

## MODERNAS TECHNICAS

### DE PREPARO DA ANTITOXINA TETANICA

POR

J. LEMOS MONTEIRO E FLAVIO DA FONSECA

Grande tem sido nos ultimos annos o progresso da sorotherapia antitetanica e notavel a excellencia das antitoxinas produzidas pela technica moderna, em relacao ás obtidas com os processos menos recentes, o que trouxe como consequencia a progressiva melhora nas estatisticas da therapeutica do tetano.

O progresso observado nos ultimos annos originou-se das verificações basicas de Ramon (1) sobre o aumento do titulo antitoxicico do soro de cavallos que apresentavam, accidentalmente, um abcesso no ponto da inoculação da toxina diphterica no decurso da immunização. Procurando estabelecer um processo de immunização em que pudesse ser obtido experimentalmente um resultado iden-tico, este auctor verificou, após multiplos ensaios, que a addição, ao antigeno diphtericico, de pó de tapioca esterilizada provocava apparecimento de edema e affluxo leucocytario no ponto de inoculação, acompanhado de lenta absorção do antigeno, do que resultava producção muito mais intensa de antitoxina.

Applicando esse methodo nos animaes productores de soro antitetanico, verificaram Ramon e Descomby (2) que o teor em antitoxina dos cavallos assim immunizados augmentava tambem de modo notavel, tornando-se esse o processo de escolha para a obtenção de antitoxinas de alto valor.

Glenny, Pope, Waddington e Wallace, em 1926 (3), observaram que os precipitados insolueis obtidos das toxinas addicionadas de alum de potassio gozam de elevado poder antigenico; Ramon, em 1927 (4), demonstrou a possibilidade de obtenção de antitoxinas tetanicas dotadas de notavel acção neutralizante, por meio de immunização com anatoxina tetanica addicionada de pó de tapioca. Representam taes trabalhos outras tantas contribuições de mui alta valia para o progresso da sorotherapia antitetanica, porquanto desse modo ficava tambem reduzido de muito o prazo necessario á completa immunização dos animaes productores de antitoxina.

Esses resultados deram logar ao apparecimento, na literatura sorologica, de larga copia de artigos, todos tendentes a comprovar e ampliar as verificações fundamentaes que acima citámos.

## DE PREPARO DA ANTITOXINA TETANICA

### I

#### Immunização de cavallos por meio de toxina addicionada de alumínio de potassio

Acompanhando de perto o progresso realizado no particular, têm sido ensaiadas e estão em vigor no Instituto Butantan as technicas actualmente mais preconizadas para a obtenção das antitoxinas tetanicas, cujos titulos ultrapassam de muito os até ha pouco obtidos.

Representa esta nota a summula dos resultados verificados com a applicação, na 1.<sup>a</sup> phase da immunização de cavallos, de anatoxina adsorvida pelo alumínio de potassio, seguida de inoculações de toxina precipitada por essa mesma substancia.

Além dos resultados obtidos com essa technica, apresentamos tambem os observados com a applicação do methodo já em 1925 (5) aconselhado por Glenny, Pope, Waddington e Wallace, isto é, da instituição de um repouso de um mês que deve ser concedido aos animaes em inicio de immunização antitetanica, repouso que dá em resultado uma elevação notável do poder antitoxicó. Este methodo constitue um precursor da recente technica de Ramon e Lemétayer, vinda á luz em 1931 (6) e baseada na verificação de que os cavallos submettidos um anno antes á vaccinação antitetanica com anatoxina addicionada de tapioca, administrada em duas injecções de 10 c.c. seguidas por intervallo de um mês, forneciam, ao serem definitivamente immunizados, antitoxina de titulo que superava todos os outros processos até então utilizados. Experiencias nesse sentido foram tambem instituidas em Butantan, tendo sido feitas cerca de 250 immunizações preparatorias em cavallos, pela technica actualmente aconselhada.

O quadro seguinte mostra os titulos obtidos em alguns animaes antes e depois de utilizada a technica da adição de alumínio de potassio a 0gr.,5% aos antigenos tetanicos.

	Antitoxina obtida antes de utilizar o methodo de Glenny et al.	Antitoxina obtida depois de utilizar o methodo de Glenny et al.
1	100	1000
2	100	1000
3	100	1000
4	100	1000
5	100	1000
6	100	1000
7	100	1000
8	100	1000
9	100	1000
10	100	1000
11	100	1000
12	100	1000
13	100	1000
14	100	1000
15	100	1000
16	100	1000
17	100	1000
18	100	1000
19	100	1000
20	100	1000
21	100	1000
22	100	1000
23	100	1000
24	100	1000
25	100	1000
26	100	1000
27	100	1000
28	100	1000
29	100	1000
30	100	1000
31	100	1000
32	100	1000
33	100	1000
34	100	1000
35	100	1000
36	100	1000
37	100	1000
38	100	1000
39	100	1000
40	100	1000
41	100	1000
42	100	1000
43	100	1000
44	100	1000
45	100	1000
46	100	1000
47	100	1000
48	100	1000
49	100	1000
50	100	1000
51	100	1000
52	100	1000
53	100	1000
54	100	1000
55	100	1000
56	100	1000
57	100	1000
58	100	1000
59	100	1000
60	100	1000
61	100	1000
62	100	1000
63	100	1000
64	100	1000
65	100	1000
66	100	1000
67	100	1000
68	100	1000
69	100	1000
70	100	1000
71	100	1000
72	100	1000
73	100	1000
74	100	1000
75	100	1000
76	100	1000
77	100	1000
78	100	1000
79	100	1000
80	100	1000
81	100	1000
82	100	1000
83	100	1000
84	100	1000
85	100	1000
86	100	1000
87	100	1000
88	100	1000
89	100	1000
90	100	1000
91	100	1000
92	100	1000
93	100	1000
94	100	1000
95	100	1000
96	100	1000
97	100	1000
98	100	1000
99	100	1000
100	100	1000
101	100	1000
102	100	1000
103	100	1000
104	100	1000
105	100	1000
106	100	1000
107	100	1000
108	100	1000
109	100	1000
110	100	1000
111	100	1000
112	100	1000
113	100	1000
114	100	1000
115	100	1000
116	100	1000
117	100	1000
118	100	1000
119	100	1000
120	100	1000
121	100	1000
122	100	1000
123	100	1000
124	100	1000
125	100	1000
126	100	1000
127	100	1000
128	100	1000
129	100	1000
130	100	1000
131	100	1000
132	100	1000
133	100	1000
134	100	1000
135	100	1000
136	100	1000
137	100	1000
138	100	1000
139	100	1000
140	100	1000
141	100	1000
142	100	1000
143	100	1000
144	100	1000
145	100	1000
146	100	1000
147	100	1000
148	100	1000
149	100	1000
150	100	1000
151	100	1000
152	100	1000
153	100	1000
154	100	1000
155	100	1000
156	100	1000
157	100	1000
158	100	1000
159	100	1000
160	100	1000
161	100	1000
162	100	1000
163	100	1000
164	100	1000
165	100	1000
166	100	1000
167	100	1000
168	100	1000
169	100	1000
170	100	1000
171	100	1000
172	100	1000
173	100	1000
174	100	1000
175	100	1000
176	100	1000
177	100	1000
178	100	1000
179	100	1000
180	100	1000
181	100	1000
182	100	1000
183	100	1000
184	100	1000
185	100	1000
186	100	1000
187	100	1000
188	100	1000
189	100	1000
190	100	1000
191	100	1000
192	100	1000
193	100	1000
194	100	1000
195	100	1000
196	100	1000
197	100	1000
198	100	1000
199	100	1000
200	100	1000
201	100	1000
202	100	1000
203	100	1000
204	100	1000
205	100	1000
206	100	1000
207	100	1000
208	100	1000
209	100	1000
210	100	1000
211	100	1000
212	100	1000
213	100	1000
214	100	1000
215	100	1000
216	100	1000
217	100	1000
218	100	1000
219	100	1000
220	100	1000
221	100	1000
222	100	1000
223	100	1000
224	100	1000

N.º do cavalo	Maior titulo obtido na imunização por anatoxina seguida de toxina pura	Maior titulo obtido após adição de Ogr. 5% de alumínio à anatoxina e à toxina
501	200 u. a. por c.c.	600 u. a. por c.c.
504	200 u. a. por c.c.	400 u. a. por c.c.
506	200 u. a. por c.c.	400 u. a. por c.c.
510	? u. a. por c.c.	1500 u. a. por c.c.
512	100 u. a. por c.c.	500 u. a. por c.c.
516	350 u. a. por c.c.	900 u. a. por c.c.
518	250 u. a. por c.c.	1000 u. a. por c.c.
520	400 u. a. por c.c.	900 u. a. por c.c.
524	200 u. a. por c.c.	500 u. a. por c.c.
525	150 u. a. por c.c.	800 u. a. por c.c.
527	350 u. a. por c.c.	1400 u. a. por c.c.
528	200 u. a. por c.c.	800 u. a. por c.c.
529	550 u. a. por c.c.	1000 u. a. por c.c.
530	300 u. a. por c.c.	600 u. a. por c.c.

Legenda: u. a. — unidade antitoxica expressa de acordo com o metodo de Rosenau e Anderson.

Segundo se deprehende do quadro acima, dos 14 cavalos em que foi feita a experiencia, todos apresentaram aumento extraordinario do titulo antitoxico, tendo triplicado a media geral dos valores. No caso do cavalo n. 510 não foi estabelecido o limite maximo da dosagem anterior, apenas existindo nos protocollos a verificação de ter o seu soro doseado 100 u. a..

## II

### Augmento do poder antitoxicó do plasma de animaes submettidos a repouso de um mês no inicio da immunização

Em outra experencia, destinada a pôr em pratica a technica do repouso no inicio da immunização, foram tomados 2 cavallos novos (ns. 536 e 537), cuja immunização obedeceu á seguinte norma:

50 c.c. anatoxina tetanica + alum de potassio a 1 %  
 150 c.c. anatoxina tetanica + alum de potassio a 0,5%  
 300 c.c. anatoxina tetanica + alum de potassio a 0,5%

Estas injecções eram separadas por 8 dias de intervallo.

Após 1 mês de repouso, foi iniciada a immunização com toxina, segundo a tabella abaixo, com inoculações separadas por uma semana de intervallo:

50 c.c. toxina tetanica + alum de potassio a 0,5%  
 100 c.c. toxina tetanica + alum de potassio a 0,5%  
 200 c.c. toxina tetanica + alum de potassio a 0,5%  
 300 c.c. toxina tetanica + alum de potassio a 0,5%  
 400 c.c. toxina tetanica + alum de potassio a 0,5%

Sangrados 15 dias após a ultima inoculação, verificou-se o titulo de 800 u.a. para o cavallo n. 536 e 1000 u.a. para o de n. 537. Fizeram-se mais 3 sangrias acompanhadas da inoculação de 500 c.c. de toxina e alum, seguida de 15 dias de intervallo, tendo sido os mais altos titulos obtidos o de 1400 u.a. para o n. 536 e o de 1500 u.a. para o n. 537.

O cavallo n. 537, depois do repouso de 5 meses, submetido a reimunização com 30, 50, 100, 150, 300 e 350 c.c. de toxina + alum de potassio a Ogr., 5% forneceu, 15 dias após a ultima injecção, soro de 1600 u.a..

Os titulos antitoxicos assinalados são representados em Unidades Americanas, de acordo com o methodo de dosagem de Rosenau e Anderson, adoptado entre nós, o qual representa o dobro de Unidades Internacionaes, designação esta ultima aceita pelo Comité de Hygiene da Liga das Nações e que figura em muitos soros encontrados no commercio. O conhecimento desta distincção é de grande importancia para o medico, em beneficio proprio e do seu doente.

## RESUMO

A immunização de 14 cavalos productores de soro antitetânico, a princípio com anatoxina + alumínio de potassio e, em seguida, com toxina + alumínio de potassio, determinou no título antitóxico dos soros grande aumento, cuja media foi de cerca de 3 vezes. A immunização de 2 cavalos novos apenas com 3 injecções de anatoxina + alumínio, seguidas, após repouso de 1 mês, de inoculações semanais e crescentes de toxina + alumínio de potassio, originou títulos de 1400 e 1500 u.a., durando somente 90 dias todo o período da immunização. Os títulos antitóxicos são figurados em *unidades americanas* que correspondem ao dobro de *unidades internacionais*.

## ABSTRACT

Two small groups of horses were immunized for the production of tetanus antitoxin following Ramon's tecnic of mixing the antigen with potassium alun so as to retard its absorption. A first group of 14 horses were given first toxoid (anatoxin) + potassium alun and later on toxin + potassium alun with the result that the antitoxic titer of their serum became about three times as strong as at the previous immunization with pure anatoxin and toxin. A second group of 2 horses were given a preparatory series of 3 injections of toxoid + alun and a rest of 1 month, whereupon they were inoculated with weekly and increasing doses of toxin + alun; the titer of their serum attained, respectively, 1400 and 1500 a. u. as expressed in "American units" which are twice as strong as the "International units" and their immunization lasted only 90 days.

## BIBLIOGRAPHIA

1. Ramon, G. — Sur la production de l'antitoxine diphtérique in C. R. Soc. Biologie XCIII:506.1925; C. R. Acad. Sciences CLXXXI:157.1925.
  2. Ramon, G. & Descombes, P. — Sur l'immunisation antitétanique et sur la production de l'antitoxine téstanique — C. R. Soc. Biologie XCIII:508.1925.
  3. Glenny, A. T., Pope, C. G., Waddington, H. & Wallace, U. — XXIII. The antigenic value of toxoid precipitated by potassium alum — J. Path. and Bacteriology XXIX:38.1926.
  4. Ramon, G. — Sur la production des antitoxines — C. R. Acad. des Sciences CLXXXI:157.1925.
  5. Glenny, A. T., Pope, C. G., Waddington, H. & Wallace, U. — Immunological notes, J. Path. and Bacteriology XXVIII:463.1925.
  6. Ramon, G. & Lemétayer, E. — Sur l'aptitude à la production de l'antitoxine téstanique de chevaux antérieurement vaccinés contre le téstanos — C. R. Soc. Biologie CVI(1):21.1931. Sur une méthode de production intensive de l'antitoxine téstanique — C. R. Soc. Biologie CVI(1):23.1931.

(Trabalho da Secção de Immunologia do Instituto Butantan, terminado em dezembro de 1931 e comunicado à Semana de Laboratorio da Soc. Med. Cirurgia, S. Paulo, janeiro de 1932).