

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DOS TYPOS DE MENINGOCOCOS ENCONTRADOS NO BRASIL

PELO

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO

(Assistente do Instituto)

I

Quando nos confiaram a secção de sôros anti-microbianos, no Instituto de Butantan—da qual faz parte o preparo do sôro anti-meningococcico—a nossa primeira e maior preocupação foi a de classificar os nossos meningococos, base da sôrotherapia anti-meningococcica moderna, por não existir sobre elles, entre nós, um estudo indicando quaes os typos predominantes no Brasil.

Tratando-se de um assumpto todo de actualidade e que já vinha sendo estudado em quasi todas as partes do mundo, apresentámos, em fins de 1922, á Sociedade de Biologia de São Paulo, um trabalho (1) feito com 34 raças de meningococos (2). Todos esses meningococos foram isolados do liquido cephalo-rachdiano e identificados pelos asucres.

Para a sua classificação obtivemos os seguintes sôros: do Instituto Sôrotherapico da Dinamarca, um sôro correspondendo ao typo dinamarquez A—responsavel por 95 % dos casos de meningococcias lá observadas; do Instituto Pasteur de Paris, sôros correspondentes aos seus quatro typos A. B. C e D; e dos "Laboratories and Research, N. Y. State Dept. Health", sôros correspondentes aos tres typos americanos I, II e III. (3).

Com o sôro dinamarquez A, nenhuma das nossas raças foi agglu-

(1)—*Assumpção (L.)* Typos de meningococos e o problema de sôrotherapia anti-meningococcica entre nós. Primeira comunicação. Brasil Medico, 1923, anno 37, vol. I, N.º 19.

(2)—Na sua maior parte esse trabalho foi feito com raças recentemente isoladas.

(3)—Estes tres typos correspondem aos typos I, II e III de Gordon, e estes, segundo estudos de M. Nicolle, Debains e Jouan, têm a seguinte correspondencia com os typos francezes A. B. C e D: o typo I de Gordon corresponde ao typo A; o typo II de Gordon corresponde ao typo B; o typo III seria um sub-tipo do typo I e o typo IV de Gordon seria um sub-tipo do typo II.

tinada, o que nos fez suppôr a não existencia desse typo de meningococco entre nós.

O sôro dinamarquez que recebemos não trazia indicação do seu titulo agglutinante e foi por nós usado na diluição de 1/50 para cima.

Os sôros do Instituto Pasteur de Paris vieram com indicação do seu titulo: Sôro A-1|200, sôro B-1|500, sôro C-1|500, sôro D-1|100. Estes sôros foram por nós utilizados nas seguintes diluições: o sôro A-1|100 e 1|200; o sôro B-1|100, 1|250 e 1|500; o sôro C-1|100, 1|250 e 1|500; o sôro D-1|50 e 1|100.

Desse trabalho tirámos, entre outras, as seguintes conclusões: "Os sôros agglutinantes do Instituto Pasteur de Paris, correspondentes aos typos A, B, C e D de meningococcos, só agglutinaram 51,5% das 33 raças de meningococcos que experimentámos.

Os sôros C e D não agglutinaram nenhuma raça.

Podem ser classificadas nove raças como pertencendo ao typo A (27, 2 %); uma só ao typo B; 16 raças inagglutinaveis (48, 4 %); e 7 pertencendo a um typo mixto A e B (21, 7 %).

Com sôros americanos correspondentes aos typos I, II e III de meningococcos existentes na America do Norte, das 34 raças que experimentámos 23 foram agglutinadas, isto é, 67, 6 %.

O sôro typo II não agglutinou nenhuma das nossas raças a titulo capaz de a classificar.

Corresponderam ao typo I dezesseis raças (47, 5 %); ao typo III seis raças (17, 6 %); uma só raça portou-se como typo mixto I e III e dez como inagglutinaveis (29, 4 %).

Esse primeiro contacto com os meningococcos já nos fez ver as difficuldades que teriamos de enfrentar se quizessemos levar adiante o nosso intento de estudar os meningococcos encontrados no Brasil e classificar-os.

Vimos desde logo a existencia de typos mixtos, isto é, raças agglutinando, quasi a titulo igual, com sôros de dois typos, querendo isso dizer que só por meio da absorpção das agglutinas essas raças poderiam ser classificadas.

Vimos, e isso muito nos impressionou, que não agglutinaram com os sôros francezes 48, 4 %, e com os sôros americanos 29, 4 % das raças experimentadas. Esta nova difficuldade comportava diversas considerações: Pertenceriam essas raças inagglutinaveis a typos differentes dos sôros que recebemos? Seria a temperatura em que fizemos as agglutinações a causa de tantas raças não agglutinarem? Haveria outra qualquer causa?

Resolvemos então estudar minuciosamente o assumpto e apresentámos á Sociedade de Biologia de S. Paulo uma segunda communição, (1) verificando: — a) se com sôros por nós preparados com os nossos meningococcos, confirmava-se a classificação feita com sôros diagnosticos americanos que nos deram melhores resultados; b) o auxilio que poderia trazer a classificação com absorpção das agglutinas; c) a verificação da melhor temperatura para a agglutinação de meningococcos.

(1) *Assumpção (L.)*. Typos de meningococcos e o problema da sôrotherapia anti-meningococcica entre nós—Segunda communição, Annaes Paulistas de Medicina e Cirurgia, Vol. XV, n.º 8, 1924.

Neste segundo trabalho serviram os mesmos meningococcus do trabalho anterior e o resultado das agglutinações feitas com os sôros por nós preparados confirmou a classificação antes feita com os sôros diagnosticos americanos. As raças inagglutinaveis mostraram baixas agglutinações, algumas um pouco mais do que no trabalho anterior, e só uma dellas, o meningococco Pedr. passou a ser classificado como typo III por ter sido agglutinado por todos os sôros preparados com meningococcus do typo III. Tambem os estudos de absorpção de agglutininas, então feitos com essa raça, vieram confirmar a sua nova classificação. Atribuimos nessa occasião a algum engano havido na classificação feita no primeiro trabalho; mas adiante veremos que tal não houve.

Confirmado o nosso trabalho anterior, guardámos as raças inagglutinaveis para ulterior estudo.

Desse nosso segundo trabalho apresentámos, entre outras, as seguintes conclusões:

a) "Esta nossa segunda communicação confirma a primeira apresentada em 1923 —em que classificamos os mesmos meningococcus com sôros diagnosticos estrangeiros—usando agora sôros obtidos pela immunisação de coelhos com os nossos meningococcus".

b) "Os 32 meningococcus deste trabalho, todos isolados do liquido cephalo rachidiano, no anno de 1922, no Estado de S. Paulo, foram pela agglutinação divididos em tres grupos: um, correspondendo e sendo superponivel ao typo I americano; outro, correspondendo e sendo igualmente superponivel ao typo III, tambem americano; e um terceiro grupo, grupo "X"—puramente negativo—no qual reunimos todos os meningococcus que só apresentaram de commum o não pertencerem a nenhum dos outros typos, ou não terem sido agglutinados por nenhum dos sôros diagnosticos americanos, nem pelos sôros por nós preparados correspondendo a esses typos".

c) "Em mais de 20 immunisações de coelhos, feitas com nossos meningococcus, nunca obtivemos um anti-sôro extrictamente especifico, isto é, todos os sôros apresentaram agglutininas menores ou coagglutinas para os typos heterologos—uns mais que os outros—ao lado das agglutininas que corespondem aos recepores especificos ou agglutininas especificas".

d) "Com os sôros agglutinantes por nós preparados (em coelhos) os meningococcus mostraram-se sempre muito mais agglutinaveis a 55° em banho maria, do que a 37° na estufa".

e) "As nossas experiencias sobre a absorpção das agglutininas em nada se differençaram das de Dopter e seus collaboradores".

f) "Como antígeno para o preparo de um bom sôro anti-meningococcico, devemos levar em conta a existencia de typos de meningococcus immunologicamente distinctos, que variam de accôrdo com o lugar e ás vezes tambem de accôrdo com o momento".

II

CLASSIFICAÇÃO DE MENINGOCOCCOS ISOLADOS NO ANNO DE 1924.

Vamos apresentar agora a classificação de mais 30 meningococcus isolados no anno de 1924.

Como já tivemos occasião de dizer nos nossos trabalhos anteriores, é preciso estudar os meningococcus em diversos Estados do nosso extenso territorio, de climas tão variados, para podermos afirmar serem estes ou aquelles os typos predominantes no Brasil.

Em uma das conclusões do nosso ultimo trabalho dissémos: "Como antígeno para o preparo de um bom sôro anti-meningococcico, devemos levar em conta a existencia de typos de meningococcus, immunologicamente distinctos, *que variam de accôrdo com o lugar e ás vezes tambem de accôrdo com o momento*".

E' preciso, portanto, depois de estabelecidos os typos de meningococcus existentes em um lugar, continuar a verificar todos os annos qual dos typos existentes é que está predominando. Já dissémos que em França, por exemplo, antes da grande guerra das nações, o typo predominante éra o typo A, passando a ser depois e actualmente o typo B. E foi essa a razão pela qual os sôros anti-meningococcicos de então, preparados com o meningococco typo A, não mostraram acção curativa, principalmente nas tropas inglezas em França.

Com a classificação de mais estes 30 meningococcus, todos isolados no Est. de S. Paulo, vamos confrontar os resultados com os meningococcus isolados em 1922.

Para a classificação destes meningococcus, como na occasião não dispunhamos de sôros diagnosticos estrangeiros, preparamos sôros com os meningococcus recebidos da America do Norte correspondendo aos seus tres typos, como fizemos tambem no nosso trabalho anterior. São elles os seguintes: D. W. 60 (Typo I), A. 46 B. (Typo II) e C. W. 30 B (Typo III). Por abreviação, quando nos referirmos a estes meningococcus, apenas escreveremos typo I, typo II e typo III, ou sómente I, II e III.

Damos a seguir os quadros mostrando a agglutinação desses sôros com o antígeno ou meningococco homologo, e com os outros dois meningococcus de typos heterologos com o fim de verificar as coagglutinações.

E' indispensavel, quando se quer uzar um sôro diagnostico, fazer essa verificação, pois, o mais das vezes, o sôro só pode servir para a classificação após a absorpção das coagglutininas.

QUADRO Nº 1

Agglutinações com o sôro do coelho 52 immunizado com o meningococco D. W. 60 (Typo I).

	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1000	1/1.200	1/1.400	1/1.600
Com o typo I (D. W. 60)	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
Com o typo II (A. 46 B.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com o typo III (C. W. 30 B.)	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0

Agglutinações com o sôro do coelho 118, immunizado com o meningococco A. 46 B. (Typo II).

	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1000	1/1.200	1/1.400	1/1.600
Com o typo I (D. W. 60)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com o typo II (A. 46 B.)	++	++	++	++	++	++	++	++	+	+
Com o typo III (C. W. 30 B.)	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Agglutinações com o sôro do coelho 100, immunizado com o meningococco C. W. 80 B. (Typo III).

	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/1.200	1/1.400	1/1.600
Com o typo I (D. W. 60)	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0
Com o typo II (A. 46 B.)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com o typo III (C. W. 30 B.)	++	++	++	++	++	++	+	+	+	0

Poder-se-ia dizer que os sôros preparados com os meningococcus typos I e II servem como sôros diagnosticos por apresentarem pequena coagglutinação tanto um como outro para o typo III; mas a verificação feita em um só meningococco é insufficiente, pois, poderá o sôro não apresentar coagglutininas para esse meningococco e as apresentar para outros do mesmo typo. E isto vamos deixar demonstrado abaixo confrontando agglutinações feitas com os sôros sem absorção e com absorção das agglutininas.

(1) Os graus de agglutinação são indicados da seguinte maneira: ++ agglutinação com grandes flócos e liquido claro; + agglutinação com flócos finos e liquido turvo; + agglutinação fraca macroscopicamente e 0 ausencia de agglutinação.

Todas as agglutinações são acompanhadas de um tubo testemunha com emulsão e agua physiologica.

Com o sêro preparado com o meningococco typo III a coagglutinação que apresenta para o typo I é bem elevada, só podendo servir para a classificação nas mãos de quem já etseja muito habituado a estes ensaios, mas nunca dando resultados bem claros. Este sêro—mais ainda que os anteriores—deve ser usado após a absorpção das coagglutininas que apresenta principalmente para o typo I.

Feita a absorpção pelo processo indicado no nosso trabalho anterior, o resultado foi o seguinte:

QUADRO Nº 2

Agglutinações com o sêro do coelho 52, immunisado com o meningococco typo I, absorvido pelo meningococco typo III.

	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/1.200	1/1.400	1/1.600
Com o typo I (D. W. 60)	++	++	++	++	++	++	+	+	0	0
Com o typo III (C. W. 30 B)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Agglutinações com o sêro do coelho 100, immunisado com o meningococco typo III, absorvido pelo meningococco typo I.

	1/50	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/1.200	1/1.400	1/1.600
Com o typo I (D. W. 60)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Com o typo III (C. W. 30 B)	++	++	++	++	+	+	+	0	0	0

Como vemos, os sêros typo I e III ficaram livres das coagglutininas que apresentavam, coagglutininas que foram absorvidas, conservando as agglutininas especificas, embora um pouco diminuidas em seu titulo, tal qual fôra observado no nosso trabalho anterior, quando tratámos mais detalhadamente deste assumpto.

Segue um quadro em que fazemos a classificação de 30 meningococcos isolados em 1924 com os tres sêros obtidos, usando, mesmo o sêro typo III, sem absorpção, com o fim de mostrar as coagglutinações, repetindo depois as agglutinações com os sêros absorvidos e confrontando os resultados. Este processo é mais trabalhoso e só o fazemos por não ser nosso fim unicamente a classificação de meningococcos, mas tambem o estudo destes phenomenos.

QUADRO Nº 3

Classificação de meningococcus isolados em 1924, feita com sôros por nós preparados

	Com sôro typo I (Coelho n.º 52)						Com sôro typo II (Coelho n.º 118)						Com sôro typo III (Coelho n.º 100)					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
1	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
2	++	++	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	+
5	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	+	+	0	0	0	0	++	++	+	+	+	0	++	++	+	0	0	0
7	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	++	++	+	+	0	0
8	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
9	++	++	++	+	+	+	0	0	0	0	0	0	++	++	+	0	0	0
10	++	++	+	0	0	0	++	+	0	0	0	0	++	++	++	++	+	+
11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	+	+
13	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
14	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	++	+	+	0	0	0
15	++	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	++	++	++	++	+	+
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
19	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
20	++	++	+	+	+	0	+	+	+	0	0	0	++	++	++	++	++	+
21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
22	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
23	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	+
24	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
25	++	+	0	0	0	0	++	+	+	0	0	0	++	++	++	++	++	+
26	+	+	+	0	0	0	++	+	0	0	0	0	++	++	++	++	++	++
27	++	++	++	++	++	++	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
28	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
29	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	++	++	+	0	0	0
30	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0

Como os sôros diagnosticos usados foram de poder agglutinante mais ou menos igual, podemos desde logo apontar como classificados os meningococcos agglutinados a titulo mais elevado. E' preciso deixar affirmado aqui que se usarmos sôros de titulos muito desiguaes, os resultados podem ser completamente falhos. Assim, se por exemplo tomássemos — na classificação que acabamos de fazer — o sôro typo III com o titulo agglutinante a 1/5000, este poderia apresentar coagglutinações para o typo I a mais de 1/1000, o que corresponderia mais ou menos ao titulo do sôro diagnostico I, falseando todos os resultados.

Pela leitura do quadro n.º 3 podemos dar como classificados: como typo I os meningococcos 1, 2, 7, 9, 13, 14, 19, 30, 27, 29 e 22; como typo II, com pouca segurança poderíamos apontar o meningococco 6; como typo III, os de numeros 3, 4, 10, 12, 15, 20, 25, 26 e 23. Por serem muito pouco agglutinaveis, e ainda mais, agglutinados a titulo quasi igual pelos sôros I e III, não julgamos possível dar como classificadas as raças 5, 8, 18, 21 e 28. As raças 11, 16 e 17 foram completamente inagglutinaveis com os tres sôros diagnosticos usados. Ainda esse quadro nos mostra que em muitos meningococcos as coagglutinações produzidas principalmente pelo sôro I foram maiores do que as observadas no quadro n.º 1, o que nos faz repetir que a verificação das coagglutininas apresentadas por um sôro deve ser feita com muitas raças.

Agora vejamos a agglutinação desses meningococcos com o sôro typo I absorvido pelo meningococco C. W. 30 (typo III), portanto, sem as coagglutininas para este typo, e com o sôro typo III absorvido pelo meningococco D. W. 60 (typo I), que lhe retirou as coagglutininas do seu typo, tudo como foi observado no quadro 2:

Aqui, com o desaparecimento das coagglutinações, ficaram nitidamente classificados como typo I os meningococcos 1, 2, 7, 8, 9, 13, 14, 19, 20, 22, 24, 27, 29 e 30; como typo III, 3, 4, 10, 12, 15, 23, 25 e 26.

Ficou para ser resolvida a classificação do meningococco 6 que, como acabamos de ver, não foi agglutinado pelos sôros I e III após a absorpção das agglutininas, antes tendo sido fracamente agglutinado por esses sôros não absorvidos e um pouco mais agglutinado pelo sôro typo II, como vimos no quadro n.º 3. Para podermos ter mais confiança de ser esse meningococco um typo II, precisamos verificar se com o sôro typo II, absorvido pelos meningococcos I e III, livre, portanto, das coagglutininas para os meningococcos desses typos, mantem-se a agglutinação verificada no quadro n.º 3 para essa raça.

QUADRO Nº 5

Sôro typo II absorvido pelos meningococcos I e III.

	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800
6	++	+	±	0	0

Embora a titulo baixo o meningococco 6 pode, portanto, ser classificado como typo II.

Dos 30 meningococcos que estamos classificando, sete não foram agglutinados por nenhum dos tres sôros; são os seguintes: 5, 11, 16, 17, 18, 21 e 28. Estes meningococcos ficam reunidos no grupo "X" da classificação internacional (1).

(1) A Organização de Hygiene da Sociedade das Nações recommenda que a classificação de meningococcos deve ser baseada tanto quanto possivel:

a) "sobre uma divisão primaria em grupos que serão designados por numeros como, por exemplo, I, II (segundo a classificação actual dos typos de Gordon), sem prejuizo de outros grupos que poderão ser determinados":

b) "sobre uma sub-divisão dos grupos principaes em grupos secundarios ou typos; estes serão designados por letras acompanhadas do numero do grupo principal no qual elles devem ser classificados, por exemplo, Ia, IIb, etc."

"A divisão primaria em grupos será baseada exclusivamente sobre a agglutinação. Os grupos comprehendem culturas que são agglutinadas de maneira uniforme por uma diluição a um titulo elevado de sôros monovalentes não contendo sinão poucas coagglutininas".

"A divisão secundaria em typos poderá ser baseada nos resultados das reacções de agglutinação e de absorpção praticadas com um sôro monovalente".

"As culturas cuja identificação fôr impossivel de uma maneira precisa, serão classificadas no grupo "X".

Em resumo o resultado da classificação que estamos fazendo foi a seguinte:

QUADRO Nº 6

Resultado da classificação dos 30 meningococcus isolados em 1924.

Typo I	Typo II	Typo III	Grupo "X"
1	6	5	5
2		4	11
7		10	16
8		12	17
9		15	18
15		25	21
14		25	28
19		26	
20			
22			
24			
27			
29			
30			

Esta classificação foi feita mesmo no anno de 1924 sendo que muitos dos meningococcus eram recentemente isolados, outros conservados alguns mezes; e a razão pela qual só agora lhe damos publicidade é a seguinte: os nossos dois primeiros trabalhos foram feitos com os mesmos meningococcus mas com o intervallo entre um e outro de quasi um anno. Vimos no primeiro trabalho que o meningococco Pedr.—que tinhamos particular interesse em classificar—mostrou-se inagglutinavel com todos os sôros diagnosticos americanos (I, II e III), ao passo que no segundo trabalho, após um anno de repicagem, foi agglutinado e nitidamente classificado como typo III. Procuramos, então, conservar até agora—já faz quasi dois annos—principalmente os meningococcus do grupo "X", para verificar as mudanças que apresentassem na sua agglutinabilidade, e como vemos no quadro n.º 7 o nosso esforço não foi perdido.

QUADRO Nº 7

Nova classificação dos meningococcus do Grupo "X" feita agora (um anno e meio depois).

	Com sôro typo I						Com sôro typo II						Com sôro typo III					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
5	++	+	0	0	0	0	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0
11	0	0	0	0	0	0	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0
17	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
21	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
28	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0

Pela leitura desse quadro vê-se que os meningococcus 5, 11 e 16 passaram a ser classificados como typo II; os meningococcus 18 e 21 podem ser considerados como typo I embora não sejam muito agglutináveis e apresentem fortes coagglutinações para o sôro III; permanecendo sem classificação as raças 17 e 28. No seu conjunto não se mostraram ainda estes meningococcus—mesmo os classificados—muito agglutináveis.

Para nós, houve nos resultados do quadro n.º 7 uma dupla surpresa: o aparecimento da propriedade agglutinável desses meningococcus após um anno e meio, o que prova que esses germes recentemente isolados podem ser inagglutináveis, como se observa com tantos outros microbios; e a classificação de tres dessas raças como typo II, typo não encontrado nos nossos dois trabalhos anteriores.

Para nos merecer inteira segurança a classificação dos meningococcus 5, 11 e 81 como typo II, preparamos com cada uma destas raças um sôro agglutinante, experimentando a sua acção sobre os meningococcus I, II e III, recebidos dos Estados Unidos e sobre todos os meningococcus classificados como typo II; é o que se ve no quadro seguinte:

QUADRO Nº 8

	Sôro preparado com o meningococco 5.						Sôro preparado com o meningococco 11.						Sôro preparado com o meningococco 16.					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
I	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
II	++	++	++	+	+	0	++	++	+	+	+	0	++	++	+	0	0	0
III	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	++	++	++	++	++	+	++	++	+	+	0	0	++	++	+	0	0	0
11	++	++	++	+	+	0	++	++	++	++	+	0	++	++	+	0	0	0
16	++	++	++	++	+	0	++	++	+	0	0	0	++	++	+	+	+	0
6	++	++	++	++	++	+	++	++	++	+	+	0	++	++	+	+	0	0

Nesse quadro só não foram agglutinados os meningococcos I (typo I) e III (typo III), sendo todos os outros agglutinados por pertencerem ao mesmo typo—typo II.

Como resultado final, portanto, temos que modificar o quadro n.º 6 pelas alterações fornecidas pelo quadro n.º 7:

QUADRO Nº 9

Resultado da classificação com as modificações do Quadro n.º 7.

Meningococcus typo I.	Meningococcus typo II.	Meningococcus typo III.	Meningococcus Grupo "X".
1	5	5	17
2	6	4	28
7	11	10	
8	16	12	
9		15	
15		23	
14		25	
18		26	
19			
20			
21			
22			
24			
27			
29			
30			

III

CLASSIFICAÇÃO FEITA AGORA DE MENINGOCOCCOS
ISOLADOS NO ANNO DE 1925.

Conservámos alguns meningococcus isolados no anno passado e só agora fizemos a sua classificação, mais ou menos um anno depois do seu isolamento.

O nosso fim fazendo esta classificação após um anno de conservação, é verificar se tambem encontramos, após tantas replicações, raças inagglutinaveis—do grupo "X"—e em que proporção.

Para a classificação desses 12 meningococcus preparamos — com os nossos meningococcus—sôros correspondentes aos typos I, II e III; e como acabamos de receber sôros diagnosticos dos "Laboratories and Research N. Y. State Dept. Health", correspondendo aos tres typos americanos I, II e III, podemos confrontar os resultados.

QUADRO Nº 10

Classificação feita agora de meningococcus isolados em 1925, com sôros preparados com os nossos meningococcus.

	Sôro typo I						Sôro typo II.						Sôro typo III.					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
31	++	++	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
32	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
33	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	+	+	+
34	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	+	+	0
35	++	++	++	++	+	+	+	0	0	0	0	0	++	0	0	0	0	0
36	++	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
37	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
38	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	+	0	0	0
39	++	++	++	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
40	++	++	++	++	+	0	+	+	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0
41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
42	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0

QUADRO Nº 11

Classificação feita agora dos mesmos meningococcos do Quadro n.º 10, com os sôros recebidos dos "Laboratories and Research N. Y. State Dept. Health".

	Sôro typo I.						Sôro typo II.						Sôro typo III.					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
31	++	++	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0	0
32	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
33	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	+	+	0
34	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	++	++	++	+
35	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
36	++	++	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
37	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
38	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	+	0	0	0
39	++	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
40	++	++	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
41	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
42	++	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0

Não houve, como se acaba de ver, discordancia nos resultados. Observam-se muitas coagglutinações, mas assim mesmo torna-se desnecessario fazer-se a absorpção das coagglutininas. Pode-se considerar classificadas: como typo I as raças 31, 32, 35, 36, 37, 39, 40, e 42; como typo II nenhuma; como typo III as raças 33, 34 e 38; indo para o grupo "X" a raça 41, por não poder ser classificada.

QUADRO Nº 12

Resultado da classificação dos meningococcus de 1925.

Meningococcus typo I.	Meningococcus typo II.	Meningococcus typo III.	Meningococcus Grupo "X".
31		33	41
32		34	
35		38	
36			
37			
39			
40			
42			
66,6%		23,3%	8,3%

Aqui a porcentagem de meningococcus do grupo "X" foi de 8,3 %; ao passo que, com os meningococcus de 1924, foi de 23,3 % na classificação feita com germens mais ou menos recentemente isolados. Parece-nos evidente que os germens recentemente isolados são menos agglutináveis.

IV

CLASSIFICAÇÃO DE ALGUNS MENINGOCOCCOS RECENTEMENTE ISOLADOS NESTE ANNO (1926).

Estes meningococcus foram por nós classificados alguns dias depois de isolados, logo após a sua identificação pelos assucares.

Os sôros diagnosticos usados foram os mesmos que serviram para a classificação feita agora dos meningococcus de 1925. Eis o resultado:

QUADRO Nº 13

Classificação de meningococcus recentemente isolados, com sôros preparados com os nossos meningococcus.

	Sôro typo I						Sôro typo II						Sôro typo III					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
43	++	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
46	++	++	++	++	+	+	+	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0
47	++	++	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
49	++	++	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
52	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0
53	++	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
54	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0

QUADRO Nº 14

Classificação dos mesmos meningococcus do Quadro n. 13, com sôros recebidos dos "Laboratories and Research N. Y. State Dept. Health."

	Sôro tipo I						Sôro tipo II						Sôro tipo III					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
43	++	++	+	+	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	
44	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
45	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
46	++	++	++	++	+	+	0	0	0	0	0	++	+	0	0	0	0	
47	++	+	±	±	0	0	0	0	0	0	0	+	0	±	0	0	0	
48	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	
49	++	++	++	++	++	++	+	±	0	0	0	+	0	0	0	0	0	
50	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
51	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
52	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
53	++	++	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	
54	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Como se vê nos dois quadros, apenas os meningococcus 43, 46, 47, 49 e 11 podem ser considerados como tipo I. Todos os outros vão para o grupo "X", não havendo nenhum tipo II, nem tipo III.

QUADRO Nº 15

Resultado da classificação dos meningococcus recentemente isolados.

Meningococcus tipo I	Meningococcus tipo II	Meningococcus tipo III	Meningococcus Grupo "X"
45			44
46			45
47			48
49			50
53			51
			52
			54
41,6%			58,3%

Foi grande a porcentagem de raças que se reuniram no grupo "X" por se mostrarem inagglutináveis ou pouco agglutináveis. Esperávamos uma menor agglutinabilidade dos meningococcos recentemente isolados, mas não em tal proporção.

Não ha pensar em outro motivo senão o de se tratar de meningococcos recentemente isolados o encontrar-se aqui a maior proporção de raças do grupo "X".

Em limpo tiraremos essa questão, mais uma vez, guardando esses meningococcos inagglutináveis para os submeter daqui a um anno a nova classificação.

Teremos que preparar sôros agglutinantes com todos os meningococcos do grupo X com o fim de verificar se alguns delles formam outros typos de meningococcos além dos experimentados; só então é que deixaremos affirmado os typos de meningococcos existentes entre nós, permanecendo no grupo "X" aquelles que definitivamente não puderem ser classificados.

V

ESTUDO IMMUNOLOGICO DE UM MENINGOCOCCO DO GRUPO "X", RECENTEMENTE ISOLADO.

Ainda recentemente Kirkbride e Alice I. Hutton fizeram um estudo (1) immunologico de um meningococco atypico isolado de um caso resistindo longo tempo ao tratamento, e que se mostrou, quando recentemente isolado, inagglutinavel com os sôros monovalentes correspondendo aos typos I, II, III, e que tambem não foi aggluinado por sôros polyvalentes de cavallos immunizados com 4, 6, 20 e 60 raças. No correr de 2 annos os A. A. observaram que no fim de 6 mezes já esse meningococco era agglutinado a 1/200 com os sôros polyvalentes, passando depois a ser agglutinado a 1/500 e no fim a 1/1000 e 1/2000. Com os sôros monovalentes foi após longo tempo de conservação agglutinado a 1/200 com o sôro typo II, passando no fim a ser tambem agglutinado pelo sôro typo III ao mesmo titulo. Esse meningococco terminou ficando no grupo "X" da classificação internacional.

Quasi todos os bacteriologistas que têm feito estudo sobre os meningococcos encontraram raças que não puderam classificar, principalmente por inagglutináveis. Alguns lançaram mão do methodo de Porges ou deste methodo modificado por Nicolle—destinados a tornar agglutináveis germens encapsulados—mas estes methodos autolysam facilmente os meningococcos e não têm dado bons resultados, segundo alguns experimentadores.

Não temos encontrado estudos em que essas raças inagglutináveis tivessem sido conservadas longo tempo, como fizemos, para ser verificada a possibilidade da sua classificação, ainda que tardia, a

(1)—"An immunological study of an atypical meningococcus strain".
Mary B. Kirkbride and Alice I. Hutton—The Journal of Immunology, Vol. XI, May, 1926, N.º 5, p. 394.

não ser no que acabamos de citar, em que o meningococco estudado, apesar de se tornar agglutinavel, conservou-se no grupo "X".

Por informações recebidas do Hospital de Isolamento dos doentes de meningite, como tambem pelo longo tempo que repetidamente nos enviam alguns liquidos para exame, temos notado serem muito mais graves os casos dos quaes são isolados meningococcus que vão para o grupo "X". Estes meningococcus tambem raramente são agglutinados pelos nossos sôros polyvalentes.

Sabe-se que no tratamento da meningite cerebro espinhal deve-se empregar sôro anti-meningococcico polyvalente até ser determinado pelo laboratorio o typo de meningococco causador da affecção; de rimida esta preliminar deve-se dar preferencia, se houver, ao sôro monovalente correspondente.

No Posto Bacteriologico fazemos com rapidez a identificação e classificação dos meningococcus isolados; preparamos tambem sôro anti-meningococcico polyvalente e sôros meningococcicos anti-I e anti-III, correspondendo aos typos de meningococcus mais recentemente encontrados entre nós.

Parece-nos a proposito fazer agora um ligeiro estudo immunologico de uma dessas raças recentemente isoladas que foram para o grupo "X", tomada ao accaso.

Tomamos para esse estudo o meningococco 50 e immunizamos um coelho. Experimentado o sôro deste coelho com o antigeno—meningococco 50—verificamos que este foi agglutinado a 1/1000, titulo geralmente alcançado pelos nossos sôros agglutinantes, todos comumente feitos por um methodo rapido.

Em seguida escolhemos dois meningococcus typo I (I e 49), dois typo II (6 e 16), dois typo III (III e 34) e fizemos uma agglutinação com o sôro do coelho immunizado com o meningococco 50—que tambem juntamos a este quadro—com o fim de verificar para qual dos tres typos esse sôro apresenta agglutininas. Eis o resultado:

QUADRO Nº 16

Agglutinações com o sôro agglutinante preparado com o meningococco 50, do grupo «X»

	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
50	++	++	++	++	++	+
I - typo I	0	0	0	0	0	0
49 - typo I	+	+	±	0	0	0
6 - typo II	0	0	0	0	0	0
16 - typo II	±	0	0	0	0	0
III - typo III	0	0	0	0	0	0
34 - typo III	±	0	0	0	0	0

Vê-se bem clara a forte agglutinação do sôro com o antígeno—meningococco 50—e uma agglutinação ligeiramente accentuada para o meningococco 49, typo I, mas que não nos autoriza a mostrar afinidade desse sôro para com esse typo, visto não ter sido agglutinado o meningococco I, tambem do mesmo typo. Portanto, o sôro que estamos estudando não mostrou ter agglutininas para nenhum dos tres typos de meningococcos que vimos estudando.

Vejamos agora a acção desse sôro sobre os outros meningococcos do grupo "X".

QUADRO Nº 17

Agglutinações com o sôro agglutinante preparado com o meningococco 50, do grupo «X»

	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
44 - grupo "X"	+	0	0	0	0	0
45 - " "	0	0	0	0	0	0
48 - " "	0	0	0	0	0	0
51 - " "	++	+	+	0	0	0
52 - " "	0	0	0	0	0	0
54 - " "	+	0	0	0	0	0

Houve uma leve agglutinação com os meningococcos 45 e 54 e uma agglutinação um pouco mais accentuada para o 51, mas todas a um titulo longe do titulo do sôro preparado com o meningococco 50.

Outro meio que podemos lançar mão para verificar as relações do meningococco 50 com os typos de meningococcos já conhecidos—sem sahir do estudo das agglutininas—é o da absorpção das agglutininas.

O meningococco 50 não absorve agglutininas especificas dos sôros typo I, typo II e typo III, como vemos no quadro abaixo:

QUADRO Nº 18

Agglutinações com sôros absorvidos pelo meningococco 50.

	Sôro typo I absorvido pelo meningococco 50.					Sôro typo II absorvido pelo meningococco 50.					
	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	
49 - typo I	++	++	+	+	+	6 - typo II	++	++	+	0	0

Sôro typo III absorvido pelo meningococco 50.

Meningococo "X" Grupo	Meningococo Tipo III	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800
17	34 - typo III	++	++	++	++	+

Como acabamos de ver os sôros continuaram a agglutinar as raças homologas após serem saturados ou absorvidos pelo meningococco 50.

Fazendo a absorpção do sôro preparado com o meningococco 50 pelo proprio meningococco 50—como se vê no quadro 19—foram absorvidas as agglutininas especificas, segundo a regra, e mais as fracas agglutininas apresentadas pelas raças 44, 51 e 54 que vimos no quadro 17.

QUADRO Nº 19

Agglutinações feitas com o sôro preparado com o meningococco 50, absorvido pelo proprio meningococco 50.

	1/100	1/200	1/400	1/600	1/800	1/1.000
50	0	0	0	0	0	0
44	0	0	0	0	0	0
51	+	0	0	0	0	0
54	0	0	0	0	0	0

Portanto, nem indirectamente o meningococco 50 mostrou ter qualquer afinidade com os typos de meningococcus aqui estudados, sendo possivel que o mesmo se dê com as outras raças do grupo "X" recentemente isoladas se repetissimos com ellas o mesmo trabalho.

Preferimos em outra ocasião, como já dissemos, apresentar um estudo detalhado destes meningococcus do grupo "X".

QUADRO Nº 20

Resumo final da classificação dos 54 meningococcos deste trabalho,

Meningococcus typo I.	Meningococcus typo II:	Meningococcus typo III.	Meningococcus Grupo "X"
1	5	5	17
2	6	4	28
7	11	10	41
8	16	12	44
9		15	45
13		23	48
14		25	50
18		26	51
19		33	52
20		34	54
21		38	
22			
24			
27			
29			
30			
31			
32			
35			
36			
37			
39			
40			
42			
43			
46			
47			
49			
53			
53,7%	7,4%	20,3%	18,5%

Os numeros por nós usados nos meningococcus são numeros de ordem.

A sua correspondencia com as indicações originaes dos liquidos cephalo rachidianos dos quaes foram por nós isolados, é a seguinte:

Do Hospital de Isolamento:

1924

1 (10)-2 (21)-3 (29)-4 (31)-5 (33)-6 (43)-7 (45)-8 (47)-9 (51)-10 (52)-11 (60)-12 (63)-13 (64)-14 (65)-15 (69)-16 (81)-17 (89)-18 (90)-19 (95)-20 (96)-21 (101)-22 (136)-23 (212)-24 (218)-30 (240).

1925

31 (377)-32 (475)-33 (512)-34 (557)-35 (624)-36 (693)-37 (741)-38 (752)-39 (754)-40 (759)-41 (800)-42 (826).

1926

43 (45)-44 (93)-45 (139)-46 (209)-47 (301)-48 (342)-49 (356)-50 (495)-51 (359)-52 (393)-53 (577)-54 (394).

25 isolado do liquido cephalo rachidiano de um doente do Braz

26 isolado do liquido cephalo rachidiano de um doente de Itu'

27 isolado do liquido cephalo rachidiano de um doente de Ribeirão Preto

28 isolado do liquido cephalo rachidiano de um doente de S. Manoel

29 isolado do liquido cephalo rachidiano de um doente S. C.

III

Posto bacteriologico do Instituto de Botânica 12-7-26

CONCLUSÕES

I

Dos meningococcus estudados, todos isolados do liquido cephalo rachidiano e identificados pelos assucares, 81, 4 % puderam ser classificados em tres typos pelos sôros diagnosticos recebidos dos "Laboratories and Research N. Y. Dept. Halth" correspondentes aos typos de meningococcus americanos I, II e III, tendo dado esta classificação o mesmo resultado com sôros diagnosticos por nós preparados e pela absorpção das agglutininas.

II

Dos 54 meningococcus deste trabalho, 53, 7 % foram classificados como typo I; 7, 4 % como typo II; 20, 3 % como typo III, sendo encontrados 18, 5 % de meningococcus que não foram agglutinados pelos sôros correspondendo a esses tres typos e que reunimos no grupo "X" da classificação internacional, conservando-os para ulterior estudo.

III

Foram encontrados muitos meningococcus inagglutinaveis quando recentemente isolados, sendo que, um anno a dois depois, alguns puderam ser classificados pelo apparecimento de sua agglutinabilidade especifica, permanecendo outros no grupo "X", sem classificação.

Posto Bacteriologico do Instituto de Butantan, 12-7-926.

CONTRIBUTION A' L'ÉTUDE DES TYPES DE MÉNINGO-
COCQUES RENCONTRÉS AU BRÉSIL

PAR LE

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO

SOMMAIRE

I

Des méningococcus étudiés, tous isolés du liquide céphalo rachidien et identifiés par les sucres, 81, 4 % ont pu être classés en 3 types par les serums diagnostics reçus des "Laboratories and Research N. Y Dept. Health", correspondants aux types I, II et III de méningococcus américains.

II

Des 54 méningococcus de ce travail, 53, 7 % ont été classés dans le type I, 7, 4 % dans le type II, 20, 3 % dans le type III; 18, 5 % n'ont pas été agglutinés par les serums correspondants à ces 3 types, et nous les réunissons au groupe "X" de la classification internationale, les conservant pour une étude ultérieure.

III

Beaucoup de méningococcus récemment isolés n'étaient pas agglutinables; quelques uns ont pu être classés un an ou deux plus tard par suite de l'apparition de l'agglutinabilité spécifique; d'autres au contraire sont restés dans le groupe "X" sans classification.

12 Juillet, 1926.
