

# RESISTENCIA DE DIFFERENTES GERMES PATHOGENICOS EXPERIMENTALMENTE ASSOCIADOS AO VIRUS VACCINICO

POR

R. GODINHO

O descobrimento de Edward Jenner, em 1798, conseguindo immunizar o homem contra a variola por inoculação directa do *cow pox*, assignala uma era que pode perfeitamente ser denominada *era Jenneriana*, distincta, por sua vez, de duas outras: a *era pre-jenneriana*, cuja característica principal é o emprego da variolização e a *era post-jenneriana*, que corresponde ao uso do virus vaccinico preservado no laboratorio depois de cultura no organismo animal.

Durante a *era pre-jenneriana* só se conhecia e praticava a variolização, isto é, a passagem do virus da variola de individuo a individuo, visando a transmissão da doença em caracter mais attenuado. Infelizmente, o recurso prophylactico servia tambem para facilitar a propagação das grandes epidemias de variola que varreram todos os cantos da terra. Todavia, de sua pratica intensiva, abrindo caminho á verificação da immunidade conferida ao homem pela contaminação benefica da variola bovina, resultou o descobrimento da vaccina de Jenner.

A transmissão directa da pustula bovina a custo conseguiu acceitação universal, arrostando uma das campanhas mais tenazes que a hygiene tem enfrentado em todos os tempos. Entre outras razões predominava o receio dos incredulos de que os *humores* oriundos da vacca pudessem constituir uma ameaça de possivel "vacalisation", ou, vernacularmente de "avacalhamento" da humanidade. Mas, antes do occaso completo do seculo passado, o beneficio da vaccina vencia as derradeiras resistencias, surgindo então a *era post-jenneriana*, ou era propriamente do virus vaccinico autonomo que teve inicio quando Copemann, em 1891, destacou do vitello a polpa vaccinica e a trouxe para o laboratorio sob influxo das conquistas de Pasteur. Desde então novos aperfeiçoamentos vem o processo conquistando até os nossos dias, assignalando-se, entre os principaes, a lapino-receptividade que dá logar, alem da *lapino-vaccina de Gailleton*, a *orchi-vaccina de Henseval, Convent e Noguchi*, em 1910, e a *neuro-vaccina de Levaditi*, em 1922. E dentro do mesmo proposito de purificação do virus pelo afas-



tamento dos germes de associação da polpa, outras conquistas de grande valor são feitas em 1929, tanto na Escola Medica de Harvard, nos Estados Unidos, como entre nós, no Instituto Butantan, por meio da filtração do virus através de velas diatomaceas sendo que o producto aqui obtido foi, pela primeira vez no mundo, em condições de completa eficiencia para emprego immediato na pratica.

Caminhando, finalmente, para um grão de aperfeiçoamento que todos esperam alcançar, procura-se, por toda parte, encontrar um meio de cultura do virus vaccinico *in vitro*, em estado perfeito de pureza e actividade.

Esta summaria descripção das principaes fontes de virus vaccinico para fins de immunização põe em evidencia a preocupação que têm tido os pesquisadores de obter o tanto quanto possivel em estado de pureza, isto é, libertado dos germes de associação que vulgarmente o acompanham, obice maior á sua geral acceptance.

Os processos da technica moderna de preparo da vaccina e os rigorosos cuidados que lhe são dispensados no laboratorio reduzem ao minimo o teor qualitativo e quantitativo da flora microbiana associada, embora o ideal para a pratica seja o virus absolutamente puro, como ficou demonstrado em trabalho anterior publicado nas Memorias do Instituto Butantan (1) comquanto, pela sua extrema exigencia de condições especiaes de manutenção da actividade, não se preste, *larga manu*, a uso corrente entre nós.

A contaminação de que se reveste a polpa vaccinica é propriamente nulla quando demoradamente depurada no laboratorio. Entretanto, não é para ser desprezado o grande cuidado que deve merecer cada partida de polpa, resultante da colheita de um vitello, visto que, em circunstances especiaes, uma contaminação de germes pathogenicos poderia ter logar durante o periodo de 120 horas consecutivas em que o animal permanece estabulado á espera do completo desenvolvimento pustular. Tanto do organismo do proprio animal, como dos productos da ração alimentar ou ainda vehiculados pelos tratadores e por meios outros inevitaveis podem chegar até a vasta area de pustulação diferentes germes ou esporos pathogenicos que, de mistura com a polpa, seriam em conjuncto preservados até o momento de ser esta entregue ao consumo.

São bem raros os casos conhecidos na literatura medica de contaminação humana de tal natureza, mas, desde que possivel, não é injustificavel a insistencia na verificação do limite do seu perigo e dahi a natureza da orientação das presentes investigações, no particular das polpas vaccinicas do Butantan, unico centro productor da vaccina neste Estado.

*Da flora normal das polpas vaccinicas* — Estudos completos procedidos em todos os Institutos Vaccinogenicos do mundo demonstram que, mesmo dentro de condições optimas da technica de sementeira e colheita da polpa, afastada toda hypothese de infecção do animal vaccinifero, com immediata comprovação pela



necropsia, a polpa fresca é acompanhada de rica flóra de associação de germes cuja media oscilla ao infinito. Somente um longo periodo de depuração em baixa temperatura, pode atenuar esse teor de germes, sem o emprego de antisepticos outros, entre nós desaconselhado, a não ser a glicerina.

Alem das verificações que fizemos em trabalho já publicado (2) para demonstrar a possibilidade de redução da flora microbiana da vaccina, revelam as fichas do nosso registo de polpas que, num total de 162 verificações durante o periodo de 1929 até o momento presente, apenas a partida No. 4711 teve de ser desprezada, logo depois da colheita, por ter a necropsia do vitello evidenciado lesões tuberculosas do parenchima pulmonar, não obstante prova negativa de tuberculina feita previamente. Nenhuma das demais partidas revelou presença de associação pathogenica que indicasse o seu não aproveitamento.

Não obstante rara e esparsamente assignalados, germes altamente pathogenicos para o homem accidentalmente podem viver em symbiose com o virus vaccinico e determinar infecções graves e mortaes.

Para esses accidentes ainda em sessão de 5 de julho de 1932 M. Luciens Camus chamava a attenção da Academia de Medicina de Paris em virtude de reclamações recebidas (3). Entre os germes que podem occasionar taes accidentes encontram-se alguns proprios do organismo bovino, v.g. o *virus da febre aphtosa*; outros a elle adaptaveis, tanto do tegumento externo, como das mucosas ou do tubo gastro-intestinal e outros ainda vehiculados pelos alimentos ou pelos proprios tratadores.

Procurando pesquisar o comportamento desses differentes germes vimos fazendo, ha mais de um anno, detidas verificações, desprezando apenas a parte que diz respeito ao virus aphtoso em virtude da existencia de trabalho experimental completo a seu respeito.

#### Technica empregada

Tomamos em 4 de maio de 1932, como ponto de partida para o presente estudo, duas polpas em stock no Laboratorio Vaccinico da Secção de Virus do Butantan, de Nos. 4762 e 4767 e dellas destacamos determinado volume que inicialmente foi submettido a provas bacteriologicas e de verificação da actividade que resultaram a seguinte demonstração:



| No. da partida | Evolução da vaccina no vitello | Data da colheita da polpa | Verificações bacteriologicas e doseamento da actividade do virus                                                                                                   |                                                            | Observações                                                                                                                                                                                         |
|----------------|--------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 4762           | normal                         | 18-III-1932               | Data: 4-V-1932                                                                                                                                                     |                                                            | Os resultados dos exames de ambas as polpas indicaram perfeitas condições para emprego. Apenas elevado teor de colonias de germes banaes em razão do curto espaço de tempo de permanencia no frigo. |
|                |                                |                           | Inoculação em cobaia: Resultado negativo. Verificação de germes anaerobios pathogenicos: Resultado negativo.<br>No. de colonias de germes banaes por c.c. 800.000. | Methodo de Gins<br>Dil. 1/10.000 +++++<br>» 1/50.000 +++++ |                                                                                                                                                                                                     |
| 4767           | normal                         | 28-IV-1932                | Inoculação em cobaia: Resultado negativo. Verificação de germes anaerobios pathogenicos: Resultado negativo.<br>No. de colonias de germes banaes por c.c. 950.000. | Methodo de Gins<br>Dil. 1/10.000 +++++<br>» 1/50.000 +++++ |                                                                                                                                                                                                     |

De ambas as partidas de polpas distribuimos igual quantidade de 5 cc. em vidros apropriados de pequeno tamanho e em outros, de maior capacidade, um volume maior de 50 cc.. Nestes ultimos semeamos, ao mesmo tempo, 10 gottas de uma emulsão concentrada de culturas dos seguintes germes: estaphylococcus, estreptococcus (raças virulentas); b. da tuberculose (typos humano, bovino e equino); *Eberthella typhi*, *Salmonella paratyphi* e *Salmonella shottmülleri*; *Eberthella dysenteriae* v. Shiga; *Brucella abortus* (typo bovino) e *Brucella melitensis*; *Clostridium welchii* e germes esporulados: do tetano e do carbunculo (\*) (typos Fischer, B e B<sub>4</sub>).

Nos recipientes menores, contendo volume igual de 5 cc. de polpa, semeamos 1 gotta, separadamente, das mesmas emulsões acima referidas para estudo isolado do seu comportamento em symbiose com o virus vaccinico.

(\*) Em Janeiro de 1932.



Com as precauções necessárias foi todo esse material collocado no mesmo aparelho de frigo a  $-10^{\circ}\text{C}$  usado para depuração das nossas polpas e exames periodicos foram feitos com o fim de demonstrar a resistencia de cada um delles em associação com o virus e postos nas mesmas condições de ambiente por este exigidas.

A partir dessa data, 4 de maio de 1932, durante o periodo successivo de 3, 6, 9 e 12 meses fizemos verificações consecutivas não só quanto á actividade do virus vaccínico como também em relação á resistencia dos germes que a elle foram associados. O comportamento geral vae resumido nos dois quadros juntos e os respectivos protocollos de inculações em animaes apropriados, annexos ao presente trabalho.

### DISCUSSÃO E SUMMARIO

A possivel associação de germes pathogenicos ao virus vaccínico, em virtude da sua fonte de origem bovina, adoptada pelos mais importantes laboratorios do mundo, desperta em primeiro logar a preocupação quanto ao virus da febre aphtosa, molestia commum entre os nossos rebanhos e que pode ser transmittida ao homem.

Já comprovada a associação dos dois virus, deixamos por isto mesmo de parte o estudo especial do seu caso e em trabalho por nós anteriormente publicado de collaboração com S. Calazans (4) accentuamos que:

“E’ facto fora de qualquer duvida que numa mesma polpa vaccínica possam coexistir os dois virus, vaccínico e aphtoso, sem que uma longa permanencia em baixa temperatura exerça sobre qualquer delles influencia nociva. Alem dos trabalhos de Mohler e Rosenau (5) e das experiencias de M. Belin (6) sobre a conservação e exaltação da virulencia do virus aphtoso, por culturas simultaneas com o virus vaccínico, um estudo completo sobre o assumpto vem publicado nos “Annales” do Instituto Pasteur, deste anno, por Hellsbergen, provando que os dois virus, mantidos em baixa temperatura, guardam integralmente as suas propriedades especiaes”.

*Estaphylococcus* — Os estaphylococcus são encontrados regularmente na polpa vaccínica e para certos auctores, como Ponndorf (7) não representam germes pathogenicos tendo apenas papel preparador do terreno para o desenvolvimento do virus vaccínico. Sobre o assumpto, em trabalho que fizemos de collaboração com J. Travassos (8) demonstramos, á luz dos modernos conhecimentos, a invalidez desse conceito.

E’ certo que, no commum dos casos, as varias raças de estaphylococcus encontradas na vaccina não têm acção pathogenica para o homem; mas o desen-



volvimento da pustula vaccinica não está condicionado á sua presença. E' que o valor bactericida da glicerina e o longo periodo de permanencia da polpa em baixa temperatura, de  $-10^{\circ}\text{C}$  não são por si só capazes de extinguir, senão em parte, a flora de associação, como ficou demonstrado, pelas nossas verificações que as amostras pathogenicas de estaphylococcus sementeas ha mais de um anno na polpa mantiveram, pelo menos qualitativamente, a sua integridade.

*Streptococcus* — Provenientes tanto da pelle, como da saliva, muco nasal e fezes do vitello, varias especies de streptococcus podem attingir a area de vacinação e demonstrar a sua presença pelo maior ou menor gráo de reacção local que, por sua vez, indica desde logo cuidados especiaes para a colheita da polpa. Trabalhos de Belenky & Popowa (9) demonstraram que, na pelle dos vitellos, se encontram streptococcus, entre os quaes, *Streptococcus acidominimus* 34 % e *Streptococcus viridans bovis* 27 %. Depois de descreverem os A. A. as principais especies de streptococcus encontrados na saliva, muco nasal e fezes concluem que das experiencias de 54 culturas recentes de streptococcus do organismo dos vitellos, pertencentes a diversas especies, se comportam os mesmos para animaes de laboratorio como não pathogenicos. A inoculação experimental que fizemos nas duas polpas de Nos. 4762 e 4767 de algumas amostras virulentas de streptococcus mostrou que elles resistiram á acção depuradora da glicerina durante o periodo de mais de um anno comportando-se em condições de determinar intensa reacção geral e local nos animaes de experiencia, segundo demonstram os respectivos protocollos e photographia annexa.

*Germes do grupo coli-typhico-dysenterico* — Tambem os germes cujo habitat é o canal intestinal dos vertebrados podem, eventualmente, contaminar a polpa vaccinica. Experimentalmente elles se comportaram, como se vê dos quadros 1 e 2 apenas com persistencia para a *Escherichia coli*, ainda no prazo de 6 meses. Os demais não resistiram á acção conjugada do frigo e da glicerina.

*Tuberculose* — Ao lado da febre aphtosa, a tuberculose é sempre objecto de acurada preocupação na escolha do animal vaccinifero e ante a fallibilidade da prova de tuberculina a pesquisa necroscopica de alguma lesão tuberculosa deve ser revestida do maior cuidado. O temor de uma contaminação tuberculosa pela vaccina sempre existiu e na longa campanha contra ella chegou mesmo a ser invocada a theoria de que a vacinação preparava o terreno para a tuberculose.

Dentro da logica do moderno conceito da tuberculose seria de temer uma symbiose dos dois virus, mas assegurada a permanencia da polpa durante varios meses em baixa temperatura, como praticamos, está, por sua vez, garantida a destruição do bacillo da tuberculose, porventura associado ao virus vaccinico. As nossas verificações comprovaram a nullidade da resistencia do bacillo, quer do typo humano, como do bovino ou equino, a partir da primeira verificação, ao fim de tres meses. Devemos ainda assignalar que todos os cobaios empregados



nas provas de verificação de tuberculose foram previamente submettidos a provas de tuberculina.

*Germes esporulados — Tetano* — O bacillo tetânico e seu esporo constituem, realmente, serio perigo no preparo da vaccina. Ha condições muito propicias para que elle possa contaminar-a e a acção conjuncta da glycerina e baixa temperatura empregadas na depuração da polpa não chegam a influir na sua actividade pathogenica. Na propria literatura da vaccina são conhecidos casos de tetano consecutivos á vaccinação (10).

Demonstraram as nossas verificações que, tanto nas amostras de polpas contaminadas isoladamente com o bacillo tetânico, como na amostra semeada com a miscellanea de varios germes, a sua persistencia foi mantida perfeitamente integral ainda depois de um anno, com todas as suas propriedades pathogenicas.

*Carbunculo* — Apesar de bem conhecida a longevidade de resistencia dos esporos carbunculosos e estudada por numerosos auctores, em meio antiseptico e em baixa temperatura, esta longevidade não é conhecida com bastante precisão. Estudos de Seiffert (11) demonstraram grande valor bactericida da glycerina para todas as bacterias da lymphá vaccínica com excepção dos germes esporogenicos, em ensaios realizados, entretanto, durante algumas semanas apenas.

As nossas verificações tomadas, em relação a tres typos differentes de bacillo do carbunculo, tanto em conjuncto com outros germes, como isoladamente, em duas polpas vaccínicas differentes, ainda dentro do prazo de 12 meses, revelaram franco poder pathogenico de todos elles.



## EXPERIENCIA No. I — POLPA No. 4762

| — 1 — (*)<br>Polpa No. 4762 Vol. 50 cc.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | 1. <sup>a</sup> verif.<br>c/3 meses | 2. <sup>a</sup> verif.<br>6 meses | 3. <sup>a</sup> verif.<br>9 meses | 4. <sup>a</sup> verif.<br>1 anno | Observações                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| Preparada em 4 de maio de 1932 e semeada com 10 gottas da emulsão concentrada de cultura dos seguintes germes: estaphylococcus, estreptococcus (raças virulentas) bacillos da tuberculose (typos humano, bovino e equino) <i>Eberthella typhi</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> , <i>Salmonella schottmülleri</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Eberthella dysenteriae</i> , v. Shiga, <i>Clostridium welchii</i> , <i>Brucella melitensis</i> , bacillo do tetano e bacillo do carbunculo (typos Fischer B e B4). | +                                   | +                                 | +                                 | +                                | Actividade do virus integral |
| — 2 —<br>Mesma polpa No. 4762. Volume de 5 cc. mais 1 gota da emulsão de cultura de estaphylococcus.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | +                                   | +                                 | +                                 | +                                | „                            |
| — 3 —<br>Idem, idem, mais estreptococcus (raças virulentas).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 4 —<br>Idem, idem, mais bacillos da tuberculose. (Typos humano, bovino e equino).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 5 —<br>Idem, idem, mais <i>Eberthella typhi</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 6 —<br>Idem, idem, mais <i>Salmonella paratyphi</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 7 —<br>Idem, idem, mais <i>Salmonella schottmülleri</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 8 —<br>Idem, idem, mais <i>Escherichia coli</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 9 —<br>Idem, idem, mais <i>Eberthella dysenteriae</i> , v. Shiga.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 10 —<br>Idem, idem, mais <i>Clostridium welchii</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | +                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 11 —<br>Idem, idem, mais <i>Brucella abortus</i> e <i>melitensis</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | —                                   | —                                 | —                                 | —                                | „                            |
| — 12 —<br>Idem, idem, mais bacillo do tetano*                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | +                                   | +                                 | +                                 | +                                | „                            |
| — 13 —<br>Idem, idem, mais bacillo do carbunculo (typos Fischer B e B4)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             | +                                   | +                                 | +                                 | +                                | „                            |

(\*) Predominancia do bacillo do tetano até no periodo de um anno.



## EXPERIENCIA No. II — POLPA No. 4767

| — 1 — (*)<br>Polpa N.º 4767 Vol. 50 cc.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | 1.ª verif.<br>c/3 meses | 2.ª verif.<br>6 meses | 3.ª verif.<br>9 meses | 4.ª verif.<br>1 anno | Observações                  |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|------------------------------|
| Preparada em 4 de maio de 1932 e semeada com 10 gottas da emulsão concentrada de cultura dos seguintes germes: estaphylococcus, estreptococcus (raças virulentas) bacillos da tuberculose (typos humano, bovino e equino) <i>Eberthella typhi</i> , <i>Salmonella paratyphi</i> , <i>Salmonella schottmülleri</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Eberthella dysenteriae</i> , v. Shiga, <i>Clostridium welchii</i> , <i>Brucella melitensis</i> , bacillo do tetano e bacillo do carbunculo (typos Fischer B e B 4). | +                       | +                     | +                     | +                    | Actividade do virus integral |
| — 2 —<br>Mesma polpa No. 4767. Volume de 5 cc. mais 1 gotta da emulsão de cultura de estaphylococcus.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                | +                       | +                     | +                     | +                    | »                            |
| — 3 —<br>Idem, idem, mais estreptococcus (raças virulentas).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         | +                       | +                     | +                     | +                    | »                            |
| — 4 —<br>Idem, idem, mais bacillos da tuberculose. (Typos humano, bovino e equino).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 5 —<br>Idem, idem, mais <i>Eberthella typhi</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 6 —<br>Idem, idem, mais <i>Salmonella paratyphi</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 7 —<br>Idem, idem, mais <i>Salmonella schottmülleri</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 8 —<br>Idem, idem, mais <i>Escherichia coli</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 9 —<br>Idem, idem, mais <i>Eberthella dysenteriae</i> , v. Shiga.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 10 —<br>Idem, idem, mais <i>Clostridium welchii</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | +                       | +                     | +                     | +                    | »                            |
| — 11 —<br>Idem, idem, mais <i>Brucella abortus e melitensis</i> .                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | —                       | —                     | —                     | —                    | »                            |
| — 12 —<br>Idem, idem, mais bacillo do tetano.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | +                       | +                     | +                     | +                    | »                            |
| — 13 —<br>Idem, idem, mais bacillo do carbunculo (typos Fischer B e B 4).                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | +                       | +                     | +                     | +                    | »                            |

(\*) Predominancia do bacillo do tetano até no periodo de um anno.



## RESUMO

1. A flora normal das polpas vaccinicas, embora não exercendo papel indispensavel na formação da pustula, não constitue elemento nocivo, uma vez reduzida qualitativa e quantitativamente pela acção bactericida da glycerina ou por outros meios não prejudiciaes ao virus vaccinico.

2. Si o preparo da polpa não se reveste dos necessarios cuidados technicos, a esta flora podem estar accidentalmente associados germes dotados de pathogenicidade, como certos virus da febre aphtosa, germes do grupo coli-typhico-dysenterico e germes esporulados como o bacillo do tetano e bacillo do carbunculo.

3. Desta flora pathogenica accidental, com excepção dos germes do grupo coli-typhico-dysenterico e dos bacillos da tuberculose, os demais podem resistir, mesmo depois de um anno, ao poder bactericida da glycerina, quando mantidos na polpa, em temperatura de  $-10^{\circ}\text{C}$ .

## ABSTRACT

The normal flora although playing no necessary rôle in the pustule mechanism seems to exert no detrimental action on calf's vaccine lymph provided that it be conveniently reduced both qualitatively and quantitatively by the addition of glycerin or by some other way not harmful to the vaccine virus.

Some pathogenic germs such as the virus of foot-and-mouth disease, representatives of the coli-typhoid-dysenteric group, and tetanus, anthrax and tubercle bacilli, may be found accidentally associated with this flora in case the preparation of the vaccine is not made under technical precautions.

Of these germs only those of the coli-typhoid-dysenteric group and the tubercle bacillus are not able to resist the bactericidal action of glycerin over a year in a vaccine batch maintained at  $-10^{\circ}\text{C}$ .

## BIBLIOGRAPHIA

1. *Monteiro, J. Lemos & Godinho, Raul* — Do preparo da lympha vaccinica — Mem. Inst. Butantan V:3-23.1930.
2. *Godinho, Raul* — Da purificação da vaccina animal — Arch. Hygiene IV:75-79.1930.
3. *Camus, M. L.* — Rapport de la Commission permanente de la Vaccine sur plusieurs accidents graves imputés à la vaccination — Bull. Acad. Med. CVII:935.1932.
4. *Calazans, S. & Godinho, Raul* — Possibilidade de contaminação da lympha vaccinica pelo virus da febre aphtosa — Mem. Inst. Butantan VII:269-281.1932.



5. *Mohler, J. R. & Rosenau, M.* — Contamination of vaccine virus by the virus of foot-and-mouth diseases. — U. S. Dept. of Agriculture B. A. I. Circular 147, June 16, 1909.
6. *Belin, M.* — Conservation et exaltation de la virulence du virus aphteux par cultures simultanées avec le virus vaccinal — C. R. Soc. Biologie XCIV:816.1926.
7. *Ponndorf* — Le staphylococcus albus du vaccin — Rev. Internat. Vaccine IV(1): 114.1913.
8. *Travassos, J. & Godinho, Raul* — Influencia dos estaphylococcus sobre a actividade do virus vaccínico — Mem. Inst. Butantan VII:261-268.1932.
9. *Belenky, D. E. & Popowa, N. N.* — Streptococci of normal calves contaminating vaccine — Zentralbl. f. Bakt. Orig. CXVIII:435-444.1930.
10. ———— Deux cas de tetanos à la suite de la vaccination — New York. Med. Journal (6).1911 *cit. in* Rev. Internat. Vaccine II(3):395.1911-12.
11. *Seiffert, G* — Zentralbl. f. Bakt. Orig. LXXIV:644.1914.

(Trabalho da Secção de Virus e Virustherapia do Instituto Butantan, recebido em dezembro de 1933. Dado á publicidade em agosto de 1934).





Lesões produzidas pela vaccina normal (em cima) e pela vaccina contaminada (em baixo)