

SENSIBILIDADE E IMMUNIDADE A' DIPHTERIA. SCHICK-TEST E KELLOGG-TEST.

PELO

DR. JOSE' LEMOS MONTEIRO

(Assistente do Instituto)

(Com a estampa 11)

REACÇÃO DE SCHICK

Com o fim de verificar a sensibilidade de um individuo ou seu grau de immuniidade em relação á diphteria, Schick (1913) estabeleceu a reacção cutanea, que recebeu o seu nome.

A reacção de Schick consiste na injeccção intra-dermica de uma pequena quantidade de toxina diphterica, que provocará uma zona inflamatória no ponto da inoculação, desde que não seja neutralizada pela anti-toxina porventura existente no organismo.

Está verificado que, se o individuo possui cerca de 1/30 de unidade anti-toxica em cada c. c. de sangue, porção capaz de lhe conferir um certo gráu de immuniidade contra a infecção, a dose de toxina diluida inoculada é neutralizada e não se notará reacção local; a reacção é *negativa*. Se, pelo contrario, a proporção de antitoxina não attinge 1/30 de u. a. ou não existe de todo, a pequena porção de toxina injectada provocará uma reacção inflamatória característica, consistindo em uma area avermelhada e endurecida que se manifesta até depois de 48 horas, a reacção é *positiva*.

A diluição de toxina diphterica que se inocula e que deve ser bem activa e estabilisada é feita de tal modo que em 0,1 c. c. ou 0,2 c. c. (quantidade a ser injectada) se contenha 1/50 de D. M. M. da toxina para uma cobaya de 250,0 grs. de peso.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS.

CAUSAS DE ERROS

A reacção de Schick é a prova de que se lançava, geralmente, mão afim de se verificar a susceptibilidade ou a immuniidade em relação a diphteria. Sobre ella se baseavam as estatisticas para dizerem sobre a efficacia ou não dos differentes methodos de vaccinação antidiphterica e seu emprego adquiriu grande voga, principalmente nos Estados Unidos da America do Norte.

Com a multiplicação do seu emprego e consequente estudo dessa reacção, foi-se verificando as suas falhas, suas causas de erros e, por isto, a falsidade dos resultados, muitas vezes, della decorrentes.

O preparo da diluição de toxina é delicado e deve ser feita na ocasião. Se fôr fornecida a diluição, esta se altera muito rapidamente de modo que, já no fim de alguns dias, não se injectará a dose que se tem em vista praticar, o que falseará o resultado.

Outros motivos de erros são as falsas reacções devidas as proteínas existentes no caldo de cultura usado para o preparo da toxina, embora estas reacções não perdurem, geralmente, depois das 48 horas.

Ainda como elementos que podem dar origem a interpretações erroneas da reacção é preciso assignalar a sensibilidade individual e a possibilidade de uma immuniidade local em relação a toxina diphtherica.

Recentemente, Wilfred H. Kellogg, n'um artigo publicado no American Journal of Public Health (N.º 10, Vol. XV—Oct. 1925), assignala as fontes de erros, oriundos de causas diversas, que falseiam os resultados da reacção de Schick e sua interpretação, concluindo que sua pratica deve ser abandonada.

Entre as causas de erros, o autor citado assignala os devidos a sensibilidade proteinica e que attingem a proporção de 50 %. As pseudo-reacções que lhe são devidas, muitas vezes perduram após ás 96 horas, da mesma fórma que as reacções verdadeiras podem desaparecer mais rapidamente.

Estuda a possibilidade de uma immuniidade local, tendo verificado differenças na reacção, n'um mesmo individuo, praticando-a em zonas differentes.

Assignala ainda como causas de erro, e apparecimento tardio da reacção, muitas vezes observado, a alteração da toxina, tendo verificado differenças de reacção usando a diluição de toxina de differentes laboratorios e outras de menor importancia.

Kellogg conclue, pela desnecessidade da pratica da reacção de Schick nos individuos desde que se achem em idade de maior receptividade em relação a diphtheria (abaixo de 9 annos cerca de 60 % são receptiveis, em menor idade esta proporção attinge a 80 %), os quaes devem sempre ser vaccinados, dispensando-se essa verificação anterior.

REACÇÃO DE KELLOGG

Se por qualquer motivo se desejar verificar a sensibilidade ou a immuniidade em relação a diphtheria, se recorrerá a methodos mais seguros, praticados no laboratorio, com animaes sensiveis, e isentos o mais possivel de causas de erros.

Diversos são os methodos pelos quaes se pode avaliar a proporção de antitoxina existente no sôro de um individuo.

Para a verificação da immuniidade ou sensibilidade em relação a diphtheria é sufficiente saber se no sôro do individuo considerado existe ou não 1/30 de u. a.

Com este fim, Kellogg (The Journal of American Medical Association, N.º 11, Vol. 80—1923), estabeleceu um methodo de dosagem que denomina *intra-cutaneous guinea-pig test*.

A reacção de Kellogg, como é geralmente conhecida, apresenta o desejavel rigor, sendo praticada no laboratorio, exigindo uma pequena quantidade de sangue do paciente (0,5 a 1 c. c.) que se obterá facilmente com uma punção venosa ou picada do lobulo da orelha.

O methodo intra-cutaneo de Kellogg, diremos em resumo, se baseia no facto já estabelecido de que a presença no sangue de 1/30 de u. a. protege o individuo contra a infecção diphtherica. E' esta a proporção, como vimos, que causa a reacção de Schick negativa.

O Kellogg-test consiste na injeção intradermica, em uma cobaya, branca de preferencia, de uma mistura em partes iguaes de sôro a se dosar e de uma diluição de toxina contendo 1/30 L + por c. c. Neste caso, se o sôro contiver 1/30 de u. a., 0,1 c. c. de sôro terá 1/300 de u. a., da mesma fórma 0,1 c. c. da diluição de L + terá 1/300 de L +. Os 0,2 c. c. da mistura é que se injecta intra-cutaneamente na cobaya.

A proporção de toxina livre inoculada provocará apenas vermihidão, sem necrose, na cobaya, se foi neutralisada em parte pela proporção correspondente de antitoxina existente no sôro, caso em que ha imunidade; a reacção é *negativa*.

Se apparecer necrose na cobaya, isto indicará que a proporção de antitoxina é menor de 1/30 de u. a., caso em que não ha imunidade; a reacção é *positiva*.

A reacção positiva se manifesta geralmente no 2.º e ás vezes no 3.º dia.

Para a pratica da reacção é necessario conhecer-se com exactidão o L + da toxina que se váe empregar. Mostraremos os resultados que obtivemos com a nossa toxina padrão 7, bem estabilisada pela permanencia por mais de um anno no *frigo* e a technica da reacção de Kellogg.

O L + da toxina 7, determinado com o sôro padrão americano distribuido pelo Public Health Laboratory, de Washington, para a cobaya de 250,0 grs. de peso é de 0,32 c. c.

Junta-se glicerina pura neutra para se fazer com que o volume do L + determinado seja contido em 1 c. c. da mistura glicerinada.

A mistura é conservada no *frigo* e prompta para ser usada em qualquer occasião.

Para isto dilue-se 0,5 c. c. da solução glicerinada do L + com 14,5 c. c. de agua physiologica.

1 c. c. da diluição terá 1/30 do L +; e

0,1 c. c. da diluição terá 1/300 do L +.

TECHNICA DA REACÇÃO:

Toma-se a mesma proporção de sôro a verificar e da diluição do L + (0,1 ou 0,2 c. c., por exemplo).

Colloca-se em um tubo apropriado para a dosagem, mistura-se por agitação e deixa-se em contacto durante 1/2 hora, na temperatura do laboratorio.

Prepara-se a cobaya que será inoculada, arrancando os pellos

ou raspando a zona com navalha, o que não apresenta inconveniente algum para a reacção.

Inocula-se então, intradermicamente, 0,2 c. c. da mistura, com uma seringa especial, munida de uma agulha bem fina.

O resultado da reacção deve ser seguido até o terceiro e às vezes, até o quarto dia.

No caso da reacção negativa, como já assignalamos, isto é, havendo immuidade no individuo cujo sôro se experimenta, nada de anormal se notará na zona inoculada ou apenas uma vermelhidão.

Na reacção positiva, após 24 horas e mais accentuadamente nas 48 horas e às vezes nas 72 horas, se nota, além da vermelhidão inflammatoria, uma zona de necrose, no ponto inoculado, indicando não haver immuidade, ou melhor que não ha de todo ou ha menos de 1/30 de u. a. por c. c. de sôro que se está dosando.

As photographias juntas de um resultado negativo (cobaya 242) e positivo (cobaya 135), illustram as reacções e são bem demonstrativas.

Uma só cobaya servirá para se praticar 2 ou mais reacções dependendo das D. M. M. contidas no L $\dagger$ da toxina usada.

Para o caso da nossa toxina, não praticamos mais de 2 reacções em cada cobaya. Podiamos praticar até 3 reacções sem nos arriscar á morte da cobaya, porque a D. M. M. da toxina usada é de 0,0033 c. c.; o L $\dagger$ = 0,32 terá 96 D. M. M.

Uma dosagem terá $96 \div 300 = 8/25$ da D. M. M.

De modo que se praticarmos 3 dosagens a quantidade de toxina injectada ainda será menor que a D. M. M. para a cobaya.

O animalsinho só deverá ser usado uma vez em virtude do possível desenvolvimento de immuidade. A cobaya não é sensível ás proteínas da toxina, por isto não se observam pseudo-reacções.

RESULTADOS OBTIDOS COM OS DOIS METHODOS:

São poucos os estudos comparativos entre as duas reacções descritas, demonstrando o valor de cada uma. Não pretendemos com a pequena estatistica que vamos apresentar e que por motivos independentes da nossa vontade não pode ser maior, tirar conclusões definitivas tendentes a invalidar um methodo muito adoptado.

Apenas desejamos, como já o fizemos no inicio deste trabalho, evidenciar um methodo mais seguro e rigoroso para se determinar (sempre que se quizer) a sensibilidade humana ou immuidade em relação á infecção diphterica.

Praticamos a reacção de Schick, no nosso laboratorio e, por isto, em condições excellentes quanto á dosagem e inalterabilidade da toxina usada, em 43 alumnos de diversas idades das escolas de Butantan, na maioria de 10 a 12 annos de idade.

Em apenas 2 a reacção foi caracteristicamente positiva, em 14 tidos como positivos, a reacção foi pouco evidente e com rigor não se poderia afirmar do seu resultado, nos restantes foi negativa. Ha uma porcentagem de 37, 2 % de positivos na totalidade dos alumnos.

Praticámos o Kellogg-test em 46 creanças de 6 a 14 annos de idade.

A reacção foi positiva em 10, dando uma proporção de 23, 9 %.

Os resultados assignalados mostram como numerosas causas podem ter influido para o resultado da reacção do Schick.

Ao passo que o resultado do Kellogg-test, indica com rigor a sensibilidade ou imunidade em relação á diphteria, visto que é praticado em um animal intermedario sensivel a diphteria e por não apresentar as causas de erros que darão interpretações falsas, muitas vezes desastrosas, para os fins de prophylaxia.

Butantan, Dezembro de 1925.

SENSIBILITE' ET IMMUNITE' A' LA DIPHTÉRIE. SCHICK-TEST ET KELLONG-TEST.

PAR LE

DR. JOSE' LEMOS MONTEIRO

(Planche 11)

SOMMAIRE

La réaction de Schick généralement employée pour vérifier la sensibilité ou l'immunité à la diphtérie présente quelques inconvénients pratiques: sensibilité protéinique individuelle, possibilité d'une immunité locale, réactions tardives, altérations et variations de la toxine etc.

La réaction de Kellogg, pratiquée dans un laboratoire est beaucoup plus rigoureuse et élimine complètement le facteur individuel; son principe est le suivant: après 1/2 heure de contact, on injecte dans le derme d'un cobaye un volume égal du serum à doser et d'une dilution de toxine diphtérique contenant $1/30$ L $\frac{1}{2}$ par c. c.; dans le cas de réaction négative, simple rougeur locale; dans le cas de réaction positive rougeur et nécrose locale.

Les résultats obtenus par l'Auteur en appliquant ces deux méthodes chez des enfants des écoles donna 37, 2°/° de réactions positives chez 43 enfants, la plupart de 10 à 12 ans, avec la réaction de Shick, et 23, 9 °/° chez 46 enfants de 6 à 14 ans, avec la réaction de Kellogg.

Sans qu'il soit possible de tirer des conclusions définitives de cette petite statistique, on peut cependant avancer que la méthode de Kellogg, qui ne présente pas les mêmes causes d'erreur que celle de Schick, pour être pratiquée en animal intermédiaire, sensible à la diphtérie et ne réagissant pas aux protéines de la toxine, indique avec rigueur la sensibilité ou l'immunité à la diphtérie.



Fig. 1 — Resultado negativo, após 48 horas
Résultat négatif, après 48 heures



Fig. 2 — Resultado positivo, após 48 horas
Résultat positif, après 48 heures