toxina.

Em seguida a essa primeira dóse de anatoxina, installa-se uma "reactivação adquirida", cuja rapidez e solicitude são bem proprias e características da vaccinação pela anatoxina.

Sabendo-se convenientemente aproveitar e explorar essa propriedade, por intermedio de novas injeções de anatoxina, consegue-se em pouco tempo dotar o animal com uma solida immunidadade anti-toxica, caracterizando-se por uma hyperprodução de anti-toxinas.

E, como vimos anteriormente, se lançarmos mão da mistura constituida de anatoxina+tapioca nas doses já nossas conhecidas, esta, produzindo uma reacção local inflammatoria, com edema e maior affluxo leucocytario, muito contribuirá para elevar mais alto ainda o grau dessa immunidadade, e permite reduzir as injeções a um numero menor; quer dizer, utilizando-se a tapioca consegue-se, com as mesmas doses de anatoxina mas em menos injeções, alcançar um grau de immunidadade igual áquelle produzido por maior numero de injeções de anatoxina, nas mesmas doses, porém sem tapioca.

A acção adjuvante, puramente local, dessa substancia tem sido muito aconselhada pelos experimentadores, e em particular Ramon.

Para finalizarmos, alludindo ao valôr da anatoxina tetanica na obtenção do sôro especifico, transcreveremos as proprias palavras de Ramon, que assim conclue:

"A anatoxina tetanica póde determinar rapidamente, pela hyperimmunização do cavallo, a producção

de anti-toxinas de alto valôr; além disso, ella póde substituir com as vantagens de economia, tempo e de antígeno, a ausencia de riscos para a vida e para a saúde do animal, etc., a toxina tetanica na preparação do sôro correspondente para usos therapeuticos.”

No capitulo que se segue, relatamos os resultados obtidos na vaccinação de tres cavallos tratados pela anatoxina tetanica. E, se bem apreciarmos os resultados alcançados, teremos, egualmente, aquilatado da importancia e valôr desse novo methodo immunizante.

CAPITULO IV

RESENHA DOS TRABALHOS EXPERIMENTAES

Propriamente, dentro de nosso primeiro intento, não visavamos realizar os trabalhos experimentaes que ora expômos. É isso simplesmente porque a aquisição e conservação dos cavallos necessarios offerciam-nos muitas difficuldades, razão pela qual optámos, então, pela escolha de um outro plano pratico, cuja execução nos fosse mais accessivel.

Porém, o acaso, imprevisamente, nos veiu proporcionar e facilitar o mistér de desfazer todos esses empecilhos.

Quando, por occasião do movimento revolucionario de 3 de Outubro ultimo, á medida que os acontecimentos se precipitavam, entre as muitas difficuldades que urgiam ser, immediatamente, solucionadas, antevêndo-se a incerteza de calcular ou de imaginar aonde nos levariam as circumstancias desse palpitante momento historico — a premente necessidade de medicamentos de primeira urgencia, surgiu logo em plano de inevitavel evidencia. Pois, as primeiras ambulancias que foram, ás pressas, equipadas desfalcaram rapidamente o stock existente nas drogarias e principaes pharmacias.

Necessario, portanto, era que, impossibilitados de os receber rapidamente de outra qualquer parte, preparassemos, mesmo aqui dentro do Estado, os medicamentos mais imprescendiveis e destinados a seguirem immediatamente para o "front".

Procurando, então, attenuar essa falta, sem perda de tempo, o Instituto Pereira Filho, nos dias que comprehenderam esse movimento revolucionario e até ao seu desfecho final, trabalhou, num afan continuo, no preparo e confecção de medicamentos de urgencia, sendo que, graças aos seus esforços, em poucos dias já as primeiras remessas seguiam o seu destino.

Entre todas as difficuldades, até o preparo do proprio sôro anti-tetanico, cuja obtenção pelo methodo commumente empregado é morosa, seria, porém, de uma maneira rapida solucionado.

Como em Maio desse mesmo anno houvessemos recebido do Instituto Pasteur de Paris uma quantidade regular de amostras de anatoxina tetanica, por nós solicitadas e gentilmente enviadas pelo illustre scien-tista Ramon, facil e muito opportuno tornou-se utilizal-as.

Porque, e assim proclamam com entusiasmo os experimentadores, a anatoxina, por sua innocuidade e elevado valôr antigenico, em um numero menor de injecções (comparativamente á technica que utiliza a toxina) permite preparar e obter um sôro anti-tetanico de poder anti-toxico bastante elevado e sobejamente sufficiente para satisfazer as exigencias requeridas pela pratica.

Assim baseado, não vacillou o esforçado Professor Pereira Filho em injectal-as, sem mais tardar, em cavallos expressamente adequados, visando contribuir em poucos dias com uma quantidade assáz regular desse sôro therapeutico, cuja falta cada vez mais se fazia annunciar.

Entretanto, nessa altura, surgiu uma difficuldade: a urgencia do momento exigia que em pouco tempo, questão sómente de dias, se obtivesse o sôro anti-tetanico.

Ora, recordemos um pouco aquellas constatações, que nos capitulos prescedentes alludimos, a respeito do intervallo de tempo que os auctores recommendam collocar entre uma e outra das injecções vaccinantes, quando se emprega a anatoxina tetanica.

Por exemplo, Ramon e Zoeller, como já tivemos a oportunidade de proposito bem accentuar, particularmente insistem sobre a successão e dósés dessas injecções de anatoxina tetanica, dizendo mesmo que, para se alcançar um grau de immuidade satisfactoria, de nada vale, entre as primeiras injecções, encurtar o intervallo ou, então, variar-lhes as dósés, para mais ou para menos, e chegam a considerar tal necessidade como sendo **ineluctavel**.

Descombey, por sua vez, referindo-se á vaccinação do cavallo, deixa perceber e mesmo affirma que o espaço de tempo que deve ser collocado entre a primeira e a segunda injecção de anatoxina — é necessario que atinja, no minimo, a tres semanas, melhor sendo extendel-o até a um mez, sem o que não se consegue immuidade sufficientemente rica em anti-toxinas.

Ambos esses auctores, emfim, consideram que “é preciso, para crear uma immuidade anti-tetanica sufficiente, contar mais com o factor tempo, do que com a multiplicação das injecções ou accrescimo de volume das dósés de anatoxina”.

Ora, deante de taes affirmações, no caso que nos occupa, porém, seria impossivel em tão pouco tempo conseguir sôro anti-tetanico capaz de preencher as exigencias requeridas pela therapeutica.

Visando, entretanto, indagar, por intermedio da experimentação, se dósés elevadas de anatoxina tetanica, mas injectadas repartidas em dósés menores e

pouco espaçadas, não seriam capazes de dotar o sôro sanguineo com um elevado valôr anti-toxico — o Professor Pereira Filho, com a capacidade scientifica que o distingue e, desde cêdo, o collocou á vanguarda dos progressos da sciencia, á qual exclusivamente se dedica — imprimiu a essas injecções um rythmo inteiramente original, não lembrado pelos demais auctores.

Na parte correspondente ás observações descrevemos, com todo cuidado, essa nova technica vaccinante.

Note-se, então, o curto intervallo deixado entre uma e outra das injecções, o maior delles attingindo apenas ao espaço de cinco dias, succedendo-se, o mais das vezes, unicamente com um ou dois dias intercalados.

Em seguida, considere-se bem a quantidade de antigeno empregada em cada uma das injecções, correspondendo na somma total, para cada um dos tres cavallos, respectivamente a 66 cc., 66 cc. e 54 cc., e sendo que dois desses animaes foram injectados exclusivamente por via intra-venosa, o que abona, igualmente, a completa innocuidade offerecida por esse importante antigeno.

Aprecie-se o valor anti-toxico dos sôros assim tratados de maneira perfeitamente contraditoria ás affirmações já alludidas; pondere-se, tambem, que as dosagens foram effectuadas sómente mezes após.

E, por fim, ter-se-á avaliado a completa e innegavel efficacia do processo immunizante seguido por este eminente cientista.

Entretanto, talvez se objecte que as dosagens foram realizadas sómente mezes após a vaccinação; em verdade, tal objecção terá unicamente por effeito elevar mais ainda a importancia desse methodo. Porque, como muito bem demonstra a experimentação classica, a quantidade de anti-corpos, creados por immunização activa, augmenta nos primeiros dias que decorrem após as injecções preparatorias, attinge um nivel maximo, estaciona e depois lentamente decresce.

Ora, nesse caso, está bem evidente que, se quatro mezes após o processo immunizante, esses animaes possuíam um sôro de valôr anti-toxico ainda sufficientemente elevado — com muito mais razão, comprehendese, tal valor anti-toxico, dias após as injeccões, forçosamente offerceria um titulo muito superior áquelle revelado nas dosagens por nós effectuadas.

Por isso, o Professor Pereira Filho pretendia sangrar esses animaes, decorridos mais ou menos 15 dias após a primeira injeccão vaccinante, e, forçosamente, assim procedendo contribuiria já com um sôro de valôr immunizante perfeitamente capaz de offerecer e desempenhar grandes vantagens praticas, nessa occasião, mais do que nunca, revestindo um apreço inestimavel.

Porém, como em 24 de Outubro a deposição do então governo veiu pôr termo ás hostilidades, essa urgencia de medicamentos naturalmente desapareceu e, tambem, o sôro anti-tetânico cessou de ser tão necessario.

Não poderíamos, entretanto, deixar de aproveitar para a parte pratica desta these esses cavallos assim já injectados.

E, graças á benevolencia e bondade tão peculiares a esse nosso illustre Professor, é que conseguimos relatar as originaes observações que em seguida passamos a descrever.

OBSERVAÇÕES

OBSERVAÇÃO I

Utilizou-se um cavallo de pello doiradilho (vermelho claro) e com tres annos de idade, approximativamente.

Esse animal recebeu, por via intra-venosa, a primeira injectão de anatoxina tetanica na quantidade de 2 cc., em 12 de Outubro ultimo.

As demais injectões vaccinantes seguiram-se, sempre intra-venosamente, nos dias e quantidade seguintes:

dia 13.....	2 cc.
dia 14.....	2 cc.
dia 15.....	10 cc.
dia 16.....	10 cc.
dia 17.....	10 cc.
dia 22.....	10 cc.
dia 27.....	10 cc.
dia 28.....	10 cc.

Assim, em 17 dias, foram effectuadas, nesse animal, nove injectões de anatoxina tetanica, equivalentes a um total de 66 cc., injectados exclusivamente por via intra-venosa.

Deve-se bem salientar que, nesse periodo das injecções e assim como nos dias que dahi decorreram, o animal, absolutamente, nada apresentou que pudesse ser ligado á idéa de possivel nocividade desse novo producto vaccinante.

Pois, a despeito de tudo, quer diminuição de peso, perda de appetite, augmento de temperatura, reacções locais, etc. — nada disso se constatou, apesar de se ter, cuidadosamente, pesquisado taes manifestações.

No dia 10 de Março do corrente anno, isto é, approximativa cinco mezes após a data da vaccinação, esse animal foi por nós sangrado, por punção aseptica na veia jugular externa, tendo-se, então, colhido 60 cc. de sangue que foi, em seguida, collocado na estufa á 37 graus, afim de se deixar collectar o sôro.

Em 12 desse mesmo mez, procedeu-se a dosagem desse sôro, empregando-se para isso o methodo da flocculação e utilizando-se nesta reacção a anatoxina tetanica que nos fôra enviada pelo Instituto Pasteur de Paris.

Ao mesmo tempo, a titulo de contrôle, effectuou-se identica reacção de flocculação por essa mesma anatoxina, utilizando-se, porém, um sôro anti-tetanico de valôr anti-toxico conhecido, sendo, então, empregado o do Instituto Behring.

Em ambas as dosagens, empregou-se 0,5 cc. de anatoxina tetanica, e as diluições dos sôros nagua physiologica, tanto o do Instituto Behring como o do cavallo em questão, foram effectuadas conforme indicam os schemas A e C.

Em seguida, collocámos as estantes na estufa á temperatura de 37 graus, e acompanhámos, então, a marcha das reacções.

Tanto numa, como noutra das estantes, a primeira flocculação surgiu em misturas differentes. Assim, com o sôro desse cavallo, ella primeiro appareceu no tubo

1.º 7, e, com o sôro do Instituto Behring, essa floculação a principio evidenciou-se no tubo n.º 3.

E, nas horas que seguiram, a floculação continuou a apparecer nitidamente em alguns dos demais tubos: nuns, com bastante nitidez, noutros, com menos, sendo que em alguns não houve floculação.

Finalmente, depois de uma permanencia de 48 horas na estufa, para melhor accentuar a floculação, considerámos, porém, como terminada a reacção.

Constatámos, entretanto, que, com o primeiro desses sôros, a floculação surgiu nos seguintes tubos: 1-2-3-4-5-6-7 (floculou em primeiro lugar) 8-9 e 10.

Por sua vez, com o sôro Behring, ella surgiu nos tubos: 1-2-3 (floculou em primeiro lugar) 5-6-8-9 e 10; sendo negativa naquelles numeros 4 e 7.

Para melhor clareza, comparativamente, indicamos a intensidade e a negatividade dessas floculações, assim deste modo:

Sôro n.º 1 (cavallo doiradillo)				Sôro n.º 2 (Instituto Behring)			
Tubo n.º 1	+	+	+	Tubo n.º 1	+	+	
Tubo n.º 2	+	+	+	Tubo n.º 2	+	+	
Tubo n.º 3	+	+	+	Tubo n.º 3	+	+	+
Tubo n.º 4	+	+	+	Tubo n.º 4	0		
Tubo n.º 5	+	+	+	Tubo n.º 5	+		
Tubo n.º 6	+	+		Tubo n.º 6	+		
Tubo n.º 7	+	+	+	Tubo n.º 7	0		
Tubo n.º 8	+	+		Tubo n.º 8	+		
Tubo n.º 9	+	+	+	Tubo n.º 9	+		
Tubo n.º 10	+	+		Tubo n.º 10	+	+	+

Com esse mesmo intuito, nos schemas A e C, procuramos representar a intensidade da floculação nesses tubos: a côr preta indica floculação intensa, e as gradações desta côr procuram indicar a maior ou menor intensidade da reacção, sendo que os tubos em branco representam ausencia de floculação.

Assim, percebe-se que, para o primeiro desses sôros, essa reacção surgiu em todos os tubos, sendo, porém, mais nitidamente positiva naquelles contendo as seguintes diluições:

Tubo n.º 2:	diluição de sôro a	$\frac{1}{40}$	+	0,5 cc. de anatoxina
" " 4:	" " " "	$\frac{1}{160}$	+	0,5 " " "
" " 5:	" " " "	$\frac{1}{320}$	+	0,5 " " "
" " 7:	" " " "	$\frac{1}{1280}$	+	0,5 " " "
" " 9:	" " " "	$\frac{1}{5120}$	+	0,5 " " "

Com o Sôro Behring, observámos essa mesma intensidade apenas nos seguintes tubos:

Tubo n.º 3:	diluição de sôro a	$\frac{1}{80}$	+	0,5 cc. de anatoxina tetanica
" " 10:	" " " "	$\frac{1}{10240}$	+	0,5 " " "

El sendo negativa ou fraca nos demais tubos.

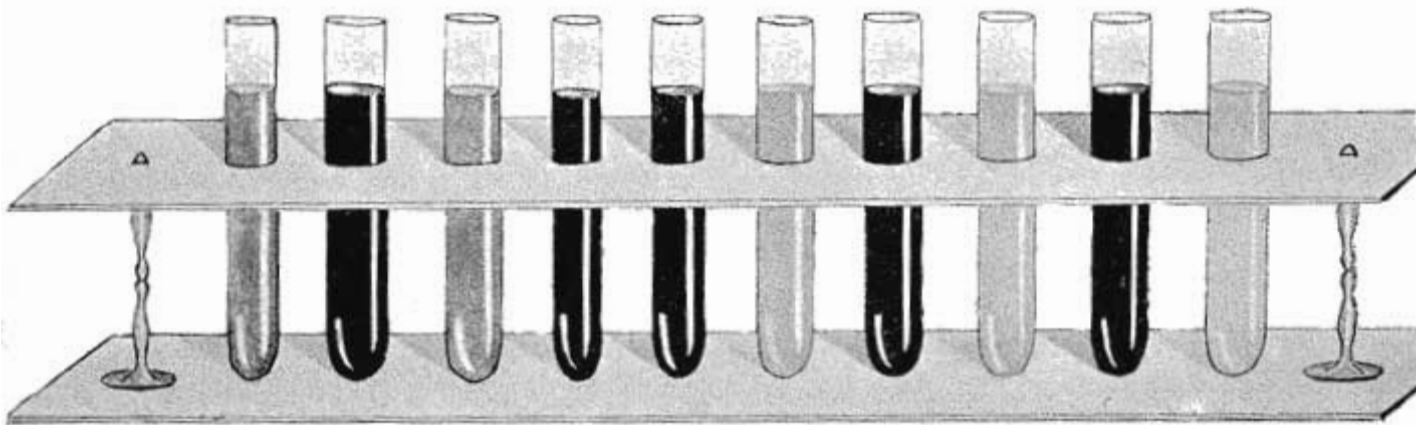
Portanto, se tomarmos em conta o valôr da reacção de floculação, claramente se percebe que o sôro desse cavallo vaccinado floculou de maneira muito mais intensa, que aquella obtida com o sôro Behring.

SCHEMA A

OBSERVAÇÃO I

FLOCULAÇÃO COM O SORO TRATADO PELA ANATOXINA TETANICA

(CAVALLO DOIRADILHO)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

SORO ANTI-TETANICO

1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	80	160	320	640	1.280	2.560	5.120	10.240

ANATOXINA TETANICA

0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

(Desenho do auctor)

Ora, o poder anti-toxico deste sôro padrão, por nós empregado, equivale a ~~20~~ 20 unidades americanas por centimetro cubico de sôro, oficialmente contrôlado "in vivo" pelo Instituto Experimental de Francfort s/M.

Assim sendo, comparativamente á reacção de flocculação apresentada por ambos esses sôros, pôde-se concluir que o primeiro, isto é, o do cavallo doiradilho, possui um valôr anti-toxico sensivelmente superior áquelle apresentado pelo segundo, o do Instituto Behring.

OBSERVAÇÃO II

Para esta observação, aproveitámos a vacinação de um cavallo de pelio tordilho sabino, regulando ter, mais ou menos, tres annos e meio de idade.

Esse animal recebeu, por via sub-cutanea, a primeira injecção de anatoxina tetanica na quantidade de 2 cc., tambem no dia 12 de Outubro ultimo.

E, as demais injecções desse antigeno, obedeceram ás quantidades e dias, do mesmo modo que para o cavallo precedente, porém effectuadas sempre sub-cutaneamente, conforme indicamos:

dia 13 de Outubro	2 cc.
dia 14 " "	2 cc.
dia 15 " "	10 cc.
dia 16 " "	10 cc.
dia 17 " "	10 cc.
dia 22 " "	10 cc.
dia 27 " "	10 cc.
dia 28 " "	10 cc.

Percebe-se que, tambem nesse animal, foram praticadas em 17 dias nove injecções de anatoxina tetanica,

formando um total de 66 cc., injectados por via subcutanea, e obedecendo todas essas injeções a curtos intervallos de tempo.

Apezar disso, nesse cavallo tambem, não se conseguiu apreciar sequer o minimo symptoma que permitisse affirmar nocividade desse producto vaccinante.

No dia 10 de Março do corrente anno, esse animal foi por nós sangrado, asepticamente, por punção da veia jugular externa, tendo-se colhido 100 cc. de sangue, o qual foi collocado, em seguida, na estufa á temperatura de 37 graus.

No mesmo dia em que effectuámos a dosagem do sôro do cavallo da observação I, isto é, em 12 desse mesmo mez, procedemos a apreciação do valôr anti-toxico do sôro desse cavallo tordilho, utilizando-se, igualmente, a floculação pela anatoxina tetanica.

Como contrôle, aproveitámos aquella floculação com o sôro anti-tetanico Behring, pois que, essas tres reacções foram realizadas no mesmo momento e, assim, este sôro serviu perfeitamente para comparar o valôr neutralizante do sôro de ambos esses cavallos em questão.

As diluições de sôro e a quantidade de anatoxina, misturadas em cada um dos tubos, acham-se indicadas no schema B. Essas misturas, aliás, são identicas áquellas dos schemas A e C, e assim desse mesmo modo procedemos na observação III.

Decorrida approximativamente uma hora de permanencia da estante na estufa á 37 graus, a floculação surgiu nitidamente e em primeiro lugar no tubo n.º 5

1

(contendo a mistura de — de sôro + 0,5 cc. de anatoxina).

320

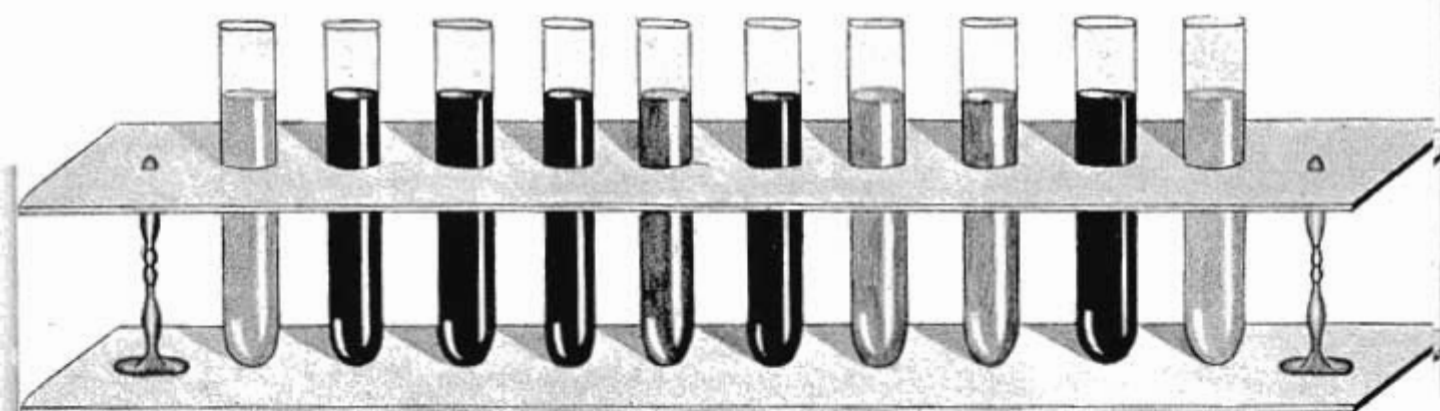
Pouco após, essa floculação começou a apparecer

SCHEMA B

OBSERVAÇÃO II

FLOCULAÇÃO COM O SORO TRATADO PELA ANATOXINA TETANICA

(CAVALLO TORDILHO)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

SORO ANTI-TETANICO

1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	80	160	320	640	1.280	2.560	5.120	10.240

ANATOXINA TETANICA

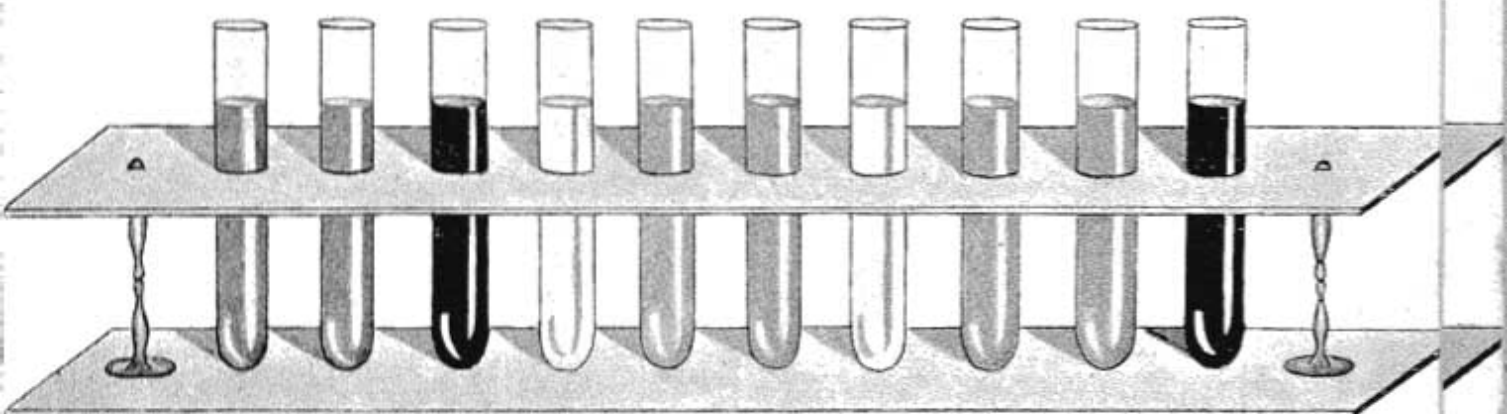
0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

(Desenho do auctor)

SCHEMA C

CONTRÔLE DAS OBSERVAÇÕES I E II

FLOCULAÇÃO COM O SORO ANTI-TETANICO DO INSTITUTO BEHRING



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

SORO ANTI-TETANICO

1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	80	160	320	640	1.280	2.560	5.120	10.240

ANATOXINA TETANICA

0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

(Desenho do auctor)

nos demais tubos, com a intensidade que abaixo indicamos, comparativamente a do sôro Behring.

Sôro n.º 3
(cavallo tordilho)

Sôro n.º 2
(Instituto Behring)

Tubo n.º 1	++	Tubo n.º 1	++
" " 2	++++	" " 2	++
" " 3	++++	" " 3	++++
" " 4	++++	" " 4	0
" " 5	+++	" " 5	+
" " 6	++++	" " 6	+
" " 7	+	" " 7	0
" " 8	+	" " 8	+
" " 9	++++	" " 9	+
" " 10	+	" " 10	++++

Compare-se, igualmente, os schemas B e C.

A estante permaneceu na estufa ainda por 48 horas, decorridas as quaes considerámos a reacção terminada.

Então, observando-se bem a intensidade da flocculação nesses dez tubos, notámos que ella em todos se mostrou e sendo assáz nitida nos seguintes:

Tubo n.º 2:	diluição de sôro a	$\frac{1}{40}$	+ 0,5 cc. de anatoxina tetanica				
" " 3:	" " " "	$\frac{1}{80}$	+ 0,5 " " "	"	"	"	"
" " 4:	" " " "	$\frac{1}{160}$	+ 0,5 " " "	"	"	"	"
" " 6:	" " " "	$\frac{1}{640}$	+ 0,5 " " "	"	"	"	"
" " 9:	" " " "	$\frac{1}{5120}$	+ 0,5 " " "	"	"	"	"

Com o sôro Behring, vimos, essa reacção não se realizou de maneira tão intensa nessas mesmas condições.

E, como já se conhece o valôr anti-toxico deste sôro, facil se torna imaginar que o sôro desse cavallo tordilho demonstra, nessas condições de experimentação "in vitro", possuir um valôr immunizante mais elevado que aquelle exteriorizado pelo sôro padrão.

OBSERVAÇÃO III

Serviu-nos, para esta observação, a vacinação de um **cavallo de pello negro**, cuja idade oscillando entre tres a quatro annos.

No dia 18 de Outubro ultimo, esse animal recebeu uma dóse de 2 cc. de anatoxina tetanica, por **via intra-venosa**.

Sempre **intra-venosamente**, as demais injecções vaccinantes seguiram-se a curtos intervallos, conforme abaixo indicamos:

dia 20 de Outubro	2 cc.
dia 21 " "	2 cc.
dia 22 " "	10 cc.
dia 23 " "	10 cc.
dia 25 " "	10 cc.
dia 30 " "	10 cc.
dia 31 " "	10 cc.

Ao todo, oito injecções de anatoxina tetanica, representando um total de 56 cc., injectados exclusiva-

mente por via endovenosa, no espaço de duas semanas apenas.

Do mesmo modo que para os cavallos precedentes, essas injeções de anatoxina mostraram-se, tambem nesse cavallo, completamente destituídas de toda e qualquer toxicidade, pois o animal continuou a portar-se de maneira perfeitamente identica áquella anterior ás injeções vaccinantes.

Em 16 de Fevereiro ultimo, isto é, approximativamente quatro mezes após, esse animal foi por nós sangrado, do modo que já indicámos para ambos os outros cavallos, tendo-se colhido, então, 60 cc. de sangue, immediatamente levado para a estufa á temperatura de 37 graus.

E, no dia 18 desse mesmo mez, procedeu-se a dosagem desse sôro, empregando-se, tambem, para isso o methodo da floculação "in vitro".

Afim de se contrôlar os resultados, ao mesmo tempo effectuou-se identica reacção de floculação, utilizando-se, porém, um sôro anti-tetânico do Instituto Pasteur de Paris, offerecendo um valôr anti-toxico conhecido e avaliado por experimentação "in vivo".

As misturas foram effectuadas, conforme indicam os schemas D e E.

Apreciámos que, depois de uma curta permanencia na estufa á 37 graus, em questão apenas de minutos, tanto numa como noutra das estantes, a mistura contida nos tubos n.º 3 floculou em primeiro lugar. E, á medida que as horas se succediam, a floculação foi, tambem, surgindo nitidamente nos demais tubos, sendo, entretanto, que em alguns não houve essa floculação, como muito bem se percebe:

Sôro n.º 4
(cavallo negro)

Tubo n.º 1	++++
" " 2	+++
" " 3	+++
" " 4	0
" " 5	++++
" " 6	+++
" " 7	0
" " 8	+++
" " 9	++
" " 10	++++

Sôro n.º 5
(Instituto Pasteur)

Tubo n.º 1	++++
" " 2	+++
" " 3	+++
" " 4	0
" " 5	++++
" " 6	+++
" " 7	0
" " 8	+++
" " 9	+++
" " 10	++++

Finalmente, passadas que foram 48 horas de permanencia das estantes na estufa, nessa temperatura, considerámos, então, como terminada a reacção.

Interpretemos, agora, o valôr immunizante do sôro desse cavallo.

Se compararmos, porém, a intensidade da floclulação realizada com ambos esses sôros, vemos perfeitamente que as seguintes misturas, tanto numa como noutra das estantes, flocluraram na mesma intensidade:

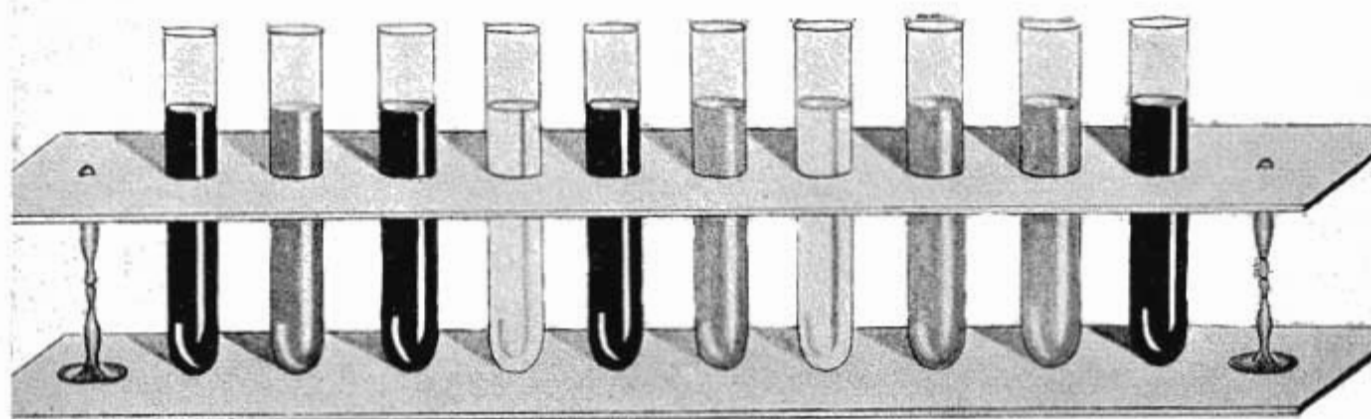
Tubo n.º 1:	diluição de sôro a	$\frac{1}{20}$	+ 0,5 cc. de anatoxina
" " 2:	" " " "	$\frac{1}{40}$	+ 0,5 " " "
" " 3:	" " " "	$\frac{1}{80}$	+ 0,5 " " "
" " 5:	" " " "	$\frac{1}{320}$	+ 0,5 " " "
" " 6:	" " " "	$\frac{1}{640}$	+ 0,5 " " "

SCHEMA D

OBSERVAÇÃO III

FLOCULAÇÃO COM O SORO TRATADO PELA ANATOXINA TETANICA

(CAVALLO NEGRO)



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

SORO ANTI-TETANICO

1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	80	160	320	640	1.280	2.560	5.120	10.240

ANATOXINA TETANICA

0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

(Desenho do auctor)

Tubo n.º 8: diluição de sôro a $\frac{1}{2560}$ + 0,5 cc. de anatoxina

" " 10: " " " " $\frac{1}{10240}$ + 0,5 " " "

Sendo, porém, negativa nos tubos ns. 4 e 7, contendo, respectivamente, num:

diluição de sôro a $\frac{1}{160}$ + 0,5 cc. de anatoxina tetânica;

e, noutro:

diluição de sôro a $\frac{1}{1280}$ + 0,5 cc. de anatoxina tetânica.

Digamos, entretanto, que o sôro utilizado como contrôle desta observação, isto é, o preparado pelo Instituto Pasteur, possui um valôr anti-toxico conhecido: equivalente a 5000 unidades internacionaes, o que quer dizer que um centimetro cubico de uma diluição desse sôro a 1:5000, neutraliza 100 dóses mortaes de toxina tetânica, **injectadas no cobaio**, conforme a experimentação classica.

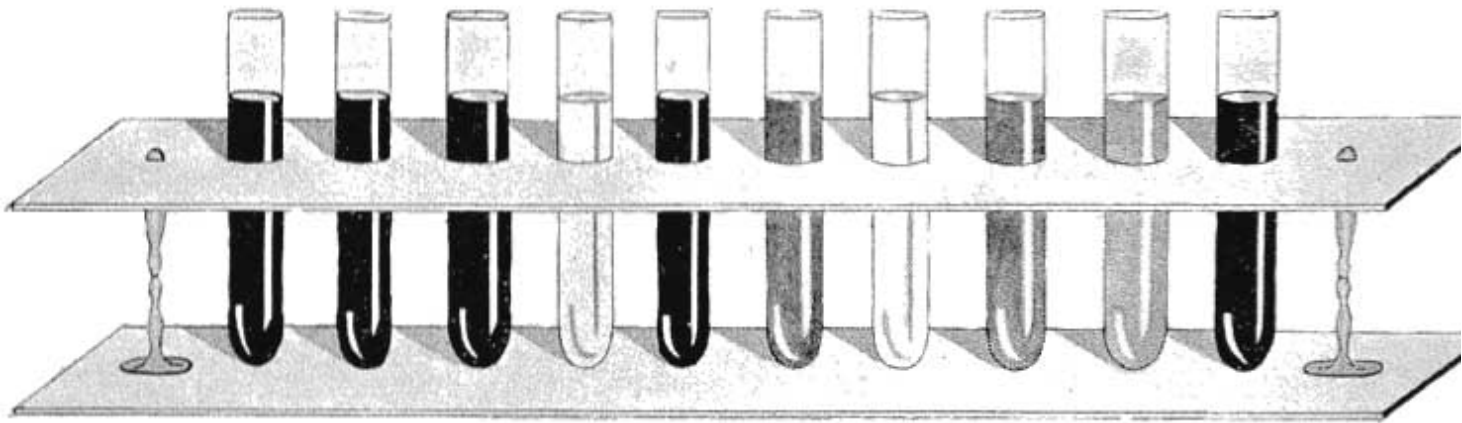
Ora, não necessitamos, dizer, e isso porque até aqui já devemos ter percebido, que ambos esses sôros, tanto o do Instituto Pasteur como o desse cavallo em questão, possuem, deante da identidade da flocculação "in vitro", poder anti-toxico perfeitamente equivalente: flocculação forte em tubos correspondentes, fraca em identicas condições, e negativa nas mesmas diluições.

Portanto, o processo de immunização a que se submetteu esse cavallo realmente teve por successo o estabelecimento de uma immunidade bastante satisfactoria, traduzindo a efficacia desse methodo vaccinante.

S C H E M A E

CONTRÔLE DA OBSERVAÇÃO III

FLOCULAÇÃO COM O SÔRO ANTI-TETANICO DO INSTITUTO PASTEUR



1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

SÔRO ANTI-TETANICO

1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20	40	80	160	320	640	1.280	2.560	5.120	10.240

ANATOXINA TETANICA

0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.	0,5 cc.
---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

(Desenho do auctor)

CONCLUSÕES

Durante a realização deste trabalho, compulsámos, para aquisição de um conhecimento mais amplo, o maior numero possível de dados bibliographicos que estivessem ao nosso alcance, referentes ás Anatoxinas. E, naturalmente, no decorrer desses estudos surgiram-nos não poucas conclusões, appoiadas todas sobre affirmações traçadas por auctores edoneos no assumpto.

Longe iriamos então, se tal objectivássemos.

Resolvemos, por isso, ser mais sobrios e, tambem, mais logicos nesse ponto, architectando-as sobre base fornecida pela parte experimental que tivemos a oppor-tunidade de bem observar.

Portanto, considerando-se a innegavel importancia que o factor "anatoxina" actualmente occupa em vacci-notherapia, e appoiados em nossas observações, na ver-dade poucas em numero, porém grandes na significação dos efeitos que relatam — concluimos que:

1.º

A anatoxina tetanica, apesar de ser originaria de um producto de alta toxidade, é, no emtanto, absoluta-mente destituida de toda e qualquer nocividade.

2.º

As injeções de anatoxina tetanica não se fazem acompanhar de reacções prejudiciaes, quer locaes ou

geraes, o que, em pratica, offerece uma importancia toda capital, tornando assáz commodo o emprego desse antigeno.

3.º

Mesmo quando a anatoxina tetanica é levada directamente ao contacto da corrente sanguinea, por injectão intra-venosa, a acção desse antigeno prima pela completa innocuidade.

4.ª

Tanto por via sub-cutanea, como pela intra-venosa, a anatoxina tetanica póde ser perfeitamente injectada em dóses elevadas e obedecendo a curtos intervallos de tempo, sem que symptomas prejudiciaes venham negar a valiosa atoxidade desse novo producto vaccicante.

5.º

A acção da anatoxina tetanica é rigorosamente especifica: ella determina o apparecimento e desenvolvimento, no sôro sanguineo, de anti-toxinas correspondentes, creando, assim, immunnidade anti-toxica activa capaz de collocar o organismo em excepçionaes condições de defeza.

6.º

A immunnidade activa creada pela anatoxina tetanica é bastante duravel, pois exige um tempo assáz longo para que a persistencia de seus effeitos immunnizantes cesse de ser apreciavel.

7.º

A anatoxina tetanica, por suas qualidades caracteristicas e basicas, pôde substituir, com muitas vantagens, a toxina correspondente na preparação do sôro anti-tetânico para usos therapeuticos.

8.º

A reacção de flocculação, quando bem executada e criteriosamente interpretada na significação de seus resultados, permite apreciar "in vitro" o valôr em anti-corpos de qualquer sôro anti-tetânico.

9.º

O methodo empregado: utilizando doses elevadas de anatoxina tetanica, porém repartidas em doses menores e injectadas a curtos intervallos de tempo — permite preparar, de um modo rapido, sôro anti-tetânico capaz de satisfazer todas as exigencias requeridas pela pratica.

Constitue, pois, um processo de elevada efficacia immunizante.

10.º

A nossa experimentação permite afirmar que a anatoxina tetanica é um antigeno completamente innocuo e altamente efficaz na immunização activa, tornando o preparo do sôro anti-tetânico de uma simplicidade verdadeiramente notavel.

11.º

Emfim, numa synthese geral, abrangendo estas e as demais vantagens offercidas por esse novo producto vaccinante, conclue-se que a anatoxina tetanica representada, actualmente, a vaccina ideal para a immunização activa contra o tetano.

BIBLIOGRAPHIA

- Abbert Berthelot, G. Ramon e Melle. Amoureux — "Etude des facteurs qui influencent l'élaboration de la toxine tétanique et la transformation spontanée en anatoxine." Ann. de l'Inst. Pasteur — Tome XLI — 1927.
- Abt e Mlle. Erbert — "Sur le titrage des anatoxines et des toxines tétaniques par la floculation." An. de l'Inst. Pasteur — Tome XL — 1926.
- Basilio Fontes — "Vaccinação pela anatoxina diphtérica." These — 1930.
- Behring e Kitazato — "Deustch, medicin Wochentchrift." Décembre 1890.
- Biernacki — "La titulagem des sérums anti-méningococcique par le méthode de la floculation." Soc. Biologie — Tome XCVI — 1927.
- Broca, Lieur, Walther e Souignoux — "Tétanos post-opératoire." Soc. de Chirurgie — 7 mai 1919.
- Calmette, Nègre e Boquet — "Manuel Technique de Microbiologie et Sérologie." 10.^e édition — 1926.
- Claude e Ihermitte — "Le tétanos fruste à evolution lente et à incubation prolongée." Pres. Médical — 14 Octobre 1915.
- Collet — "Précis de Pathologie Interne." Tome II — 1925.
- Descombey — "Sur la vaccination du cobaye contre le tétanos par l'injection intra-cérébrale d'anatoxine tétanique." Ann. de l'Inst. Pasteur — Tome XLIII — 1929.
- Descombey e Louis Martin — "Sur la vaccinaion anti-tétanique du cheval — Durée de l'immunité." Soc. Biologie — Tome XCIV — 1926.
- Dopter e Sacquépée — "Précis de Bacteriologie." 12.^e édition — 1921.

- Faure e Beauhieu — "À propos de la sérothérapie anti-tétanique."
Pres. Médical — 7 décembre 1929.
- Fiessinger e Walter — Journal Méd. Français — Tome XVI — N.º 9.
Grasset — "Thérapeutique Générale." Tome II.
— "Essais de vaccination intracutanée chez le cobaye par l'anatoxine tétanique."
Soc. Biologie — Tome XCVI 1927.
- Grimberg e Uzan — "La Biothérapie non espezifique de la Blennorrhagie."
Bulletin Médical.
- Hartley — "The antigenic properties of precipitates produced by the interaction of diphtheria toxin and anti-toxin."
Brit. Journ. Exp. Path. — Tome VII — 1926.
- Henri Vallée e L. Bazy — "Vaccination active contre le tétanos."
Journ. des Praticiens — 15 Mars. 1919.
- Horalek — "Resultats de la vaccinothérapie dans les inflammations des organes génito-urinaires et surtout des annexes."
Bratislavské Lekarsky Listy — Mai 1925.
- Jaubert — "Vaccinothérapie dans la Blennorrhagie aigue."
Sc. Médicales — 30 septembre 1926.
- Lereboullet e Gourmay — "L'observation de diphteries chez l'anciens vaccinés est absolument exceptionnelle."
Soc. Pédiatrie — 19 novembre 1929.
- Louis (G). — "Traité de Blennorrhagie et ses applications."
Louis Martin, G. Loiseau e Lafaille — "Contrôle de l'immunisation anti-diphtérique."
Ac. de Médecine — 18 Mars 1930.
- Marchand — "Anatoxi-réaction de Zoeller dans la diphterie."
Thèse — Paris 1925.
- Nattan-LARRIER, Ramon e Grasset — "De l'immunité anti-tétanique chez le nouveau-né."
Ac. des Sciences — Tome CLXXIII — 1926.
— "Recherches sur le passage des toxines et des antitoxines à travers la placenta."
Soc. Biologie — Tome XCVI — 1927.
- Nechtchadimenko — "L'action preventive de l'anatoxine diphtérique vis-à-vis de l'infection diphtérique par la trachée chez l'animal d'expériences."
Soc. de Biologie — Tome XCVI — 1927.
- Ramon — "La nature de l'anatoxine tétanique."
Soc. Biologie 25 mai 1925.
— "Sur la spécialité et la signification du phénomène de

floculation dans les mélanges toxine — antitoxine diphtériques.”

Soc. Biologie — Tome XCVII — 1927.

Ramon, Berthelot, Grasset e Mlle. Amoureux — “Production d'anatoxime tétanique par culture tétanique en bouillon bilté.”

Soc. Biologie — Tome LXCVI — 1927.

Ramon e Debré — “Valeur et durée de l'immunité conférée par l'anatoxine diphtérique.”

Monde Médical — 15 avril 1930 — n.° 768.

Ramon e Descombey — “Sur l'immunisation anti-tétanique et sur la production de l'anti-toxine tétanique.”

Soc. Biologie — Tome XCLII — 1925.

— “Sur l'appréciation de la valeur antigène de la toxine et de l'anatoxine par le méthode de floculation.”

Soc. Biologie — Tome XCV — 1926.

Ramon, Debré, Mozar e Mlle. Pichon — “Valeur et durée de l'immunité conférée par l'anatoxine diphtérique.”

Ac. de Médecine — 25 février 1930.

Ramon e Grasset — “Recherches sur le passage des toxines, des anatoxines et des anti-toxines à travers les parois du digestif.”

Ann. de l'Inst. Pasteur — 1927.

— “La réaction de floculation et la dosage du pouvoir antitoxique du serum anti-diphtérique purifié.”

Ramon e Laffaille — “Existe-t-il une immunité occulte a l'égard de l'infection tétanique?”

Soc. Biologie — Tome XCVI — 1927.

Ramon e Zoeller — “Essai d'immunisation anti-toxique active et passive par voie buccale, chez l'homme.”

Soc. Biologie — Tome XCV 1926.

— “De l'immunisation anti-toxine par voie nasale dans l'homme et du mécanisme de l'immunité occultée.”

Soc. Biologie — Tome XCVI — 1927.

— “Réflexes conditionnels et immunité anti-toxique.”

Soc. Biologie — Tome CXXIX.

— “Nouveaux résultats concernant la vaccination de l'homme contre le tétanos.”

Soc. Biologie — CXXXVII — 1929.

— “La pratique de l'immunisation par l'anatoxine tétanique.”

Bull. et Mem. de la Soc. Méd. des Hos. de Paris — 12 novembre 1926 — n.° 34.

— “Les acquisitions théoriques et pratiques dues à l'anatoxine tétanique.”

Paris Médical — 4 décembre 1926.

- "La flocculation dans les mélanges antigène diphtérique serum humain, et l'appréciation de l'immunité anti-diphthérique chez l'homme."
- Soc. Biologie — Tome XCVIX — 1927.
- Redlich e Ronchi — "La reazione alla anatossina diphterica secondo Zoeller nei bambini sani e malati."
- Pediatria — Tome XXXIII — 1925.
- Roger Vidal-Teissier — "Nouveau Traité de Médecine." Fasc. II — 2.^e édition — 1928.
- Rosenan e Bacley — Diphteria immunity. Effect of repeated injections of avirulent diphteria bacilli, B. Hofmani and B. Xerosis, in guinea-pigs."
- Jour. Inf. Dis. — Tome XXXVII — 1925.
- Roux e Borrel — Ann. de l'Inst. Pasteur — 1829.
- Roux e Vaillard — "Sérotherapie preventive."
- Ann. de l'Inst. Pasteur — 1893.
- Schmidt — "Vitesse de flocculation et vitesse de neutralisation du serum anti-tétanique vis-à-vis de la toxine tétanique."
- Ac. des Sciences — Tome CLXXXIV — 1927.
- "Sur l'emploi de l'anatoxine et du tapioca dans l'immunisation."
- Ac. des Sciences — Tome CLXXXIX — 1927.
- Seligmann — "Duetsch. Med. Woch." 1929.
- Terrien — "La diphterie chez les enfants vaccinés."
- Soc. Pédiatrie — 18 mars 1930.
- Zoeller e Decamps — "La fixation du complément chez les sujets vaccinés par l'anatoxine."
- Soc. Biologie — Tome XCV — 1926.
- Wilhelm Bayer — "Ueber die aktive immunisierung gegen diphterie."
- Jakresber f. Kinderheilk. — Tome CV — 1925.

Accumulo de afazeres, varias preoccupações, um outro descuido involuntario em revêr as provas fornecidas pela typographia, tudo deu margem a que escapassem, no decorrer da composição deste trabalho, erros, mas erros comprehensíveis que dispensam perfeitamente a semsaboria de uma **errata**, quasi sempre desnecessaria ao leitor intelligente que, benevolo, os desculpará.