

“IMMUNIZAÇÃO PER OS”

ESTUDO SOBRE AS DIFFERENÇAS DE PODER
PATHOGENICO, TOXICO E IMMUNIZANTE DE 4 AMOSTRAS
DE B. DE SHIGA.

PELOS

DRS. PAULO MARREY E EDUARDO VAZ.

(Assistentes do Instituto de Butantan).

Uma vaccina requer sempre duas condições essenciaes: efficacia, o que equivale a alto poder immunizante, e innocuidade.

A segunda condição não foi bem preenchida, para a vaccina dysenterica, por via sub-dermica, dada a toxicidade do germe morto.

Por via buccal, no coelho, o inconveniente foi verificado. Grande numero succumbe no decurso da immunização, com manifestações e lesões dysentericas.

Se bem que, no homem, ainda não tenham sido registados phenomenos reaccionaes, seria util verificar o que um de nós (1, 2 e 3) deixára entrever em trabalhos anteriores: o encontro de uma amostra menos toxica e mais vaccinante, *per os*, que outras, capaz de immunizar contra a prova infectuosa com essas outras, ainda que mais activas.

Para trabalharmos, com segurança, estudamos 4 amostras de b. de Shiga, encontrando characteristics todas as suas reacções.

Pelo mesmo plano, em circumstancias analogas, procurámos estabelecer as relações entre os seus diversos poderes: pathogenico (germe vivo), toxico (germe morto) e immunizante (germe morto).

AMOSTRA 1, *provinda do Instituto Bacteriologico de S. Paulo, com a indicação original—Ficker, 1916.*

Alguns protocollos que testemunham a sua actividade.

Cultura em agar inclinado, de 24 hs., suspensa em soluto physiologico esteril.

(1) Vaz (E)—“Dysenteria e immunização anti-dysenterica por via buccal”—Arch. Inst. Vital Brazil, 1924, t. II, fasc. 2.º, p. 191.

(2) Vaz (E)—“Immunity local”—Dissertação inaugural.—Rio de Janeiro, 1924.—Typ. Rev. dos Tribunaes, p. 142, 143.

(3) Vaz (E)—“Immunity *per os* contra o b. de Shiga”—Contribuição ao estudo da natureza da immunity.—Mem. Inst. Butantan, 1925, t. II, fasc. unico, pag. 99.

Coelho 174 (1.200 grs.)—0,1 de tubo na veia.—2 dias após par. membros ants. Peso 1.060 grs. Morte.

Coelho—318 (1.400 grs.)—0,1 de tubo na veia. No dia subsequente, paralyasia e morte. Lesões intestinaes dysentericas, paralyasia vesical.

Coelho—199 (1.100 grs.)—0,2 de tubo sob a pelle. No dia seguinte—forte reacção local. Com 2 dias, installou-se paralyasia, seguida de morte. A' necropse—lesões intestinaes dysentericas e paralyasia vesical.

Coelho—145 (1.250 grs.)—0,5 de tubo pela bocca.—Com dois dias, paralyasia dos membros posteriores. Na noite do segundo para o terceiro dia, morte. Lesões intest. dys., par. vesical.

Podemos dizer que esta amostra mata coelho com symptomas e lesões dysentericas, nas doses de:

0,1 de tubo de cult. em agar inclinado, por via venosa, em média de 1 a 2 dias;

0,2, por via sub-dermica, em média—2 dias e meio.

0,5, per os, média—3 dias e meio.

Dessa amostra bem pathogenica, procurámos conhecer a toxicidade das culturas em agar, suspensas em soluto physiologico, mortas pelo calor de 60°, durante uma hora.

Coelho—115 (1.400 grs.)—0,5 tubo pela bocca. Na manhã do 3.º dia, paralyasia dos membros anteriores. A' tarde—morte—necropse—lesões intestinaes dysentericas e par. vesical.

Assim, nos ensaios de immunização, fomos prudentes, fraccionando e medindo bem as doses, a ver da possibilidade de evitar os phenomenos toxicos.

Coelho—270:—

A 12 V. 25, pesando 1.450 grs., recebe a 1.ª dose de 2 bilhões de germes.

A 14 V. 25, pesando 1.320 grs., recebe a 2.ª dose de 4 bilhões de germes.

A 16 V. 25, pesando 1.200 grs., recebe a 3.ª dose de 8 bilhões de germes.

A 18 V. 25, pesando 1.150 grs., recebe a 4.ª dose de 15 bilhões de germes.

Decorridos 15 dias da ultima ingestão, foi feita a prova de immunidade com 0,1 de tubo de germe vivo (amostra 7), na veia. Morte na noite do 3/4 dia. Necropse—focos hemorragicos no ceco, paralyasia vesical.

A diminuição progressiva e sensivel do peso do animal, no decurso da immunização, mostra que as doses foram fortes, intoxicando-o, diminuindo-lhe a resistencia geral. A inoculação de germe vivo veiu ainda engravescer o seu estado. A morte do animal, sem symptomas e sem as lesões bem cunhadas e caracteristicas da infecção, originava duas interpretações: ou diminuição de resistencia geral, effeito da intoxicação, ou falta de immunidade especifica.

Para deslindar, bastaria diminuir as doses de vaccina, afim de atenuar os effeitos toxicos. Se se obtivesse immunidade com estas

dóses menores, ficaria de pé, com maior razão, a hypothese da intoxicação, prevalecendo sobre a de falta de immunidadade.

Assim sendo, demos a ingerir a 4 coelhos, de 2 em 2 dias, 2-4-6 e 8 bilhões de cultura morta. Com 15 dias, próva identica á do coelho 270.

Nesse dia, verificámos ter havido perda de pezo:

Coelho 307 perdeu 267 grs.

Coelho 22 perdeu 225 grs.

Coelho 470 perdeu 246 grs.

Coelho 82 perdeu 82 grs.

Resultado—Sobrevivencia de todos.

CONCLUSÃO: —

A amostra n. 1 é bem pathogenica, é toxica, mas capaz de immunizar sem perigo, quando dada a ingerir em pequenas dóses, progressivamente crescentes, contra prova infectuosa parenteral com amostra heterologa, muito pathogenica.

AMOSTRA 2, provinda do Instituto Oswaldo Cruz, sem indicação de origem.

Poder pathogenico:

Coelho—230 (1.450 grs)—0,1 tubo na veia. No segundo dia, pela manhã, tetraplegia. A' tarde—mórte.

Coelho—492 (1.350 grs.)—egual—Mórte na noite do 2.º para o 3.º dia. Lesões intestinaes dysentericas, par. vesical.

Coelho—392 (1.300 grs.)—0,2 tubo sob a pelle—No dia seguinte, reacção local intensa. Com dois dias, paralysisia. Mórte na noite do 2.º para o 3.º dia. Lesões ints. dysentericas e paralysisia vesical.

Coelho—475 (1.450 grs.) 0,5 tubo pela bocca. Mórte do 3.º para o 4.º dia. Lesões muito caracteristicas de dysenteria: edema, hemorrhagia do grosso intestino, congestão do delgado, conteúdo liquido e bolhas de ar. Paralysisia vesical.

Resumo: —

0,1 — veia $\frac{1}{2}$ média 2 dias

0,5 — bocca $\frac{1}{2}$ média 3 dias

0,2 — pelle $\frac{1}{2}$ média 2 dias e meio.

Poder toxico da cultura morta:

Coelho—150 (1.450 grs.) — 0,5 tubo pela bocca. Nada de anormal. Séte dias após, nova inoculação, mas de 1 tubo,. Mórte sem manifestações da syndrome do 5.º para o 6.º dia.

Toxicidade pequena, no entanto, por prudencia, ensaiámos immunizar como com a amostra 1, isto é, 4 ingestões de 2-4-6 e 8 bilhões de 2 em 2 dias, tendo o cuidado de pesar sempre os coelhos (104, 9, 358 e 474).

De um apenas, houve perda sensível de peso (coelho 104) que succumbiu na noite do dia da inoculação de próva (0,1 Shiga 7 na veia). O coelho 9, no dia da 4.^a e ultima ingestão, amanheceu com par. m. posteriores, não recebendo a 4.^a dose. No dia subsequente—tetraplegia. A 26 (3 dias)—diarrhéa—A 27—melhor. A' noite—mórte—Necropse fócios hemorrhagicos no ceco e par. vesical. Os 2 outros (358 e 474) venceram a prova de immunidade.

CONCLUSÃO: —

A amostra n.º 2 é pathogenica, é toxica, immuniza, sendo inferior á amostra 1, que é menos toxica e mais immunizante, em doses fraccionadas.

AMOSTRA 7, da collecção de *B. dysenteriae*, Shiga, do Instituto de Butantan. Proveniencia—Inst. Vital Brazil. Ind. orig.—Fujimoto (Osaka, Japão) —Receb.—1922.

Poder pathogenico: —

Coelho—176 (1.500 grs.)—0,1 tubo — veia. Com 2 dias—par. m. ants. Na noite do 2.º para o 3.º — mórte.

Coelho—353 (1.430 grs.) igual—No dia seguinte—paralysia. Mórte na noite do 1.º para o 2.º dia—Lesões int. dys., par. vesical.

Coelho—475 (1.300 grs.)—0,2 tubo—Sub-derma — Em 24 hs. reacção local intensa. Em 2 dias—tetraplegia. Morte no 3.º. Lesões intestinaes dysentericas. Par. versical.

Coelho—277 (1.500 grs.)—0,5 tubo—per os. Sem symptomas, mórte do 2.º para o 3.º dia. Necropse—lesões intestinaes dysentericas e paralysia vesical.

EM RESUMO: —

0,1 na veia mata, em média em 2 dias.

0,2 sob a pelle mata, em média em 3 dias.

0,5 per os mata, em média em 2 dias e meio.

Com germe morto, esta mesma dose (0,5), por via buccal, matou em prazo maior (4 dias), mas com lesões características de intoxicacão dysenterica.

Em experiencia mais delicada, com doses fraccionadas e progressivamente crescentes, de 2 em 2 dias (2-4-8 e 15 bilhões), ainda se evidenciou a alta toxicidade desta amostra—mórte na noite da ultima ingestão.

Repetimos a experiencia, diminuindo as doses (2-4-6 e 8 bilhões) em mais quatro coelhos (334, 406, 29 e 61). Este ultimo morreu um dia antes da próva de immunidade. A prova foi feita com a amostra

homologa, 15 dias a contar da ultima ingestão, na dose mortal (em 2 dias) de 0,1 por via venosa.

O 334 resistiu 9 dias sem symptomas, quando se declarou tetraplegia e morte na noite do 9.º para o 10.º dia. O 406 sobreviveu.

O 29 morreu no 10.º dia, sem manifestação da syndrome.

CONCLUSÃO: —

Esta amostra é muito pathogenica, é bem toxica, immuniza. Se não houve sobrevivencia por espaço maior de tempo, não foi por falta de immunidade (sobrevivencia de 9 dias, em confronto com o testemunha que succumbe com o cortejo classico, dentro de 2 dias). Muito provavelmente a intoxicação foi o factor da morte. Immunidade houve.

AMOSTRA 8, provinda do Laboratorio Parke Dawis, com a indicação de amostra 651.

Poder pathogenico: —

O coelho 75 (1.270 grs.) com 0,1 de tubo na veia, em 2 dias—diarrhéa, tetraplegia, morte. Necropse, lesões intestinaes dysentericas.

O coelho 244 (1.450 grs.)—com 0,2 de tubo no sub derma, em 24 hs.—edema local. No 2.º dia, pela manhã—paralysis; á tarde—morte. Lesões intestinaes e paralysis vesical.

Coelho—244 (1.450 grs.)—0,5 tubo, *per os*, succumbe ao cabo de dois dias e meio, revelando a necropse as lesões classicas da dysenteria.

Poderes immunizante e toxico: —

Coelho—85 (1.750 grs.)—0,5 tubo (g. morto), por via buccal, no 3.º dia, pela manhã apresentou paralysis dos membros posteriores, vindo a succumbir á tarde. Lesões intestinaes dysentericas, enorme distensão vesical.

Fraccionando as doses, immunizámos um primeiro coelho (125) com ingestões de 2, 4, 8 e 15 bilhões. Houve mesmo augmento de peso (1.650 grs. no inicio da vaccinação, 1.750 no término). Próva de immunidade, com a amostra 7 (heterologa), por via venosa. Sobrevivencia.

Não obstante este animal haver supportado bem estas doses que foram fataes com as amostras 1 e 7, na serie seguinte, para o estudo comparativo do poder immunizante, abaixámo-las para 2-4-6 e 8 bilhões. Immunizamos, deste modo, os coelhos:

340 (1.925 grs), 490 (1.130 grs.), 34 (1.640 grs.) e 383 (1.555 grs.). O primeiro succumbe, sem symptomas, na noite da ultima inoculação. A' necropse—nada mais que poucos e pequenos focos hemorrhagicos no ceco. Os outros supportam bem a próva da immunidade, identica á do 125.

Assim, em resumo, esta amostra revelou-se bem pathogenica, não muito toxica e bem immunizante, mesmo contra amostra heterologa, bem pathogenica, por via parenterica.

Embóra já conhecida a acção do *b. dysenterico*, Shiga, amostra 7, na dóse e via empregadas nas próvas de immuniidade, fizemos mais um testemunha:

Coelho—10 (1.460 grs.)—0,1 de tubo, via venosa. No dia seguinte—tetraplegia e mórte. Edema do ceco, paralyisia vesical.

Pela severidade da próva, deduz-se a solidez da immuniidade que a vaccinação *per os* confere.

CONCLUSÕES: —

1.—Quanto ao *poder pathogenico*, seja a veia, o sub-derma ou a bocca a via empregada, não houve differença de nota de uma para outra amostra, em se levando em conta: dóses, symptomas, lesões e prazo lethal.

2.—Quanto á *toxicidade* das culturas, em agar, mortas pelo calor, dadas por via oral, as amostras 1 e 8 mostraram-se mais inoffensivas, mais propicias a uma vaccinação sem perigo. A 7—a mais toxica.

3.—Quanto ao *poder immunogenico*, em primeiro plano, apparecem as amostras 1 e 8, capazes de vaccinar contra amostra heterologa, de grande actividade, em próva infectuosa, por via venosa. Immuniidade segura e solida. A 7 immuniza bem. A falta de solidez observada, como já dissémos, possivel e razoavelmente, córre por conta da sua alta toxicidade.

4.—Dest'arte, dispõem-se em ordem de superioridade para a vaccinação segura e sem perigo, por via buccal, as amostra 1 e 8, 7 e 2.

Estas conclusões, tiradas do estudo do protocóllo das experiencias, levam a tecer algumas considerações.

Se no animal, póde verificar-se differença de uma amostra de germe para outra, quanto aos poderes vaccinante e toxico, é de supôr que as mesmas differenças se verifiquem para o homem, e dahi a necessidade de estudo das amostras a entrar no preparo da vaccina, destinada á prophylaxia especifica da dysenteria, por via oral.

De interesse ainda ha a considerar a possibilidade do divorcio entre toxicidade e poder immunogenico.

Finalmente, estas experiencias vieram resaltar o valôr do processo vaccinante e a possibilidade immediata, com base experimental, de passar-se, entre nós, á applicação ao homem, do unico processo exequivel de protegê-lo da infecção dysenterica, pela immuniidade activa.