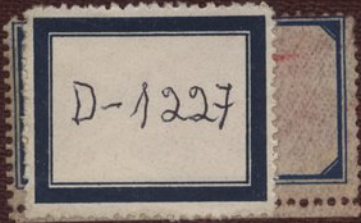


E. MARIO DA ROSA

CUTI-IMUNISAÇÃO
DO CARBUNCULO BACTERIDICO

1928



D-1227

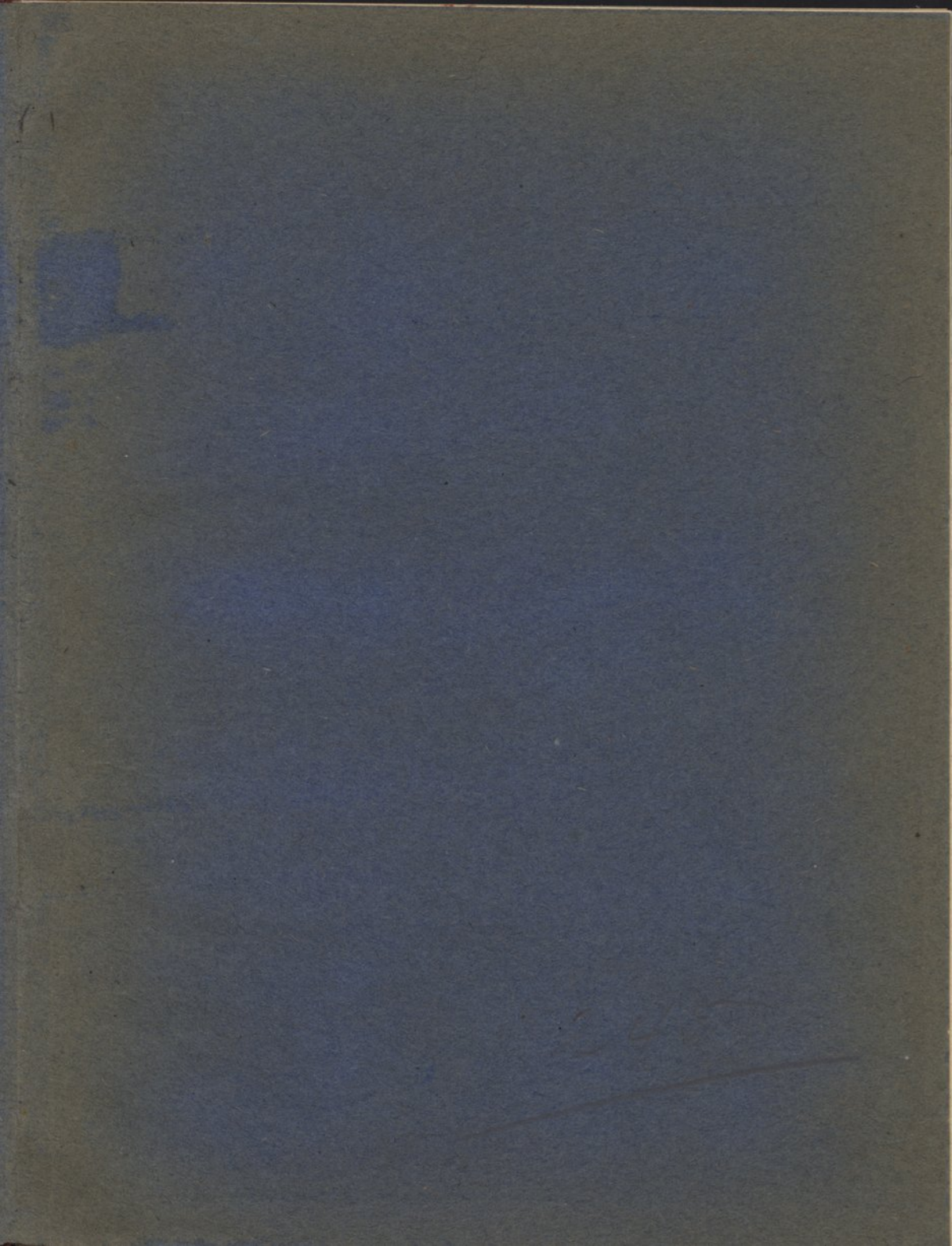
ARRUMAÇÃO

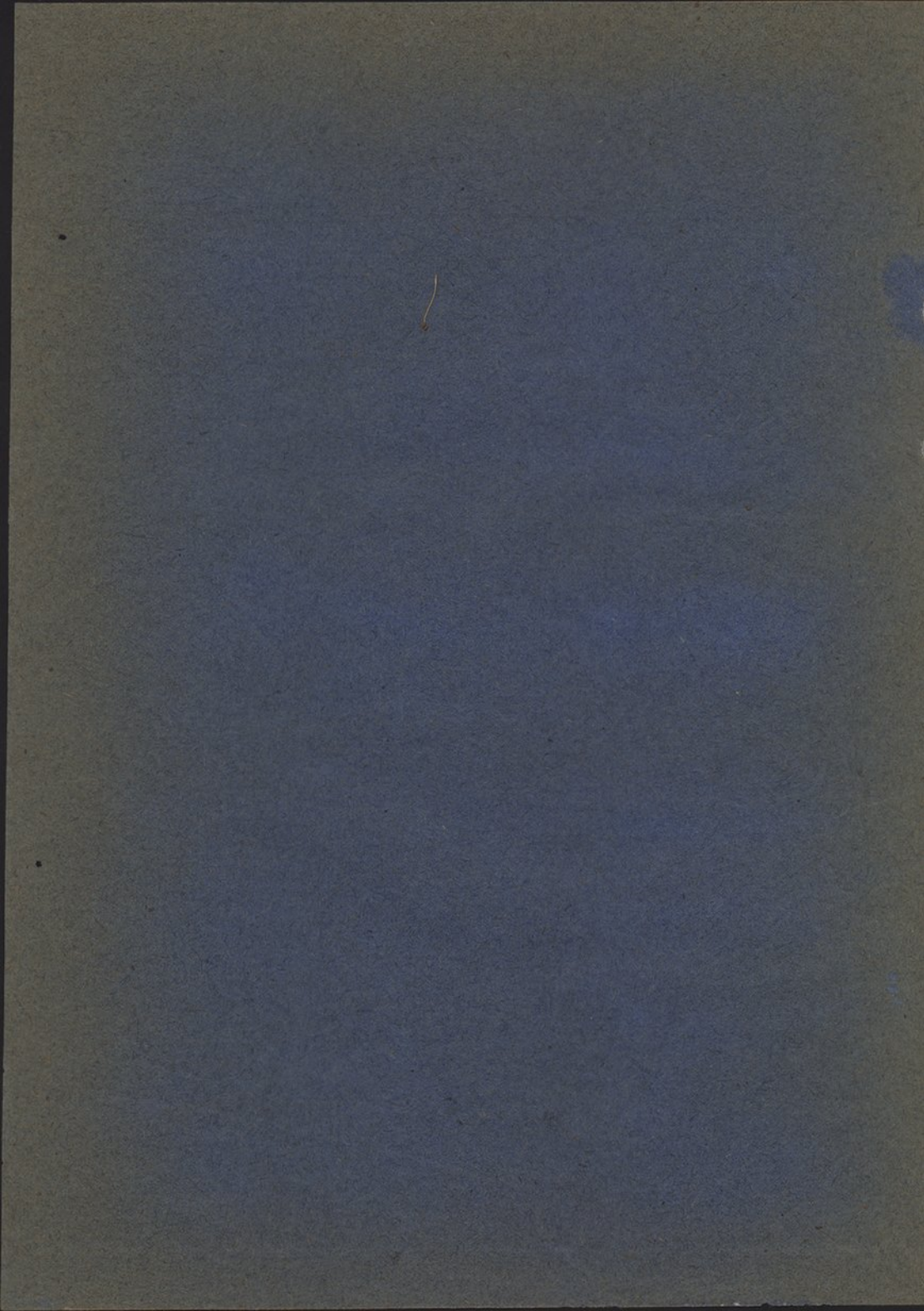
Estante 1 26

Prateleira 5

N.º de Ordem 245

Maço de verbetes N.º







CUTI-IMUNISAÇÃO DO CARBUNCULO BACTERÍDICO

Teus Antigas FIV
1928, cx. 26, n.º 295

CUTIMUNISACAO

DO

GABRIELINO BAPTISTINO

DE FORTALEZA DE BARCELONA (CUBA)

TRINIDAD DE CUBA DE 1850

114. DE FORTALEZA DE BARCELONA

DE FORTALEZA DE BARCELONA

1850

ESCOLA SUPERIOR DE MEDICINA VETERINARIA



2668

CUTI-IMUNISAÇÃO DO CARBUNCULO BACTERÍDICO

TÉSE DE DOUTORAMENTO
DE
FRANCISCO MÁRIO DA ROSA

ARRUMAÇÃO	Estante	5
	Prateleira	
	N.º de Ordem	300
	Maço de verbetes N.º	



ESCOLA SUPERIOR DE
MEDICINA VETERINÁRIA
19 JUL 1975
BIBLIOTECA
N.º 2984

1928
TIP. HENRIQUE TORRES
279, Rua de S. Bento, 279
LISBOA

ESCOLA SUPERIOR DE MEDICINA VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA
CATEDRA DE ANATOMIA Y FISIOLOGIA

1. El sistema digestivo tiene por función transformar los alimentos en nutrientes que puedan ser absorbidos y utilizados por el organismo.
2. El tracto digestivo está formado por la boca, esófago, estómago, intestinos delgado y grueso, y ano.
3. La digestión comienza en la boca con la masticación y la acción de la saliva.
4. En el estómago se produce la digestión química de los alimentos gracias a la acción de los jugos gástricos.
5. Los nutrientes son absorbidos en el intestino delgado y transportados al hígado y al resto del organismo.
6. El intestino grueso absorbe agua y electrolitos, formando las heces.
7. El ano es el punto final del tracto digestivo.
8. El sistema digestivo está regulado por el sistema nervioso y el sistema endocrino.

9. El sistema digestivo es un sistema complejo que requiere de una gran cantidad de energía para su funcionamiento.
10. El sistema digestivo es un sistema que está sujeto a enfermedades y trastornos.
11. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores ambientales y dietéticos.
12. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores genéticos.
13. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores hormonales.
14. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores psicológicos.
15. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores infecciosos.

16. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores tóxicos.
17. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores traumáticos.
18. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores quirúrgicos.
19. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores farmacológicos.
20. El sistema digestivo es un sistema que puede ser afectado por factores iatrogénicos.

ESCOLA SUPERIOR DE MEDICINA VETERINÁRIA

— IIIII —

DIRECTOR — DR. JOÃO VIEGAS PAULA NOGUEIRA
SECRETÁRIO — DR. AUGUSTO DE ABREU LOPES

CADEIRAS

- 1.^a — Anatomia descritiva comparada dos animais domésticos
- 2.^a — Histologia normal e anatomia patológica comparada
- 3.^a — Fisiologia geral e especial comparadas
- 4.^a — Bacteriologia geral. Higiene dos animais domésticos.
- 5.^a — Farmacologia e terapêutica dos animais domésticos
- 6.^a — Patologia externa, Obstetria, Podologia
- 7.^a — Patologia interna
- 8.^a — Zootécnica, Economia rural.
- 9.^a — Patologia das doenças contagiosas. Policia sanitaria. Deontologia. Medicina legal. Inspeção sanitária dos animais de talho
- 10.^a — Patologia exótica. Higiene colonial
- 11.^a — Clínica médica. Autopsias.
- 12.^a — Clínica cirúrgica.

PROFESSORES

- Dr. Antonio Correia da Silva Rosa
- » António Teixeira de Lencastre
 - » Idalino Rodrigues Gondin
 - » Miguel Augusto Reis Martins
 - » Godofredo da Silva Santos
 - » Manoel F. Marques
 - » António Teixeira de Lencastre
 - » José Miranda do Vale
-
- » João Viegas Paula Nogueira
- „ Ildelfonso Borges
 - „ Augusto de Abreu Lopes
 - „ Manuel F. Marques

CURSOS

- 1.^o — Anatomia topográfica. Embriologia e Teratologia
- 2.^o — Física biológica e médica. Microscopia
- 3.^o — Química biológica e médica. Análise química e toxicológica
- 4.^o — Patologia geral comparada. História da medicina. Análise de produtos alimentares de origem animal
- 5.^o — Estudo especial das plantas medicinais e forraginosas
- 6.^o — Propedêutica cirúrgica. Medicina operatória
- 7.^o — Propedêutica médica
- 8.^o — Exterior dos animais domésticos
- 9.^o — Clínica das doenças contagiosas
- 10.^o — Zoologia e parasitologia
- 11.^o — Clínica médica do Banco
- 12.^o — Clínica cirúrgica do Banco

- Dr. Antonio Correia da Silva Rosa
- » Idalino Rodrigues Gondin
 - » Idalino Rodrigues Gondin
 - » Miguel Augusto Reis Martins
 - » Godofredo da Silva Santos
 - » Manoel F. Marques
 - » Antonio Teixeira de Lencastre
 - » José Miranda do Vale
 - » João Viegas Paula Nogueira
 - » Ildelfonso Borges
 - » Augusto de Abreu Lopes
 - » Manuel F. Marques

A Escola não se responsabiliza nem pelas doutrinas, nem pelos trabalhos relatados nesta tese. (Artigo 60.^o do Regulamento de 28 de Junho de 1919).

TABLE OF CONTENTS

CONTENTS

1. Introduction	1
2. The Role of the Veterinarian	2
3. The History of Veterinary Medicine	3
4. The Principles of Veterinary Medicine	4
5. The Practice of Veterinary Medicine	5
6. The Importance of Veterinary Medicine	6
7. The Future of Veterinary Medicine	7
8. The Role of the Veterinarian in Society	8
9. The Role of the Veterinarian in the Community	9
10. The Role of the Veterinarian in the Home	10
11. The Role of the Veterinarian in the Workplace	11
12. The Role of the Veterinarian in the School	12
13. The Role of the Veterinarian in the Church	13
14. The Role of the Veterinarian in the Government	14
15. The Role of the Veterinarian in the Military	15
16. The Role of the Veterinarian in the Space Program	16
17. The Role of the Veterinarian in the Environmental Movement	17
18. The Role of the Veterinarian in the Animal Rights Movement	18
19. The Role of the Veterinarian in the Human Rights Movement	19
20. The Role of the Veterinarian in the Peace Movement	20

21. The Role of the Veterinarian in the Arts	21
22. The Role of the Veterinarian in the Sports Industry	22
23. The Role of the Veterinarian in the Entertainment Industry	23
24. The Role of the Veterinarian in the Media	24
25. The Role of the Veterinarian in the Internet	25
26. The Role of the Veterinarian in the Mobile Phone Industry	26
27. The Role of the Veterinarian in the Social Media Industry	27
28. The Role of the Veterinarian in the Video Game Industry	28
29. The Role of the Veterinarian in the Music Industry	29
30. The Role of the Veterinarian in the Film Industry	30
31. The Role of the Veterinarian in the Television Industry	31
32. The Role of the Veterinarian in the Radio Industry	32
33. The Role of the Veterinarian in the Print Industry	33
34. The Role of the Veterinarian in the Publishing Industry	34
35. The Role of the Veterinarian in the Book Industry	35
36. The Role of the Veterinarian in the Magazine Industry	36
37. The Role of the Veterinarian in the Newspaper Industry	37
38. The Role of the Veterinarian in the Journal Industry	38
39. The Role of the Veterinarian in the Academic Industry	39
40. The Role of the Veterinarian in the Research Industry	40

TABLE OF CONTENTS

PROLOGO

Ao escolher assunto para a minha t ese, despertaram-me a aten ao as modernas teorias da imunisa o local, que para a medicina-veterin ria, possuem um grande interesse.

As ideias de Besredka, posto que susceptiveis de contradicta, como ele proprio confessa, principalmente no que diz respeito   interpreta o dos fenomenos observados, s o de um valor incontestavel quando as transportamos para o campo da aplica o pr tica.

Entre as doen as que beneficiaram desta aplica o conta-se o carbunculo, cuja profilaxia muito nos interessa, pois que, sendo uma doen a que em Portugal grassa, espor dica ou epizooticamente, causa por ano um elevado numero de perdas na pecu ria nacional.

Tratando-se pois de um assunto de grande actualidade e utilidade, resolvi versar a Cuti-imunisa o do carbunculo bacteridico, como tema da minha disserta o inaugural.

No primeiro e segundo capitulos procuro apresentar as teorias da imunisa o local, citando grande numero de factos experimentais e de aplica o pr tica em que essas teorias se baseiam.

O terceiro capitulo   mais propriamente reservado para tratar do ponto em que elas interessam   profilaxia car-

bunculosa, e apresenta os resultados de algumas experiencias realizadas com o fim de verificar os efeitos da intra-dermo-vacinação no cobaia e no carneiro.

É-me grato registrar aqui que, apesar do nosso meio não ser propicio á investigação scientifica, devido sobretudo ás pequenas dotações dos nossos laboratórios officiais, encontrei apenas boas ventades da parte de todos, tanto na Escola como no Laboratório de Patologia Veterinária.

Á amabilidade do Sr. Prof. Paula Nogueira, Director do nosso laboratorio de bacteriologia, e do Sr. Dr. Agueda Ferreira, Director do Laboratorio de Patologia Veterinaria, devo a cedencia do material com que trabalhei. O primeiro pondo á minha disposição o laboratorio da Escola e cedendo-me todos os cobaias, o segundo encomendando carneiros propositadamente para as minhas experiencias e permitindo-me igualmente que trabalhasse no estabelecimento official que tão dignamente dirige.

Devo tambem ao Sr. Prof. Reis Martins os seus conselhos e o interesse que sempre mostrou pelo meu trabalho e aos Srs. Dr. Brito Vasques e Dr. Ribeiro Batista a grande paciencia de que se revestiram para me auxiliar.

A todos deixo aqui bem gravado o meu grande reconhecimento.

Natal de 1928.

Francisco Mário da Rosa.

CAPITULO I

Infecção e imunidade local

Besredka, o sábio investigador que tão brilhantemente se tem dedicado ao estudo da bacteriologia, veio, com os seus trabalhos, lançar uma série de conhecimentos novos sobre o mecanismo da infecção e da imunidade.

Começando pelo carbunculo bacterídico observou que a vacinação contra esta doença, tão difícil de obter no cobaia, como demonstraram Koch, Gaffky, Loeffler e outros, se consegue facilmente, desde que a vacina seja aplicada em injeção intradérmica, ou simplesmente em penso sobre a superfície cutânea primeiramente barbeada.

E, coisa interessante, o cobaia, animal tão sensível ao carbunculo, póde suportar doses enormes de virus desde que a pele seja conservada integra.

Por pesquisas muitas delicadas, depois confirmadas por outros autores, viu que doses de bacterídeas, mais de cem vezes mortais, injectadas na traqueia, no peritoneo, no intestino, no cérebro e noutros órgãos, não provocavam ao animal o mínimo incomodo visível.

Em razão destes factos Besredka perguntou, se a receptividade do cobaia para o carbunculo não residiria principalmente, senão unicamente, no seu aparelho cutâneo !

Assim, o cobaia a que se inocula o virus carbunculoso

não morre de septicémia, como se julgava, mas de uma cuti-infecção inicial, ou antes uma cuti-intoxicação, a que se segue secundariamente o estado septicémico.

Perante esta concepção compreende-se sem dificuldade a razão porque o cobaia cutivacinado acusa uma imunidade geral. É que, no organismo deste animal, existe um órgão por excelencia sensível ao carbunculo: a pele. Vacinada ela, o organismo opõe ao virus a resistência da sua barreira cutânea tornada insensível e, ao mesmo tempo, a indiferença dos seus outros órgãos.

O cobaia que primeiramente suportou no peritoneo, na traqueia, etc., grandes doses de virus, não adquire por essa razão a mais pequena imunidade, como se nunca tivesse estado em contacto com a bacterídea. Parece que este micróbio, não penetrando pela pele, é rapidamente fagocitado e digerido. Tão rapidamente que o animal quasi não chega a aperceber-se dele, não conservando a mínima recordação da sua passagem — nem doença, nem imunidade.

Vê-se pois, que a imunisação e a não imunisação marcham a par com a sensibilidade ou a não sensibilidade do organismo para o virus. «Assim, a cuti-imunidade é a réplica do organismo á cuti-infecção». (1)

Continuando os seus estudos, Besredka observou que o sangue do cobaia cutivacinado não encerra anticorpos capazes de proteger um animal não vacinado, contra o carbunculo.

A imunidade e a infecção parecem pois ser fenómenos puramente locais, residindo, segundo todas as probabilidades, apenas ao nível do órgão receptor — a pele.

«Impõe-se então uma nova noção no que diz respeito

(1) A. Besredka — Immunisation locale.

ao mecanismo da infecção e da imunidade : é a noção da *autonomia dos órgãos*. Cada vez que nos encontramos em presença dum agente infeccioso ou tóxico, habituemo-nos a perguntar não sómente se um dado animal lhe é sensível, mas ainda se ele não possui um órgão particularmente receptor.

Preguntemos mais, se imunizando electivamente esse órgão não chegaremos a obter a imunidade onde os processos de vacinação corrente tenham falhado». (1)

*

* * *

Seguindo nesta ordem de ideias, Besredka viu que o peritoneo suportava milhares de doses de vacina jeneriana sem imunisar o animal.

Mas, bastava provocar uma leve escoriação da pele para que se vissem aparecer as vesículas características.

É então evidente que, ainda neste caso, é a pele o órgão de eleição para o virus.

Em relação aos estafilococcus e estreptococcus, verificou-se também que a pele e as mucosas são os tecidos de passagem, as portas por onde o virus tem que entrar e para as quais sente uma afinidade especial.

É sabido que a vacinação anti-estafilococica e estreptococica é muito difícil de obter quando se seguem os métodos clássicos.

Pois Besredka demonstrou que essa imunidade é das mais fáceis de conseguir, desde que nos dirijamos á pele.

(1) Loco citato.

Basta que as culturas velhas, ou os seus filtrados, sejam aplicados em penso sobre a pele barbeada, ou em injeção intradérmica, para que a imunisação se dê. Esta é puramente local e tanto mais forte quanto mais vasta é a superfície cutânea interessada pela vacinação (cuti-vacinação em superfície).

Os filtrados das culturas são ainda activos quando aquecidos durante trinta minutos a 100° ou vinte minutos a 120° e têm uma acção inibidora especial sobre as culturas da espécie microbiana de que provêm.

Tem, além disso, a propriedade de se difundir no meio ambiente.

Parece então que existe no interior do estafilococcus, ao lado de um virus sensível ao calor, aderente ao corpo microbiano e responsável pelas lesões e pela morte por ele produzidas, uma outra substância, atóxica, insensível ao calor, que se destaca facilmente da célula bacterica e que funciona á maneira de antagonista.

Para denominar esta substância, Besredka criou o termo «Antivirus». «Saídos do estafilococcus, virus e antivirus, são estrictamente específicos ; possuem os dois uma afinidade electiva para o aparelho cutâneo».

Quanto ás afecções intestinais, febre tifoide, desinteria e cólera, a experiência veio mostrar que os virus correspondentes, seja qual fôr a sua porta de entrada no organismo, se dirigem sempre para o intestino que é o seu órgão receptor.

Se injectarmos na veia marginal da orelha do coelho, isto é, tão longe quanto possível do intestino delgado, uma dóse mortal de cultura de bacilo de Shiga, o agente patogénico da desinteria, e se, umas horas depois, sacrificarmos o animal, observamos o seguinte : os órgãos, o sangue e as urinas, estão absolutamente isentos do virus

injectado, e as suas culturas são negativas. Pelo contrário, o intestino delgado, em qualquer segmento que fizemos as colheitas, apresenta sempre uma cultura pura de bacilos de Shiga.

Se repetirmos a experiência, mas deixarmos morrer o animal, verificamos coisa semelhante. Apenas na vesícula biliar e em toda a extensão do intestino delgado encontramos o vírus desintérico. E observamos também que, enquanto os outros órgãos conservam a sua aparência normal, o intestino apresenta-se congestionado, cheio de um líquido viscoso e esverdeado, onde habitam quasi exclusivamente os micróbios que inoculamos.

Se, em vez da desintéria, se tratar da febre tifoide, observamos, depois da inoculação intravenosa do bacilo de Eberth, seu causador, que o drama tífico se passa principalmente ao nível do intestino e da vesícula biliar.

Daqui, Besredka tirou a conclusão de que o vírus pode atravessar os tecidos e o sangue sem incomodar o animal e que, mercê duma atracção especial para o intestino, foi acantonar-se neste órgão provocando uma infecção local.

O coelho é, porém, muito resistente á inoculação do vírus tífico *per os*. Besredka pensou que este facto residiria na defesa da parede intestinal, cujo inducto mucoso evitaria o contacto do vírus com o seu órgão receptor. De resto, o mesmo sucede á pele que só depois de barbeada contrai a infecção ou a imunidade. Para *barbear* a mucosa, lembrou-se de utilizar a bilis de boi que, pelas suas propriedades colagogas, evita a coagulação do mucus pela mucinase e produz uma verdadeira descamação epitelial.

Administrando a cultura virulenta depois desta prévia sensibilização, Besredka observou que o coelho contraía a infecção e que, mais uma vez, o bacilo de Eberth se ia alojar no intestino delgado.

Estas experiências foram repetidas por Masaki com o vibrião colérico, produtor do cólera, e este autor verificou que também esta doença era uma afecção local do intestino. Horowitz-Wlassova e Pirojnikowa, sensibilizando cobaias e administrando lhes depois o vibrião, verificaram igualmente a infecção local e o mesmo observaram Klukhine e Wigodchikoff no coelho.

Descoberta a infecção local do intestino, Besredka pensou em obter a vacinação local, como para o carbunculo ou os estafilococcus, e, depois de laboriosas experiencias, conseguiu o almejado fim.

Bastava deixar envelhecer as culturas de bacilo de Eoerth, matá las pelo calôr a 60° durante 1 hora e administrá-las, depois da sensibilização pela bilis, para que o coelho resistisse vitoriosamente a todas as tentativas de inoculação por via oral, cutânea, peritoneal, venosa, etc.

Adaptado o processo ao homem entrou-se definitivamente na posse de um método seguro e simples de nos vacinarmos não só contra a febre tifoide, mas também contra a desinteria e o cólera.

Hoje, a bilivacinação está sendo largamente empregada em quasi todo o mundo e os seus resultados têm sido os mais proveitosos. Em Portugal, o Instituto Pasteur lançou no mercado uma preparação, a Bilivacina, feita com culturas de estirpes portugêsas e, mais uma vez, se revelou a simplicidade, a inocuidade e a eficacia da tecnica de Besredka.

Em Italia, perante os seus resultados absolutamente seguros, o governo decretou a obrigatoriedade da bilivacinação.



O carbunculo bacterídico foi por muito tempo considerado como o verdadeiro tipo da infecção sanguínea.

Os principais factores que faziam pensar na natureza septicémica desta doença eram a quantidade e a generalização das lesões observadas na necropsia dos cadáveres de animais carbunculosos, o grande número de bacterídeas encontradas no sangue e a enorme esplenomegalia.

Nocard e Leclainche escreviam em 1903, «a injeção intravenosa constitui um dos processos mais severos para provocar a infecção».

As modernas teorias da imunidade local vieram contra esta maneira de vêr e, por isso, muitos biólogos se tem dedicado ao contróle dos trabalhos de Besredka, no intuito de verificar e exactidão dos seus resultados.

Este autor demonstrou que a pele é o unico órgão sensível ao carbunculo. O coelho e o cobaia podem suportar a inoculação de fortes doses de virus, mesmo por via intravenosa, desde que tenhamos o cuidado de não conspurcar a pele.

Balteano demonstrou também que estes animais resistem á injeção de bacterídeas directamente no sangue. Tendo inoculado coelhos com 1/2 cc. de cultura de carbunculo de 24 horas, na veia marginal da orelha, de maneira a não infectar o tecido cutâneo, não observou nenhum caso de morte entre os animais tratados.

A inocuidade da via intravenosa foi também demonstrada por Brocq-Rousseu e Urbain e por Combiesco e Basset, embora estes dois ultimos autores admitam que as doses exageradas possam provocar a morte.

Mais modernamente, Newodoff, Wladimirski, Weintrob, Pinous, Anfiloff e Froloff, demonstraram que o cavalo é capaz de suportar grandes doses de cultura virulenta, sem contrair o carbunculo, bastando para isso ter o cuidado de não infectar a pele.

Conseguiram injectar na jugular meia cultura de carbunculo em gelóse sem que o cavalo inoculado manifestasse o mais pequeno incomodo.

A insensibilidade das serosas, pleura e peritoneo, igualmente posta em foco por Besredka, foi tambem demonstrada por Brocq-Rousseu e Urbain e por Balteano que se serviu dos seu metodo dos tubos capilares.

Este autor introduziu, na pleura e no peritoneo de cobaias e coelhos, tubos capilares contendo 3/10 de c. c. duma emulsão de virus. Três dias depois, quando as incisões resultantes da operação haviam cicatrizado, os tubos eram partidos e a cultura posta em liberdade na cavidade pleural ou peritoneal.

Pois, apesar da dose inoculada e da extrema sensibilidade do coelho e do cobaia, nenhum dos animais de Balteano sucumbiu á infecção carbunculosa.

Combiesco repetiu a experiencia e obteve resultados identicos mas, como para a via intravenosa, considera as doses exageradas como sendo capazes de produzir o carbunculo e a morte.

A insensibilidade do tecido conjuntivo sub-cutaneo foi revelada com toda a evidencia pelas experiências de Plotz e de Balteano.

Este ultimo autor, utilizando tubos semelhantes aqueles com que demonstrou a resistencia das serosas, verificou que o cobaia e o coelho, inoculados debaixo da pele com 1/10 de c. ç. de cultura virulenta, não contraíam a infecção ou a imunidade.

Plotz observou que o coelho é capaz de resistir a enormes quantidades de cultura inoculadas directamente debaixo da pele. Utilizou, com este fim, capsulas de gelatina, colodio ou vidro, contendo doses de 1 c. c. e mesmo mais de cultura em caldo. Estas capsulas eram introduzidas debaixo da pele e, depois de efectuada a cicatrização, partidas e as bacterideas postas em liberdade.

Plotz trabalhou em 75 coelhos e empregou um virus que matava estes animais na dose de 1/1000 de c. c.

Para que os resultados das experiencias não fossem falseados, este autor procedia ao enchimento das empolas de gelatina e de colodio e, depois, fechava-as e introduzia-as em alcool a 95° durante um quarto de hora. Depois eram lavadas com soro fisiologico.

As capsulas de vidro, de paredes muito finas, eram introduzidas em tintura de iodo durante 20 minutos e depois lavadas com alcool e seguidamente com soro fisiologico.

Para introduzir debaixo da pele as empolas assim preparadas, Plotz praticou incisões cutaneas que suturou em seguida tendo o cuidado de ferir o menos possivel o tegumento externo.

Cicatrizadas as feridas, a cultura era posta em liberdade quebrando as capsulas.

Nos animais em que esta operação se efectuou nos três primeiros dias de permanencia da empola no seu organismo morreram 100% dos inoculades. Pelo contrario, se a ferida estava completamente cicatrizada e se os fragmentos da empola não feriam a pele, os coelhos não contraíam a infecção.

Foi assim que Plotz viu ficarem vivos 13 animais que haviam recebido debaixo da pele 1:000 doses mortais de virus, 1 c. c., e um animal que fôra inoculado com a dose 3:000 vezes mortal de 3 c. c..

Para t er a certeza que a virulencia da cultura se mantinha, o autor retirou uma empola que havia permanecido durante seis dias dentro do animal e verificou que o virus matava o coelho, como de inicio, na dose de 1/1000 de c. c.

Em face destes resultados, Plotz mostra-se partidario de Besredka e atribui os insucessos de Bachmann, Beltrami e Romat ao excesso de precau es que estes autores tomaram. Os cuidados de Bachmann consistiam em cauterisar profundamente a pele, at  a sua destrui o, no ponto inoculado e, quando a injec o era feita na veia marginal da orelha, a cartilagem era quasi destruida pelo cauterio.

Besredka e os seus colaboradores demonstraram que o traumatismo da pele, mesmo pequeno, despertava sempre a infec o carbunculosa.

A sensibilidade deste org o, j  estabelecida para o coelho e o cobaia, foi demonstrada por Vall e no boi e por Mazuchi no carneiro.

Sabe-se que o boi   muito resistente ao carbunculo quando inoculado por via sub-cutanea e Vall e resolveu tentar a via intradermica para ver se seria mais feliz.

De cinco vitelas inoculadas dentro da pele, este autor viu morrer dois animais; os outros tr s estiveram gravemente enfermos, com temperaturas superiores a 41 , apresentando no ponto de injec o uma les o semelhante   pustula maligna do homem.

Vall e concluiu desta experi ncia que o boi possui uma cutisensibilidade especial para o carbunculo e Mazuchi verificou o mesmo no carneiro.

Quanto   receptividade das mucosas, foram Pasteur, Roux e Chamberland os primeiros que se dedicaram ao seu estudo tendo verificado que, principalmente depois de lesadas, constituem uma via de infec o.

Tendo alimentado carneiros com luzerna conspurcada de esporos, Pasteur conseguiu provocar a doença mas a experiência dava sobretudo maior numero de resultados positivos quando, á ração infectante, se adicionavam corpos acerados, como espinhos e folhas de cardo, que abriam na mucosa pequenos focos de exérese por onde entravam as bacterídeas.

Boquet retomou as experincias de Pasteur, no coelho e no cobaia, e viu que, fazendo ingerir a estes animais em jejum esporos carbunculosos, apenas morria 1 animal sobre 6.

Dos trabalhos de Sannarelli deduz se, tambem, que a mucosa digestiva não lesada apresenta uma verdadeira barreira que a bacterídea só transpõe com facilidade depois de ferida.

Este autor observou que a administração por via bucal de grandes quantidades de bacterídeas asporuladas é perfeitamente inofensiva. As bacterídeas acabam por se destruir no meio intestinal sem provocar a infecção.

A introdução por via rectal ou por uma fistula apendicular de sangue carbunculoso, carregado de bacterídeas, é tambem inofensiva.

Experimentando com esporos, no coelho e no cobaia, Sanarelli verificou que os animais recém-nascidos suportavam 1:000:000 de doses mortaes sem que a sua vida fosse em nada alterada. Apenas uma minima percentagem de inoculados contraía a infecção. E, não se podia atribuir esse facto á destruição dos esporos pelos sucos gastrico ou intestinal porque, depois de atravessar todo o tubo digestivo, conservavam ainda a sua primitiva virulencia.

Newodoff demonstrou que o vitelo de 3 meses pode suportar, por via digestiva, doses bastante elevadas de virus carbunculoso, sem que a saude do animal seja alterada por essa razão.

Já este ano, 1928, o autor tcheco-slovaco Charles Hruska, do Instituto de Bacteriologia Veterinaria de Ivanovice, demonstrou que o aparelho digestivo do cabrito, animal duma sensibilidade extrema para o carbunculo, apresenta uma resistencia muito grande á penetração dos esporos e das bacterídeas.

No entanto, durante a digestão, alguns esporos podem penetrar na circulação e manter-se no sangue durante varias horas.

Pois, apesar de circularem livremente no organismo, estes esporos não só não provocam a minima perturbação no bem-estar do animal, como não conferem a minima imunidade.

Basta, porem, provocar um traumatismo cutaneo para que o cabrito apresente um carbunculo local e sucumba rapidamente vitima da infecção

Este curioso fenomeno já havia sido observado por outros autores como Boquet, Sanarelli e Besredka.

Boquet observou que o sangue de animais que tinham ingerido virus carbunculoso dava, em 60% dos casos, culturas positivas sem que, apesar disso, contraissem a doença.

E, facto interessante, quasi todos os cobaias, que haviam ingerido virus e eram depois sangrados por punção do coração, morriam de carbunculo 2 a 20 horas depois, apresentando a lesão edematosa local, caracteristica d'esta doença, no ponto de entrada da agulha que servira de trocate para a punção.

Boquet, para explicar a morte destes animais, atribuiu-a ao traumatismo provocada na pele por esta operação pois os cobaias do mesmo lote, que haviam ingerido igual dose de virus e não tinham sido puncionados, sobreviveram na proporção de 5 para 6.

Em seguida repetiu a experiência traumatizando a pele

de varias maneiras e todos os animais contraíram e morreram de carbunculo.

Boquet conclui que para provocar a morte pelo carbunculo é preciso lesar a pele.

Besredka observou um fenómeno semelhante ao de Boquet no inicio das suas pesquisas sobre o carbunculo. Tendo visto que o cobaia resistia a inoculações intra-peritoneais de virus, lembrou-se de observar qual seria o fim das bacterídeas no peritoneo.

Pois, todos os cobaias inoculados e depois puncionados com as pipetas para a colheita do exudado peritoneal sucumbiram de infecção carbunculosa. Pelo contrário, os cobaias igualmente inoculados mas não puncionados ficaram todos vivos.

Sanarelli, por meio de projecções líquidas, convenientemente praticadas nas vias nasais do coelho, pôde fazer chegar ao pulmão, sem produzir efracção da pele ou da mucosa, quantidades enormes de virus sem perigo para a vida do animal de experiência. Chegou a projectar doses de 50:000 espóros que, segundo observou, entravam na circulação geral, onde se podiam encontrar mesmo alguns dias depois acantonados nos diferentes órgãos, sem que provocassem a infecção carbunculosa.

Bastava, porém, injectar uma substância necrosante como o quinino, etc., para que a infecção despertasse e o animal morresse.

Sanarelli não especifica bem que seja a necrose da pele que provoque a morte, mas Boquet e Besredka demonstram, com evidência, que é o traumatismo deste órgão, o único no organismo receptor da bacterídea, que determina a infecção e a morte do animal.

Besredka viu, depois, que basta introduzir no peritoneo cheio de bacterídeas a agulha de uma seringa não carre-

gada e retirá-la seguidamente para que os cobaias morram de carbunculo.

Segundo ele, o virus inofensivo, quando encerrado na cavidade peritoneal, cessa de o ser desde que atravessa a zona perigosa dos tegumentos. Dá-se um afluxo de bacterídeas e da sua toxina a través do trajecto aberto pela agulha e, depois da cuti-infecção, sobrevém a morte.

Sabendo que existem muitos virus capazes de atravessar a conjunctiva e ir provocar uma infecção geral sem lesão local, M.^{me} Aïtoff resolveu tentar saber se a bacterídea, dada a sua virulencia, seria capaz de atravessar, como aqueles virus, a mucosa intacta e produzir uma septicémia.

As experiências de Aïtoff foram realizadas em ratos, cobaias e coelhos, utilizando culturas em gelose emulsionadas com sôro fisiológico. Tendo o cuidado de não ferir a conjunctiva, a auctora depunha algumas gôtas desta emulsão sobre a mucosa ocular, ou directamente dentro do sacco lacrimal, tendo observado que nenhum animal contraiu a infecção. Contudo, as bacterídeas mantinham-se virulentas durante dois, três e até sete dias, o que levou M.^{me} Aïtoff a concluir que o virus carbunculoso é incapaz de atravessar a conjunctiva não lesada.

Besredka observou que também por via traqueal a bacterídea não produz infecção septicémica. Sanarelli obteve os mesmos resultados inoculando espóros na traqueia e Brocq-Rousseu e Urbain, tendo observado identico phenomeno, concluem que o pulmão apresenta uma resistência para o virus semelhante á dos outros órgãos.

Segundo Besredka, a imunidade marcha a par com a receptividade para a doença e, no carbunculo, se a morte sobrevem por cuti-infecção a imunidade dá-se por cuti-imunisação.

Com efeito, os animais sobreviventes a inoculações de virus, noutros órgãos que não a pele, são incapazes de suportar neste órgão a mais pequena dóse de bacterídeas. Pelo contrário, a via dérmica confere uma imunidade local que se torna geral dada a não receptividade das outras vias.

Esta observação foi igualmente feita por Balteano cuti-vacinando cobaias e Plotz fazendo o mesmo a coelhos.

Este auctor observou que os animais que haviam resistido a 1.000 doses mortais, por via hipodérmica, não obtinham imunidade apreciavel, chegando alguns a não resistir a $\frac{1}{1000}$ c. c. do mesmo virus inoculado sem as costumadas precauções.

Fazendo, porém, a injeccção vacinica por via intradérmica, o coelho imunisava-se, em poucas horas, contra 500 doses mortais de carbunculo.

Muitos outros autores fizeram constatações análogas. Brocq-Rousseu e Urbain, por exemplo, verificaram que o cobaia cutivacinado resiste não só a inoculações de virus na pele mas também nos pulmões, nos rins, na parede do intestino, no figado, etc., mesmo sem precauções especiais. Em opposição, o animal não vacinado, que resistiu a inoculações evitando infectar a pele, é impotente para resistir á dose mortal minima de virus carbunculoso injectada, intradérmicamente.

Em virtude da vacinação apenas se obter com a participação da pele e a infecção e a imunidade marcharem a par e residirem no mesmo órgão, Besredka aconselha que vacinemos as células receptoras dêste órgão, único meio de conferirmos a imunidade rapidamente e sem perigo.

Aconselha, numa palavra, que fechemos a porta de entrada á infecção praticando a *imunisação local*.

CAPITULO II

Imunisação local

A *imunisação local* consiste na aplicação das vacinas directamente sobre os órgãos receptores, obtendo-se o estado refractario à custa de uma reacção local sem a intervenção de fenómenos gerais.

Para que se dê a imunisação local é necessario o concurso de três factores: 1.º — A célula bacterica actuando pelos productos solúveis que contêm, os *antivirus*; 2.º — As *células receptoras* do organismo; 3.º — Um *mordente*.

O papel do *mordente* é de importância primacial para Besredka. O homem e os animais estão sujeitos, desde nascença, a uma multidão de infecções que lhes podem vir do meio ambiente em que vivem.

Apesar disso, só as contraem em determinadas circunstâncias que facilitam a entrada do micróbio em acção. Essas circunstâncias, que podem ser muito variadas (miséria orgânica, intoxicações, choques nervosos, arrefecimentos bruscos, etc.) são constituídos por estados de meoprágia local ou geral que determinam a infecção por enfraquecimento da resistência orgânica. São os mordentes físicos, químicos ou biológicos de Besredka.

Uma simples solução de continuidade da pele ou das mucosas basta para favorecer a infecção pela bacterídia;

o fio da navalha de barba, a fricção enérgica, a depilação, os pensos húmidos, a injeccção intradermica, a sensibilisação pela bilis, actúam também como mordentes, pondo em contacto mais íntimo os virus infectantes com as células receptôras.

Dêste conhecimento sobre a mecânica da infecção, veio a Besredka a ideia de utilizar mordentes na imunisação local. Foi assim que observou que a entero-imunidade só se estabelece depois da prévia ingestão de bilis e a cúti-imunidade necessita de sêr provocada, pondo em contacto as vacinas com as células de eleição, quer fazendo escarificações cutâneas, pensos húmidos, etc.

Segundo Besredka, as células receptôras existem na pele ao nível da zona reticulo endotelial e, no intestino, ao nível dos foliculos fechados. São células especiais, desempenhando o papel de fagocitos locais e que constituem apanágio exclusivo dos sêres altamente diferenciados.

São elas que se encarregam de travar a lucta com o micróbio, manifestando uma afinidade específica para cada virús, contráriamente aos fagocitos livres que reagem perante qualquer espécie microbiana.

Iniciada a lucta entre as células receptôras e o agente patogenico, estabelece-se a quimiotaxia positiva e os fagocitos livres acorrem ao ponto de infecção, assegurando, juntamente com os fagocitos locais, a integridade fisiológica do orgânismo.

Os *antivirus* são substâncias solúveis que existem no corpo do micróbio, ao lado do virus, e que teem a mesma afinidade que estes possuem para os órgãos receptôres.

Comportam-se no orgânismo como antagonistas do virus assim como os anti-fermentos se comportam para os fermentos.

Da sua constituição química nada se conhece.

Apenas se sabe, segundo Tzekhonowitser e Goldenberg, que se formam à custa dos derivados dos proteicos, produzindo-se apenas nos meios com albuminoides, resistem à digestão pela tripsina, à autolise, à dialise e às temperaturas elevadas. Não contêm precipitinas, não se produzem nos meios sintéticos e não resistem à destilação.

Nalguns casos, *estafilococcus*, *estreptococcus*, *b. coli*, libertam-se no meio de cultura e podem sêr obtidos por filtração das culturas velhas; noutros casos porém os antivírus são libertados apenas no organismo, indo vacinar as células receptoras.

Para explicar, Besredka considera esta vacinação como uma *dessensibilização* semelhante ao fenómeno da antianafilaxia.

Se injectarmos sub-cutâneamente num cobaia uma pequena dose de sôro normal de cavalo, quinze dias depois o animal encontra-se anafilactisado. Desde então, contraíu um estado de sensibilização especial de tal modo que, injectado de novo com sôro de cavalo, responde por um choque mortal.

Podêmos contudo livrar o cobaia dêste estado de inferioridade. Basta para isso que, ao fazermos a segunda injeção, utilizemos uma dose muito pequena, 1/2000 de c. c. de sôro por exemplo, que é incapaz de provocar a crise mortal.

O cobaia sobrevive mas fica em estado de antianafilaxia. Podemos tornar a injectá-lo, mesmo com uma dose grande de sôro de cavalo, que já não conseguimos o choque mortal porque ficou dessensibilizado, isto é, vacinado.

Da mesma maneira, a recéptividade para a doença

constitui como um estado de sensibilização anafilática que foi estabelecida nos ancestrais e tornada depois hereditária através das sucessivas gerações.

Um novo contacto do vírus anafilactisante com as células receptôras do organismo basta para despertar um choque que pode sêr mortal. Esse choque constitui a doença.

Se, porém, a benignidade da crise permite que o homem ou o animal atacado consiga resistir à infecção, ele readquire o estado de saúde mas... dessensibilizado e indiferente a novas investidas microbianas.

E' esta dessensibilização das células receptôras que constitui a *imunização local*.

Para a obtermos artificialmente basta que façamos actuar sôbre essas células os antivírus que, como sabemos, possuem a mesma afinidade específica que os vírus respectivos.

*

* *

Segundo Besredka, a imunização local é um fenómeno dos tecidos que, para se manifestar, não necessita da presença de *antícorpos*.

Êste autor demonstrou que o sôro do cobaia cutivacinado não é capaz de proteger, contra a infecção, um outro animal não vacinado. Esta observação foi igualmente feita por outros autores como Urbain, Brocq-Rousseu, Plotz, Combiesco, etc.

Em cavalos cuti-imunizados contra o carbunculo, Brocq-Rousseu e Urbain verificaram que a imunização estava longe de marchar a par com a concentração do san-

gue em anticorpos e que, na maior parte das vezes, estes últimos faltavam por completo ou apareciam em quantidade mínima.

Fazendo a pesquisa das aglutininas, precipitinas e sensibilisadoras, estes autores obtiveram na maioria dos casos resultados negativos.

A imunização local estabelece-se com uma grande rapidez até aqui não conhecida em nenhum outro método de imunização activa. Para os filtrados de estafilococcus, por exemplo, esse período é de 24 horas o que demonstra, segundo Besredka, que o fenómeno se estabelece sem o concurso de anticorpos.

Além disso, se algumas vezes existem, o seu aparecimento é fugaz e desaparecem do sangue em pleno período de imunidade.

Para Besredka, significam apenas que no organismo entraram albuminas heterologas por via para-enteral e são simplesmente o resultado da digestão dos corpos microbianos fagocitados.

No caso da desinteria, do colera e da febre tifoide a imunização local do intestino estabelece-se igualmente sem o auxilio de anticorpos.

*
* *
*

Lee Hazen demonstrou que o *ricino* possui uma electividade especial para o intestino e para a pele.

A esta dupla receptividade do ricino corresponde paralelamente uma dupla imunidade local, cutânea e entérica, que se estabelece também sem anticorpos.

Blacklock e Gordon observaram um caso de cuti-imunização na miíase provocada pelas larvas da mosca *Cordylobia Anthropophaga*. Infestando experimentalmente cobaias, estes autores viram que a imunização aparecia sem anticorpos e era restricta à zona cutânea atacada pelas larvas. Mesmo depois de transplantada para outro animal, esta zona da pele conservava a sua imunidade que transmitia a pouco e pouco ás regiões vizinhas.

Este caso interessante é o primeiro que se conhece de imunização local contra um parasita metazoario.

Falando da *tuberculose*, Besredka diz que é talvez no seio das células fixas que se estabelece a imunização, parecendo que os anticorpos lhe são completamente estranhos. Casos ha em que estes são abundantes e o doente sucumbe à infecção.

Na *variola*, o sôro antivariolico, pôsto que contenha anticorpos virulicidas, não possui propriedades preventivas ou curativas e não ha paralelismo entre esses anticorpos e a imunidade estabelecida. A vacina de *Jenner* tem, como o *b. anthracis* ou bacteridia carbunculosa, uma electividade especial para o aparelho cutâneo. Podemos injectá-la em grandes doses no peritoneo que o animal não fica immunizado.

Na *raiva* parece também que os anticorpos não tomam parte activa na imunização. O sôro pode contar substâncias lissidas que, injectado a título preventivo, não evita a eclosão dos sintomas rabicos, segundo afirmam Villegas e Biglieri.

Os trabalhos feitos por estes autôres na América do Sul, por Georges na Russia e por Remlinger e Bailly em França, vieram demonstrar, segundo Besredka, que o método de *Pasteur* para a imunização antirabica deve os seus resultados à *immunização local*.

Sabendo que os humôres não intervêm activamente na imunidade antirábica, pelo menos em muitos casos, e que há animais refractários à raiva, como a tartaruga, cujo sôro não é rabcida, Georges tentou vacinar coelhos por imunisação local da pele.

Remlinger já havia demonstrado que esta via permitia obtêr maior número de casos de infecção do que a maior parte das outras vias, nomeadamente a hipodérmica e a intravascular.

Georges cutivacinou quinze coelhos por fricção em três dias seguidos com emulsões de cerebro ou de medulas rábicas. Destes animais, sobreviveram dez depois da contra-prova feita com uma injeção de virus fixo debaixo da dura-mater. Perante êste resultado o autor começou a aplicar ao homem a imunisação local ao mesmo tempo que a imunisação geral em uso no Instituto de Veronej.

Biglieri e Villegas observaram que a injeção intradérmica produz, em doses 5 a 6 vezes menores que a usada por via sub-cutânea, uma imunidade sólida.

Já êste ano, 1928, Remlinger e Bailly demonstraram que é possível obter a imunisação anti-rábica por fricções na pele barbeada com virus atenuado por qualquer processo (dessecação, eter, etc.) e que os animais assim cutivacinados resistem, não só à infecção local, mas também à infecção geral obtida por injeção nos músculos da nuca.

Contrariamente a Georges, estes autôres, porém, só conseguiram esta imunidade à custa de grande número de intervenções pelo que a não consideram de valor práctico.

No entanto, a cuti-imunidade parece sêr mais sólida do que a imunidade resultante por via hipodérmica que é contudo a preferida para a obtenção de anticorpos.

Também nas *tripanosomias* se observam, no que diz respeito aos anticorpos, factos semelhantes aos apontados. A riqueza do sangue em substâncias tripanocidas não nos permite ajuizar sobre o prognóstico da doença porque não há paralelismo entre a sua existência e a imunidade adquirida pelo organismo contra o tripanosoma.

Sem querer negar toda a importância aos anticorpos na gênese da imunidade, Besredka quasi afirma que há poucas doenças, a não ser a *difteria*, o *tetano* e o *botulismo*, onde a sua acção possa ser apontada como irrefutável.

A causa da imunidade, diz aquele autôr, parece mais nitidamente ligada à presença de antivírus ao nível das células receptoras.



Esta maneira de ver veio contra a doutrina de Bordet que coloca as forças humorais em primeiro plano na produção da imunidade.

Segundo este autôr o poder bacteriolítico é devido à acção combinada de duas substâncias: a *alexina* e a *sensibilisadora*.

A primeira não é específica, existe já no sangue do animal não imunizado, e não actúa senão com o auxilio da segunda que é específica e só aparece no sangue dos imunizados.

Segundo Besredka, se a imunidade fosse realmente tributária destas duas substâncias não se poderia conceber a imunização sem anticorpos tal como se revela a imunização local. Para este autôr, a teoria de Bordet que

explica de uma maneira luminosa o aparecimento das citolisinas e das hemolisinas, depois da entrada no organismo de células animais estranhas, não pode ser exactamente aplicada ao que se passa com as células microbianas.

Os anticorpos e, entre eles, as sensibilizadoras que têm funções mais definidas são desnecessários para que se estabeleça a imunidade como se verifica pela imunização local.

Besredka considera-os simplesmente como as *citolisinas* do estroma proteico do micróbio. Não são mais do que productos excrementiciaes resultantes da digestão intracelular da parte albuminoide da célula bacterica, cuja importancia para a imunização é na verdade secundária.

Na *imunidade activa* o antigene vacinante, entrando em circulação por qualquer via, encontra por fim as células receptoras.

Os leucocitos englobam o corpo microbiano, digerem-lhe o estroma proteico e desta digestão resulta não só a produção de citolisinas mas, sobretudo, a libertação dos productos soluveis que esse estroma encerrava — os *antivirus*.

São estes que, obedecendo á sua electividade especial, vão dessensibilisar as células receptoras colocando-as em estado de imunidade activa.

Como se vê, Besredka atribui aos leucocitos um papel preponderante na imunização.

São eles que põem o *antivirus* ao alcance das células receptoras e criam os corpos citolíticos.

Assim, as teorias da imunização local, creando a noção dos fagocitos locais, vieram completar a teoria celular de Metchnikoff colocada em plano secundário pela teoria humoral de Bordet que vinha explicar o enigma da acção dos soros.

Como a desintegração da célula bacterica exige um certo tempo a imunidade activa leva alguns dias a estabelecer-se. Se, porém, empregarmos os antivírus já preparados *in vitro*, como sucede para os estafilococcus, poupamos este trabalho aos leucocitos e a imunidade estabelece-se com grande rapidez : 24 horas.

No caso do carbunculo, Besredka considera o *b. anthracis*, ou bacterídea carbunculosa, um agente toxigeno como o são o *b. botulinos* e o *b. diftérico*. Admite que é a toxina soluvel que o bacilo liberta em presença da pele que vai saturar as células receptoras. Posto em contacto com outras células que não são receptoras não é capaz de segregar toxina e, assim, o animal não póde contrair a vacinação por qualquer outra via que não seja a via de infecção.

Ao fazermos a *imunisação local* a vacina é aplicada directamente sobre os tecidos receptores e a imunidade estabelece-se por isso com excepcional rapidez.

*

* *

No caso da *imunidade passiva* também não são, na maneira de vê de Besredka, os anticorpos que desempenham as principais funções. São ainda os antivírus.

A preparação dos soros específicos exige a hiperimunisação dos animais seus productores á custa de sucessivas injeções de grandes quantidades de cultura.

Entrados na circulação, os micróbios injectados tornam-se presa dos leucocitos que se apressam a digerir-lhe o estroma albuminoide, produzindo as citolisinas micro-

bianas (aglutininas, sensibilisadoras, precipitinas, etc.) e pondo em liberdade os antivírus respectivos que são absorvidos pelas células receptoras.

Depois de um certo número de injeções, estas encontram-se completamente saturadas e os antivírus acumulam-se no sangue, mantendo-se em circulação ao lado dos anticorpos do estroma.

Se injectarmos o soro de um animal assim hiperimmunizado a um outro não immunizado, nós injectamos-lhe concomitantemente antivírus e anticorpos.

São os primeiros que vão dessensibilizar as células receptoras produzindo a immunidade passiva. Os segundos mantem-se em circulação e só têm utilidade quando o animal é infectado.

Neste caso, sensibilizam os vírus infectantes tornando-os mais facilmente fagocitáveis.

*

* *

Como se vê, a hipótese de Besredka tem a vantagem de explicar de uma maneira semelhante o que se passa na immunidade activa e na immunidade passiva que ficam assim tornadas fenómenos idênticos.

Em todo o caso existem diferenças entre uma e outra destas immunidades. Besredka dá explicação para essas diferenças.

Como sabemos, a immunidade activa é duradoura e necessita de um certo tempo de preparação; a immunidade passiva é, pelo contrário, de curta duração e estabelece-se rapidamente.

No primeiro caso, o animal tem que preparar o anti-virus e, por isso, a imunidade demora a estabelecer-se ; no segundo caso, esse trabalho é poupado e a saturação das células receptoras é imediata.

Para explicar a diferença da duração, Besredka admite que o antivírus produzido pelo micróbio no organismo, caso da imunidade activa, actua *in statu nascendi* e em concentração mais forte ficando por isso mais tempo a actuar no organismo, o que não sucede com o antivírus veiculado nos soros específicos.

Além disso, o que contribui também poderosamente para a maior duração da imunidade activa é que, neste caso, os antivírus são libertados no organismo, não de uma só vez, mas lentamente, pois exigem o tempo necessário para que se efectue a digestão microbiana.

Estes factos são mais notáveis nas vacinações por vírus vivos em que a persistencia de antivírus no organismo é particularmente longa.

A imunidade proveniente de um ataque infeccioso é, como sabemos, muito sólida podendo até durar anos.

Vejamos como Besredka concilia este facto com a sua hipótese !

Depois de muitas doenças sabe-se que embora os sintomas clinicos tenham desaparecido, podem persistir, em certos departamentos organicos, vírus que vivendo inofensivamente, dado o estado de imunidade adquirida pelo organismo infectado, são incapazes de reproduzir a infecção.

Apesar disso, continuam a produzir antivírus que são lançados em circulação.

São estes que vão alimentar as células receptoras mantendo-as em estado continuo de dessensibilização.

Assim, a imunidade que se segue a um ataque infeccioso é muito sólida e pôde mesmo durar toda a vida,

O b. tífico, o estafilococcus, o b. de Koch, etc., são muitas vezes albergados no organismo durante anos sem que, apesar disso, o seu hospede manifeste sintomas de doença.

Um dia, por uma razão qualquer, póde ser despertada uma infecção latente cuja existencia não poderia ter sido presentida.

Esta *infecção latente* que, neste caso, é revelada ocasionalmente, póde ser notada com facilidade noutras doenças. E' o que succede nas piroplasmoses.

Depois desta doença o animal readquire a saude, volta ao estado hígido, mas fica um portador de virus. Os piroplasmas continuam a circular livremente no sangue a despeito da imunidade adquirida pelo seu hospede.

Para Besredka, estes casos de microbismo latente são mais frequentes do que se julga e são os germens vivos, produzindo continuamente antivírus, que mantéem o organismo em estado de imunidade duradoura que póde ser ilimitada.

Na *peste porcina*, por exemplo, os animais imunizados activamente eliminam o virus vivo e espalham o contágio entre os rebanhos visinhos durante um certo tempo. Segundo Citron os germens mantéem-se vivos no organismo do animal durante seis mezes.

Pela explicação que nós dá Besredka de todos estes factos, vemos que a imunidade quer apareça rapidamente quer não, quer seja duradoura ou passageira, activa ou passiva, traduz sempre o fenómeno da saturação das células receptoras pelos antivírus.

Nas vacinações por *virus sensibilizados* a imunidade é, como sabemos, de longa duração, como na imunidade activa, e produz-se rápidamentee, como na imunidade passiva.

Besredka admite que a sensibilização dos virus produz um começo de digestão a que corresponde uma certa libertação de antivirius.

E' este que vai estabelecer rapidamente a imunidade alimentada depois pelo antivirius que os leucocitos libertam do corpo microbiano.

*

* *

Englobando num só fenómeno todas as manifestações da imunidade, Besredka considera também a *vacinoterapia* como devendo os seus resultados aos antivirius.

Segundo ele, as vacinas (pensos de antivirius, injecções de antigene...) actuam pelos seus derivados soluveis indo saturar não as células já atingidas pela infecção, mas sim aquelas que, ainda indenes, estão aptas a ser vacinadas.

Forma-se assim, em volta da infecção, uma zona incapaz de a receber que circunscreve o foco purulento e, embora os antivirius não possam ir em auxilio das células doentes, ela não caminha porque está delimitada.

Então, os fagocitos livres, movidos por uma quimiotaxia positiva, acorrem ao ponto infectado e, auxiliados pela propria acção inibidora dos antivirius, acabam por eliminar o foco purulento que é prontamente cicatrizado.

Como vemos a concepção de Besredka sobre a *vacinoterapia* é muito diferente da que nos apresenta Wright.

Na técnica de Wright fazem-se sucessivas injecções de antigene que, segundo o autor, aumentando de cada vez a quantidade de opsoninas no sangue, aumentam paralelamente o poder fagocitário dos leucocitos.

Trata-se pois de uma reacção geral em que as regiões sãs vêem em auxilio das regiões doentes.

Assim, enquanto que a vacinoterapia de Wright actua indirectamente por intermedio das opsoninas, a antivirustherapie de Besredka actua directamente fazendo a *profilaxia* dos elementos ainda sãos. E' uma verdadeira imunisação.

Wright não escolhe a via de vaciuação, pretende simplesmente que o antigene entre em circulação geral. Besredka, pelo contrario, aconselha a applicação local sobre a região doente. E' uma terapeutica *loco læso*.

*

* *

Se os factos experimentais em que se apoiam as teorias de Besredka são interessantes e numerosos, os resultados observados depois da sua applicação pratica são igualmente notáveis e ferem-nos a atenção pela originalidade da sua applicação (vacinas em pensos, etc.) e, sobretudo, pela rapidez e utilidade dos efeitos que produzem.

De facto, os novos conhecimentos encontraram grande número de applicações no campo médico, tanto no que diz respeito á clinica humana como á clinica veterinária.

A utilidade pratica da vacinação antidesintérica *per os* foi revelada em França e noutros países, sobretudo na Grécia onde a Comissão de epidemias da Sociedade das Nações fez vacinar alguns milhares de individuos obtendo sempre os melhores resultados.

Curativamente esta vacina foi também empregada com

êxito por Alivisatos em Nisch e por Gloukhof em Leninegrado.

A bilivacinação contra o cólera, embora recentemente iniciada, tem dado já na India sobejas provas do seu valor. Mas é sobretudo a vacinação *per os* da febre tifoide aquela que maior e mais vasta aplicação tem tido na Italia, França, Inglaterra, Portugal, etc.

Só na Polónia, em Lodz, foram efectuadas mais de 60:000 vacinações e no Brazil, em São Paulo, por ocasião da ultima epidemia, vacinaram-se 63:000 pessoas e os resultados dessa aplicação, igualmente publicados pela Sociedade das Nações, são de molde a render os maiores elogios á técnica de Besredka.

O antivírus tífico foi tambem utilizado como curativo da febre tifoide. Luxembourg, de Varsóvia, fazendo injecções intravenosas de antivírus verificou que a marcha da doença é prontamente jugulada e, logo desde o inicio do tratamento, todos os doentes deixam de ser portadores do bacilo tífico.

*

* *

No campo da vacinoterapia a imunisação local encontrou, com o uso dos filtrados de estafilococcus e de streptococcus, grande número e variedade de applicações uteis, cujos resultados têm sido observados por muitos autores, tanto no homem como nos animais.

Alguns destes autores, em vez de filtrar as culturas, julgam antes preferivel esterilisa-las pelo calor ou pelo formol a 2 ou 4^o/₁₀₀, preferindo ainda outros separar o li-

quido vacinante dos corpos microbianos por centrifugação e decantação.

Goiffon e Jaubert, para evitar a demora da filtração na preparação de grandes quantidades de antivírus, aconselham o seguinte processo: A 100 c. c. de cultura envelhecida na estufa junta-se 1 c. c. de cloreto de cálcio a 2,5% e 5 c. c. de fosfato dissódico a 10%.

Forma-se um precipitado de fosfato de cal que, ao pôr-se, arrasta os elementos microbianos e desembaraça o líquido de todas as impurezas.

O antivírus assim obtido possui as mesmas propriedades do filtrado, porque o Ph se mantém o mesmo e o cloreto de cálcio e o fosfato de sódio contidos na solução vacinante não alteram em nada os tecidos.

Ilitch e Reynals dizem que podemos produzir igualmente os antivírus fazendo a lise dos estafilococos pela bacteriofagia e que, neste caso, a presença do bacteriófago não aumenta ou diminui as propriedades do antivírus pois este é tão activo antes, como depois de aquecido a 100° durante 15 minutos.

Os pensos de antivírus encontram a sua utilidade no tratamento das feridas supuradas e das múltiplas lesões que, parecendo muito diferentes pelo seu aspecto e pela sua séde, reconhecem no entanto uma única causa, os estafilococos e os estreptococos.

Nikolaewa diz que os resultados obtidos são invariavelmente rápidos. No estado inicial, a infiltração reabsorve-se e, nos casos mais avançados, o foco inflamatório não tarda a circunscrever-se e a eliminação do puz é seguida de uma cicatrização rápida.

Duma maneira geral, tanto nos casos de inflamações agudas como crónicas, assiste-se, mais de uma vez, a curas verdadeiramente miraculosas, tanto debaixo do ponto

de vista da rapidez de acção como da ausencia de toda a perturbação reacional no decorrer do tratamento.

Uma das suas acções mais notáveis consiste no desaparecimento quási immediato, 3, 4, 5 horas, do elemento subjectivo dôr.

Sadovsky, do Laboratório Veterinário de Bacteriologia de Kharkoff, utilisou os filtrados estafilococicos e estreptococicos no tratamento das afecções supuradas do cavalo e doutros animais, tendo obtido sempre resultados seguros e rápidos.

Nos casos de *parotidite*, Sadovsky injectou o filtrado na espessura da glândula inflamada tendo obtido prontamente a resolução do processo. No *gavarro cutâneo* e nas *raças gangrenosas*, mesmo com complicações várias e até *septicémia*, verificou igualmente resultados surpreendentes pois, casos houve, que sendo rebeldes aos tratamentos medicamentosos durante meses, cederam em menos de 15 dias aos pensos de antivírus estreptococico.

Na *anasarca* também o filtrado de estreptococcus injectado intravenosamente nas doses de 60 e 100 c. c. produziu bons resultados.

Na *gurma*, a injectão intravenosa de antivírus, proveniente de *estreptococcus equi*, permitiu a Sadovsky obter a baixa rápida da temperatura em algumas horas e a reabsorção completa dos edemas inflamatorios em 24 horas.

Duma maneira geral, aconselha pensos de filtrado no caso de haver apenas fenomenos locais e a injectão intravenosa (50 a 100 c. c.) nòs casos de *septicémia*.

Segundo o autôr, devemos usar no inicio das epizootias de *gurma* o *stock-antivírus* e, logo que o possâmos fazer, usaremos os *auto-antivírus* obtidos de estirpes de estreptococcus isolados no decorrer da doença.

Odier e Dreyfus utilisaram com sucesso idêntico os filtrados no tratamento das *piodermites* e Kissine fez a sua aplicação em casos de associação *estafilomycosica*, incorporando o antivírus com vaselina e lanolina que aplicava sobre a região doente.

Wassilieva, Zmigrodskaja e Marchova e outros autores consideram a antivirustherapie em pensos e em injeção intradérmica como um meio terapêutico de escolha na *erisipela*.

Redalieu e outros empregaram os antivírus no tratamento das *sinosites*, das *gingivites*, *estomatites*, etc., agudas e crônicas, tendo observado que o tratamento faz desaparecer o processo séptico, diminuir a secreção do pus e acelera a cicatrização das feridas.

Bourdenko e Givaco usando tampões, irrigação sistema Dakin, injeções de filtrado, etc., colheram resultados notáveis em *osteomielites* crônicas, *tuberculosas osseas* de infecção mixta, *periostites*, *artrites*, etc., tendo empregado o antivírus mixto estafilo-estreptocócico e piocianico ou apenas estafilocócico.

A cicatrização acelera-se e o pus diminui, tornando-se mais líquido e seroso ou sero-sanguinolento.

Soupault tratou um caso de *fistula pleural* com filtrado-vacina, tendo obtido bons resultados assim como Rieux que tratou *pleuresias estreptocócicas* com o antivírus específico. Num caso obteve a cura com uma única injeção intrapleural de 250 c. c.

Svetkoff e Veller, do Instituto Veterinário de Microbiologia de Leninegrado, utilisaram, como Sadovsky, o antivírus gurmoso no tratamento de cavalos atacados de *gurma*.

O filtrado era obtido de culturas de *estreptococcus gurmoso* em caldo de carne de cavalo, mantidas na estu-

fa a 37° durante 10 dias. Os pensos locais ou a injeção hipodérmica de grandes doses de antivírus (100 c. c.) exercem em todos os casos, segundo os autores, uma acção curativa nítida, com resolução do processo morbido e cessação da hipertermia.

Resredka cita o caso de um cavalo portador de um *fleimão* crónico muito rebelde ao tratamento, para o qual já tinham decidido a occisão. Tendo tentado os pensos estafilocócos, os abcessos curaram-se em alguns dias, as perturbações funcionais desapareceram e o tratamento estava findo ao fim de uma semana.

Em oftalmologia os antivírus foram utilizados, também com sucesso, por Carrére, Delassus, Blagovestchenski, no homem; e por Nicolas, Colin, Lassaux e outros, nos animais.

Nicolas aconselha nos traumatismos oculares instilar, uma vez por dia, algumas gôtas de filtrado estreptoestafilocóco e proteger o órgão com um penso específico.

Nas *conjunctivites* e nas *dracocisties* a instilação da vacina no saco lacrimal e, nos casos de *irido-ciclite*, a injeção debaixo da conjunctiva dão optimos resultados.

Nas *coroidites* e nas *panoftalmias* o filtrado só actúa em injeção na câmara anterior do olho.

As curas são impressionantes pela rapidez e os resultados são de tal maneira notáveis que, mesmo em animais com traumatismos muito conspurcados, a cicatrização se efectua por primeira intenção.

Besredka aconselha a antivirusterapia em muitos outros casos tais como *metrites*, *otites*, *mamites* e para prevenir as infecções *post-partum* nos casos de distocias que exigem manobras laboriosas. Os pensos estafilocócos intra-uterinos são igualmente úteis no caso de infecção

já estabelecida, tendo Ravina, Tron e outros confirmado este valor terapêutico.

Ravina utilizou os antivírus em injeção intra-venosa no tratamento das *septicemias*, tendo verificado que, sobretudo no início, o método consegue curas rápidas.

Nas *quelmaduras* permite a cicatrização por primeira intenção e nas *fracturas expostas* a sua utilidade é manifesta, evitando as complicações osteíticas das diafises fracturadas.

Berczelles conseguiu a imunização local do coelho, contra a *meningite* cerebro-espinal estafilocócica, introduzindo o antivírus específico, a título preventivo, no canal raquidiano.

Besredka e Nakagawa aconselham, nos ferimentos, praticar a *imunização local anti-tetânica*. Os pensos de soro específico, aplicados *in loco dolenti*, previnem contra o tétano, mesmo que os apliquemos em animais uma hora depois de lhes termos injectado toxina tetânica.

*
* *
*

Nas *intervenções cirúrgicas*, Besredka preconiza os antivírus na vacinoterapia local pré e post-operatória, evitando as infecções que demoram a cicatrização.

Nakagawa tentou a vacinação pelos filtrados aplicados sobre uma região anestesiada localmente. Os seus estudos foram efectuados em cobaias e observou que estes animais, pensados com antivírus enquanto dura a *anestesia local*, não beneficiam em tão elevado grau da imunização local como os submetidos apenas a antivírus.

Talvez que êste contra seja, mais tarde ou mais cedo, completamente arredado, e, então, a cirurgia, principalmente a cirurgia dos grandes animais em que tão difficil é conseguir uma asépsia rigorosa, terá bastante a lucrar da vacinoterapia local.

Como se vê são em elevado número os resultados praticos em que se apoiam as teorías da imunisação local, mas estas teorías encontraram sobretudo um ponto interessante para a medicina veterinária na *cuti-immunisação do carbunculo bacterídico*.



CAPITULO III

Cuti-Imunisação do carbunculo bacterídico

Depois dos trabalhos de Besredka, largamente confirmados, sobre a *cuti-imunisação do carbunculo bacteridico* no coelho e no cobaia, muitos autores se dedicaram ao seu ensaio em animais das espécies pecuárias.

Dessas tentativas, as primeiras foram efectuadas por Mazuchi em Italia.

Este autor conseguiu obter no *carneiro* uma imunidade activa anti-carbunculosa muito solida fazendo sucessivas injeções intradermicas de virus cada vez mais virulento.

Os carneiros assim imunizados resistiram posteriormente a doses massiças de cultura virulenta inoculada em qualquer ponto do organismo sem produzir senão uma hipertermia leve e passageira.

Velu, em Marrocos, efectuou tambem, a titulo de ensaio, uma experiencia semelhante no *carneiro*.

11 destes animais foram vacinados por *uma unica injeção* de vacina praticada intradermicamente, tendo a dose utilizada variado entre 20, 2, 1, $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{5}$ e $\frac{1}{5}$ da dose utilizada ordinariamente por via sub-cutanea.

Tendo efectuado 14 dias depois a contra-prova, inoculando a todos os animais vacinados 5.000 doses mortais

para o coelho de um virus marroquino muito activo, Velu observou que todos os inoculados resistiram, excepto aquele que havia sido vacinado apenas com um 1/5 da dose usada por via hipodermica.

O *carneiro* que havia recebido 1/2,5 dessa mesma dose apresentou um pequeno edema local que se reabsorveu depressa e os restantes animais não apresentaram a minima perturbação local ou geral.

Desta sua experiencia, Velu concluiu que é possível obter no *carneiro*, apenas com uma injeção de vacina praticada na espessura da pele, uma imunidade anti-carbunculosa bastante sólida.

No *cavalo* o método de Besredka foi primeiramente ensaiado por Brocq-Rousseu e Urbain.

As tentativas inicialmente realizadas por estes autores foram muito cautelosas, em virtude da sensibilidade especial que estes animais manifestam para o carbunculo. Primeiramente praticaram a cuti-vacinação por injeções intradermicas sucessivas de virus cada vez mais virulento, como fizera Mazuchi no *carneiro*, mas, depois, utilisaram duas intervenções com 1.^a e 2.^a vacinas, tendo diminuido o intervalo destas duas applicações até um dia apenas.

Os *cavalos* assim cuti-vacinados por Brocq-Rousseu e Urbain resistiram á inoculação de bacterideas muito virulentas, tendo apenas respondido com um edema local quente e doloroso, que se reabsorveu sem o aparecimento de fenomenos geraes, nem sequer elevação de temperatura.

Fazendo a pesquisa dos anticorpos (precipitinas, aglutininas, sensibilisadoras) estes autores obtiveram resultados negativos e observaram igualmente que o soro dos cuti-vacinados não possui propriedades protectoras para o co-baia, mesmo quando injectado em doses elevadas.

Destes resultados, Brocq-Rousseu e Urbain tiraram a conclusão de que o *cavalo* é susceptível de contrair a imunização anticarbunculosa por via dermica e que, a imunidade obtida por este meio é muito sólida e constitui um fenomeno local, estabelecendo-se com grande rapidez e sem a intervenção de substancias humorais.

Um dos pontos mais notaveis é que as reacções que se seguiram á applicação da vacina foram de uma benignidade que contrasta nitidamente com os fenomenos reaccionais, tão frequentemente observados no *cavalo*, depois da vacinação pelo método classico, e que, não raro, conduzem a bastantes desastres.

Depois destes resultados tão favoraveis, Nicolas, na Siria, resolveu fazer a applicação do processo intradermico em cerca de 9.000 *caballos*, onde o carbunculo fazia numerosas victimas, a despeito da vacinação pelo método *Pasteur*, a soro-vacinação e a soro-prevenção que, sem grandes resultados, tinham sido sucessivamente tentadas.

Antes, porem, Nicolas fez um pequeno ensaio em 72 animais, injectando-lhes a 1.^a e 2.^a vacinas por via intradermica, nas doses de 1/4 c. c., com seis dias de intervalo entre as duas applicações. Como este ensaio se tivesse mostrado inteiramente favoravel, pois de todos os *caballos* vacinados apenas seis apresentaram um leve edema local de pequena duração, Nicolas praticou a cuti-vacinação pelas mesmas normas em todos os outros animais.

Os resultados conseguidos por esta applicação foram os mais animadores pois um ano mais tarde, 1925, de 8.912 *caballos* e *muas* cutivacinados tinha havido apenas 4 mortes, das quais 2 no decorrer da vacinação e 2 mais tarde.

Analisando estes numeros, vê-se que a mortalidade foi de 0,45 por mil, o que contrasta singularmente com a media

obtida nos anos de 1919-23, em que foram utilizados outros métodos de vacinação e em que a mortalidade foi de 8,1 por mil.

O método de Besredka fez pois diminuir cerca de 20 vezes o numero de casos mortais observados com a utilização de outros métodos de imunização carbunculosa.

Nicolas diz que se trata de um sucesso sem precedentes na historia da vacinação dos *equideos* contra o carbunculo, sucesso que se deve á inocuidade quasi completa e á eficacia do novo método.

Em 1925, foram vacinados pelo mesmo autor, ainda na Asia Menor, *cavalos* e *muares* num total de 6.994 animais, tendo havido apenas cinco casos de morte ou seja 0,72 por mil, resultado que é tanto mais notavel quanto é certo que esse ano foi um ano de carbunculo na Siria.

Segundo as conclusões do auctor, o método é benigno, pois nenhum dos accidentes mortais observados foi devido á vacinação, e confere uma imunidade solida que dura um ano.

Depois deste trabalho e das suas experiencias realizadas no *carneiro*, Velu e Monod, no Norte de Africa, fizeram uma vasta applicação do método de Besredka, tendo cuti-vacinado 14.405 *bois*, 12.520 *carneiros*, 4.640 *porcos* e 75 *cavalos*.

Todas estas vacinações foram efectuadas em meio profundamente contaminado, quer em rebanhos pastando em terras malditas, quer em plena epizootia de carbunculo. O metodo foi aplicado fazendo num só tempo a vacinação por 1.^a e 2.^a vacinas, inoculadas por via intradermica, e, enquanto que a via sub-cutânea provocava fenomenos locais e gerais (hipertermia e outros), aquela não se acompanhava de nenhuma reacção.

Os autores concluem que a vacinação intradermica

num só tempo é inofensiva nos rebanhos contaminados, produz o aparecimento da imunidade muito rapidamente e dispensa a utilização de soro em meio infectado, resultando por tudo isto um processo de escolha pela sua eficácia, simplicidade e economia.

Newodoff, Wladimirski, Weintrob, Pinous, Anfiloff e Froloff cutivacinaram *cavalos* usando a 1.^a e 2.^a vacinas esporuladas, por via intradérmica, fazendo mediar 3 a 14 dias entre as duas aplicações.

Estes autores não notaram fenómenos reacionais em seguida á vacinação, salvo, ás vezes, um pequeno edema local consecutivo á primeira vacina.

Segundo observaram, a injeção intradérmica única de primeira vacina parece estabelecer uma imunidade suficiente.

Um dos seus animais, o *cavalo* «Apostol», foi vacinado com 1 c. c. de 1.^a vacina e, oito meses depois, a imunidade foi ainda verificada por inoculação na pele de 1/10 de c. c. de cultura muito virulenta que matava o coelho na dose de 1/100.000 de c. c.

Apesar da prova, este animal resistiu como os outros que haviam sido cuti-vacinados com 1.^a e 2.^a vacinas.

Uma semana depois desta inoculação de prova, o mesmo animal recebeu nova injeção de 5 c. c. de cultura em caldo de 48 horas.

Resistiu igualmente, tendo apenas manifestado hipertermia por exacerbação dos sintomas de mormo, pois se tratava de um animal mormoso.

Os outros *cavalos* e *bois* cuti-vacinados pelos autores ficaram da mesma maneira imunizados contra inoculações de vírus, quer fossem praticadas na pele, no tecido conjuntivo sub-cutâneo ou *per os*, mesmo que concomitante-

mente tivessem sido provocadas lesões da mucosa digestiva.

Em face destes resultados, o governo russo, por intermédio do Instituto Veterinário de Kieff, nomeou uma comissão encarregada de controlar o estado de imunidade de quatro *cavalos* cutivacinados por Newodoff.

Cada um destes animais recebeu debaixo da pele 10 c. c. de virus carbunculozo, tendo dois outros, testemunhas, sido inoculados respectivamente com 2,5 c. c. e 0,2 c. c. do mesmo virus.

Os *cavalos* cuti-vacnados apresentaram apenas um leve edema no ponto de inoculação e uma hipertermia de 0°,5 a 1°,5, tendo tudo desaparecido por fim, enquanto que os dois animais testemunhas morreram um em 4, outro em 9 dias.

Verificados os bons resultados do método intradérmico, foram efectuadas vacinações em mais larga escala, tendo os primeiros ensaios sido efectuados em 2.450 *bovinos* e 213 *cavalos*.

De todos estes animais cutivacinados não houve um unico insucesso, nem uma única complicação, enquanto que, entre os não vacinados houve varios casos de carbunculo mortal.

Newodoff, em 1926, comunica os resultados obtidos em 743 *cavalos* e 3.349 *bovinos* em que igualmente fez a aplicação do método de Besredka.

Nenhum destes animais apresentou edema nem temperaturas e, apesar de se tratar de uma região contaminada, não houve entre os animais vacinados, um único caso de morte.

O que é interessante é que êstes resultados foram obtidos por Newodoff utilizando, na maioria dos casos, apenas uma injeccção da 1.ª vacina.

Segundo este autor, as vantagens do método intradérmico são: 1.º) permitir jugular a epizootia; 2.º) Sêr completamente inofensivo; 3.º) não necessitar de interromper o trabalho dos animais em seguida á vacinação; 4.º) Sêr feito num só tempo; 5.º) Conferir imunidade apenas com primeira vacina.

Por estas razões preconisa a cuti-vacinação carbunculosa com *uma unica injeção intradérmica* de primeira vacina.

Os optimos resultados do método Besredka para a imunisação do carbunculo bacteridico foram igualmente confirmados por Panton, Bessians, Dauvois, Cornaianu, Sachelarie, Delpy, Claverie, etc.

Sachelarie, comparando em *vitelas* o poder imunisante das vacinações por via intradérmica e por via sub-cutânea, observou que, no primeiro caso, os animais contraíam uma imunidade mais sólida.

Submetidos os animais imunizados pelos dois processos á inoculação intra-cutânea de 1/4 de c. c. de cultura muito virulenta, as *vitelas* cuti-vacinadas não apresentaram reacção local nem termica, enquanto que as outras reagiram com temperaturas de 41°,5, apresentando um edema quente e uma tumefação dolorosa enorme no ponto de inoculação.

Outro lote de *vitelas* vacinadas por um e outro método foi submetido á ingestão de 4 c. c. de cultura virulenta misturada com aveia e vidro moido. Um dos animais, vacinado debaixo da pele, sucumbiu ao carbunculo, enquanto que os imunizados por via dermica não contraíram a infecção.

Uma das *vitelas* cuti-vacinadas foi alvo de uma prova muito severa, constando na ingestão de uma cultura inteira em gelose, de 48 horas, esporulada e misturada com

aveia e vidro moido. Apresentou uma hipertermia de 41°, mas sobreviveu á experiencia.

Em virtude destes resultados, Sachelarie considera o método cutâneo como marcando uma superioridade nítida sobre o método clássico de vacinação debaixo da pele.

Tatin e Velu, em Marrocos, fazendo a cutivacinação *num só tempo* em 1.340 cavalos e muares, verificaram a ausencia completa de reacção local ou geral, considerando o método simples e rapido e aconselhando-o nas regiões de criação intensiva.

Monod e Velu, estudando a duração da cuti-imunidade assim conferida e o tempo que demora a estabelecer-se, verificaram que nas especies pecuárias dura em média um ano e estabelece-se nas primeiras 48 horas consecutivas á vacinação.

Tendo tentado a imunisação local anti-carbunculosa por escarificação e fricção energica, não obtiveram grandes resultados, pelo que dão a preferencia á injeção intradérmica.

Este ano, Dauvois utilisou o método de Besredka em *bois* e *carneiros novos* muito sensiveis, fazendo a cuti-vacinação por uma única injeção intradérmica de 2.^a vacina e observou que esta operação não é seguida de nenhum fenomeno inquietante e que os animais novos cuti-vacinados continuam a apresentar vivacidade e appetite.

Dauvois utilisou depois o método em 30.000 *ovinos* e algumas centenas de *bovinos* e obteve sempre os melhores resultados, nunca tendo observado nenhuma reacção.

Na Sardenha, o Instituto Seroterápico de Milão, fez vacinar, tambem com uma unica injeção de 2.^a vacina, alguns milhares de cabeças.

Duma maneira geral, todos os proprietários ticaram preferindo o novo método, pois não observaram nos seus

animais a minima reacção local ou geral, não tendo havido perdas de leite como acontece com o método sub-cutâneo.

Cernaianu, da Sociedade Romena de Biologia, trabalhou ultimamente na Bessarabia, onde o carbunculo é muito virulento, sobretudo nos *carneiros* e *porcos*.

Este autor resolveu por isso praticar a intradermo-vacinação que realisou com *uma injeção unica* de 2.^a vacina Pasteur, feita na espessura da pele, e verificou que o método não dá accidentes, mesmo aplicado em *fêmeas* em adiantado estado de gestação.

Não se notam nunca as reacções gerais, como febre, indisposição, perdas de leite, etc., que, segundo o autor, se constam regularmente com os outros métodos de vacinação.

As doses de 2.^a vacina Pasteur a empregar em injeção intradérmica devem ser 0,5 c. c. no *cavalo*, 1 c. c. no *boi* e 0,3 c. c. no *carneiro*.

48 horas depois da sua aplicação a imunidade está estabelecida e é mais sólida e dura mais tempo que a obtida por via sub-cutânea.

A cuti-vacinação pode ser aplicada em casos de epizootia já declarada, dispensando a soroterapia preventiva e conseguindo jugular a invasão da doença no curto período de 72-90 horas depois da vacinação.

Cernaianu aconselha-nos por estas razões a intradermovacinação anti-carbunculosa, utilizando apenas a 2.^a vacina nas doses acima indicadas.

No trabalho com que Velu ganhou em Julho ultimo o «Premio Paugoué» de 1928, este autor relata os resultados obtidos em mais de 500:000 vacinações realizadas em Marrocos utilizando uma unica injeção intradérmica de 2.^a vacina.

As constatações feitas por este autor e por Monod vieram demonstrar duma maneira iniludível as inúmeras vantagens do metodo intradérmico. Vejamos:

As experiencias efectuadas mostram que *uma só injeção intradérmica* sem produzir hipertermia, ou qualquer outra reacção local ou geral, basta para determinar o aparecimento de uma imunidade solida.

Esta imunidade é adquirida quasi imediatamente (nas primeiras 24 horas) e a acção quasi *explosiva* da vacinação permite jugular em poucas horas as epizootias mais graves, dispensando a utilização do sôro nos animais dos rebanhos contaminados e que tão onerosa é.

A imunidade é *sólida*, pois que 1/5 da dose imunisante minima por via sub-cutânea basta para vacinar por via intradérmica tão bem como 5 vezes esta mesma dose.

E' *intensa*, pois que os animais assim cuti-vacinados resistem á inoculação sub-cutânea de mil doses mortais minimas de carbunculo bacterídico muito virulento e comportam se em meio contaminado como os vacinados com duas ou três injeções de vacina por via sub-cutânea.

A imunidade é *duravel* porque durante um ano depois da applicação da vacina não foi observado, na maior parte das explorações, nenhum caso de carbunculo entre os animais vacinados, mesmo que esses animais se encontrassem num foco epizootico declarado.

Para simplificar podemos resumir do trabalho de Velu a serie de vantagens que o metodo de Besredka nos apresenta e que são: 1.º) *Aparecimento rapido da imunidade* (24 horas); 2.º) permitir vacinar com sucesso animais no *periodo de incubação*; 3.º) poder-se vacinar os animais muito sensiveis como o *cavalo* e a *cabra*; 4.º) possibilidade de fazer *vacinações simultaneas com a de outra doença*; 5.º) permitir *jugular as epizootias dispensando o em-*

prego de soro ; 6.º) conferir imunidade de longa duração ; 7.º) exigir apenas uma intervenção e empregar fracas doses de vacina ; 8.º) inocuidade, eficacia e economia.

Encontramo-nos, pois, em presença de um novo método de vacinação contra o carbunculo bacterídico que parece marcar um grande numero de vantagens, de ordem teórica e prática sobre todos os outros processos de imunisação anticarbunculosa usados até aqui.

Dentre essa série de vantagens é sem duvida a economia uma das mais destinadas a pesar no espírito dos proprietários, fazendo-os orientar a sua preferência no sentido da intradermo-vacinação.

Uma unica intervenção, diminuindo os encargos pecuniários do lavrador, vale bem mais do que duas intervenções de efeitos não tão seguros e rápidos.

Perante a soro-vacinação, o método de Besredka é também muito mais económico, não só porque a utilização do soro é demasiado onerosa, mas também porque, sendo de mais curta duração a imunidade conferida pelo método soro e virus, exige a vacinação mais de uma vez no ano.

Para os clínicos, igualmente a imunisação local do carbunculo parece ser preferível pois que, conferindo uma imunidade quasi imediata, possui, entre muitas outras vantagens, a da segurança que torna o método mais técnico e de maior precisão científica.

*

* *

Perante a noção da receptividade local para a doença e para a imunidade, Besredka considera os bons efeitos da vacinação anti-carbunculosa *pasteuriana* como sendo

devidos á conspurcação do tecido cutâneo pela vacina no acto da vacinação.

Outros autores, como Sachelarie, Urbain, Brocq-Rousseu, etc., pensam de maneira semelhante.

As teorias de Besredka, porém, ainda não completamente aceites, são contestadas por alguns autores que não obtêm resultados experimentais semelhantes aos seus ou que, obtendo-os, julgam dever apresentar outras explicações para o fenómeno.

Combiesco, Gratia, etc., fazem intervir, contrariamente a Besredka, a acção dos anticorpos na criação da cuti-imunidade.

Gratia afirma que o cobaia vacinado cutaneamente responde pela produção de aglutininas, sensibilisadoras e outros anticorpos. A mistura de bacterídeas com soro desses animais é incapaz de conferir a infecção.

Besredka diz que, dada a sensibilidade da bacterídea para toda a substância estranha, este fenómeno não tem nada de especial.

Acontece o mesmo com o *soro normal* de boi e o bacilo tífico cuja mistura injectada no peritoneo do cobaia não produz a morte, apesar do soro não conter anticorpos específicos. Se porém este fôr injectado separadamente do virus tífico o cobaia morre.

É o que acontece com o soro dos animais cuti-vacinados contra o carbunculo que não tem acção nenhuma quando injectado separadamente do virus.

Ramon atribui ao tecido sub-cutâneo um papel primacial na génese da imunidade. Combiesco, apesar de confirmar em parte a resistencia das vias venosa, sub-cutânea e intra-peritoneal para o carbunculo, atribui também ao tecido sub-cutâneo um papel importante na imunisação contra a bacterídea.

Para este autor, se a dóse de cultura inoculada nas veias, no peritoneo ou debaixo da pele fôr excessiva, o número de micróbios injectado é demasiadamente grande para que todos possam ser fagocitados. Os que ficam livres encapsulam-se, animalisam-se e provocam a infecção.

Injectada na pele, uma dóse mesmo pequena de bacterídeas produz a doença porque a defesa neste órgão é mediocre, dando tempo a que os micróbios se animalisem e ataquem depois o tecido sub-cutâneo.

Segundo Combiesco, podemos vacinar o coelho contra o carbunculo por via venosa desde que utilisemos bacterídeas animalisadas, e por via sub-cutânea se empregarmos culturas em meios adicionados de tapioca e depois formoladas. Se pelas vacinas clássicas o cobaia se vacina facilmente por via dérmica e não por via hipodérmica é porque o órgão cutâneo, que desempenha o papel de simples envolucro mecanico, demora a vacina dando-lhe tempo a que ela se animalise antes de contactar com o tecido sub-cutâneo.

Esta noção de simples saco envolvente da pele é contrária as teorias de Besredka que consideram este órgão como tendo uma função especial, encarregada de defender o organismo contra os agentes vindos do meio exterior, que encontram nela a primeira barreira a vencer para produzir a infecção.

Entre nós, o distincto médico-veterinário Dr. Sá Viana Conte, do Laboratório de Patologia Veterinária, ensaiou a vacinação anti-carbunculosa do coelho, por via sub-cutânea, utilizando a cultura em caldo-tapioca, segundo o método de Combiesco, sendo de opinião que o processo não é dotado de grande poder immunisante, pois apenas um dos seus coelhos sobreviveu á contra-prova.

Esse ensaio foi o seguinte :

— Carbunculo virulento, estirpe n.º 36, semeado em caldo-tapioca (400 c. c. para 10 gr.). — Estufa a 37° durante 10 dias.

— Juntar formol (2‰). — Estufa a 37° durante 4 dias.

— Colocar na geleira.

— Levam ao agitador, 15 minutos, e aplicar a 4 coelhos conforme o seguinte quadro :

COELHOS	Cultura de carbunculo em caldo-tapioca inactivada pelo formol e aplicada em :			Cultura virulenta de carbunculo aplicada em 29-8-928 na dose :	RESULTADOS
	31-7-28	6-8-28	18-8-28		
1	1 c. c.	1 c. c.	1 c. c.	1/1000 de aro	Morre, 12-8-28 <i>B. anthracis</i> .
2	2 c. c.	2 c. c.	2 c. c.	»	Sobrevive, 12-12-928
3	3 c. c.	3 c. c.	3 c. c.	»	Morre, 31-8-28 <i>B. anthracis</i> .
4	3 c. c.	3 c. c.	3 c. c.	»	Morre, 31-8-28 <i>B. anthracis</i> .
T	—	—	—	»	Morre, 31-8-28 <i>B. anthracis</i> .

No seu ensaio, o Dr. Viana Conte diminuiu a percentagem de formol utilizada por $\frac{2}{3}$ Combiesco de 3 para 2‰ no sentido de verificar se a esta diminuição correspondia um maior valor antigenico. Como se vê, o resultado não foi muito animador.

Gratia confirma a existencia da cuti-imunisação no coelho e no cobaia attribuindo-a, porém, ao facto da pele ser

mais favorável á multiplicação da bacterídea, permitindo a sua encapsulação e a manifestação das suas propriedades agressivas. Injectada a vacina debaixo da pele é rapidamente fagocitada e não chega a vacinar.

Basset, tendo observado a resistencia da via venosa, considera o fenómeno, como Combiesco, devido á intensa defesa leucocitaria englobando rapidamente as bacterídeas inoculadas.

Ledingham dá uma explicação semelhante da resistencia do peritoneo, dizendo que, se a inoculação de virus carbunculozo na cavidade peritoneal não produz a infecção é porque a defesa fagocitária é grande. Pelo contrario, a inoculação na pele provoca fácilmente a doença porque neste órgão a defesa é mediocre.

Besredka diz que, se assim fosse, o fenómeno passaria-se da mesma maneira com outros micróbios. Ora, com outros virus a sensibilidade do peritoneo é manifestamente mais acusada. Com o b. Eberth ou outros micróbios do mesmo grupo, com o vibrião colérico ou os cocus patogénicos, as inoculações intra-peritoneais mostram-se sempre mais mortíferas, a despeito da defesa local do peritoneo, do que as inoculações dos mesmos virus feitas debaixo da pele ou dentro da pele, que são sempre quasi inofensivas, apesar da defesa tão fraca do tecido cutâneo.

«Se as defesas locais são como pensa Ledingham, porque razão se manifestam no carbunculo e não nas outras infecções?»

Muller, fazendo permanecer culturas dentro de velas Chamberland no peritoneo do coelho e libertando depois o virus por rutura da vela, concluiu pela receptividade deste órgão, attribuindo a resistencia de alguns animais que sobreviveram ao facto de se terem vacinado.

Tendo observado a sensibilidade especial da pele para

o carbunculo considera a menor temperatura deste órgão como um dos factores dessa sensibilidade.

Blanc e Cominopetros verificaram também a cuti-immunidade e, como consideram o tecido nervoso o mais sensível á bacterídea, admitem a imunisação cutânea como sendo devida ao grande redenho nervoso da pele que tomaria parte activa na génese dessa imunisação.

Apesar disto, porém, existe actualmente uma grande tendencia para atribuir, com Besredka, uma acção muito importante ao sistema reticulo endotelial no estabelecimento da infecção e da imunidade carbunculosa.

A ideia da receptividade cutânea para a infecção bacterídica parece, de resto, não ser inteiramente nova.

Se folhearmos o Dicionario Universal de Agricultura de 1783 e nos detivermos um pouco no vocábulo carbunculo, lá veremos que, segundo opinião do autor, se trata de uma «doença que tem a sua séde nas glandulas da pele»,

Parte experimental

A intradérmo-vacinação conta hoje uma aplicação vas-tíssima, conquistando adeptos por toda a parte onde tem sido utilizada.

O seu emprêgo, feito mais intensivamente sobretudo na França e nas colónias francêsas, tem sido realizado e muitos outros países como a Inglaterra, a Italia, a Russia, a Roménia, a Tcheco-Slováquia, etc.

Entre nós, país essencialmente agrícola, nada há feito a este respeito a não sêr os trabalhos de dois distinctos médicos-veterinários e a que mais adiante aludiremos.

Resolvemos, por isso, efectuar alguns ensaios, come-çando pela cultura de *b. anthracis* envelhecida e filtrada ou esterilizada pelo formol e, depois, pelas vacinas anti-carbunculosas nacionais pasteuriana e esporulada, produ-zidas respectivamente no laboratorio de bacteriologia da Escola Superior de Medicina Veterinaria e pelo Labora-torio de Patologia Veterinária de Bemfica.

São os resultados desses ensaios que apresentamos nas páginas que se seguem.

Tentativa de cuti-vacinação carbunculosa pela cultura velha de carbunculo filtrada ou formolada.

Fim: Tentar saber se o filtrado e a cultura carbuncu-losa formolada possuem as mesmas propriedades cuti-

vacinantes do filtrado e da cultura velha esterilizada de estafilococcus.

É feita uma cultura de *b. anthracis*, estirpe E. S. M. V., em caldo de carne e mantida a envelhecer na estufa a 37° durante 10 dias.

No fim deste tempo, a cultura, observada ao microscópio, apresentou-se pura e muito esporulada.

Parte foi esterilizada pelo formol a 5 p. 1000 e, depois de 24 horas de contacto com o antiseptico, foi verificada esteril por culturas negativas.

Outra parte foi filtrada por vela Chamberland e o liquido obtido foi novamente semeado com *b. anthracis* e mantido na estufa a 37° durante 6 dias.

A cultura assim obtida apresentou-se com um fraco desenvolvimento e foi novamente passada por vela Chamberland, depois do que se fizeram culturas do filtrado que ficaram estéreis.

O liquido resultante desta filtração não é tóxico.

Injectado no cobaia na dóse de 2 c. c. o animal não manifesta sintomas que o distingam do testemunha mantendo-se esperto e com appetite.

O filtrado foi dividido em duas partes uma das quais foi incorporada com vaselina e lanolina na proporção seguinte: vaselina 1 p., lanolina 2 p. e filtrado 3 p.

Foi com a cultura formolada, o filtrado e a pomada de filtrado assim preparados que tentamos a cuti-vacinação no cobaia, realisando depois a contra-prova com 2.^a vacina pasteuriana aplicada em fricção sobre a péle barbada.

A experiencia foi assim conduzida:

Dia 20 de Outubro :

Cobaias n.ºs 1 e 2 — (550 gr. e 490 gr.):

Recebem respectivamente 1 e 2 c. c. de cultura formulada em multiplas injeccões intradérmicas em toda a extensão da pele do ventre (cuti-vacinação em superfície).

Cobaias n.ºs 2 e 4 — (520 gr. e 470 gr.):

São barbeados em toda a extensão da pele do ventre e friccionados com filtrado carbunculoso incorporado em vaselina e lanolina. E' lhes depois aplicado um penso com a mesma preparação que é mantido durante 24 horas.

Cobaias n.ºs 5 e 6 — (480 gr. e 550 gr.):

Recebem 1 c. c. de filtrado em varias injeccões na espessura da pele.

Ao 5.º dia de experiencia recebem de novo 1 c. c. de filtrado injectado nas mesmas condições.

Cobaia n.º 7 — (670 gr.):

Testemunha. Não se lhe faz nada.

No dia 25 do mesmo mês todos os animais, excepto os n.ºs 5 e 6, são friccionados com 2.ª vacina Pasteur E. S. M. V.

Estes ultimos recebem no dia 14 de Novembro 1/10 c. c. de 2.ª vacina em injeccão sub-cutânea.

Resultado :

Todos os animais apresentam edema local e morrem em 3-4 dias, tendo apenas os numeros 1 e 4 sobrevivido 12-14 horas sobre o testemunha. *B. anthracis*.

Os resultados obtidos nesta experiência são semelhantes aos obtidos por Hurska que não conseguiu a cuti-immunização anti-carbunculosa no cobaia utilizando a cultura de *b. anthracis* envelhecida na estufa e esterilizada.

Nos seus ensaios, este autor empregou a cultura de

carbunculo em caldo tendo permanecido 15 dias na estufa e desembaraçada depois das bacterídeas por filtração ou aquecida a 100.º durante 1 hora.

A tentativa foi feita no cobaia por fricção da pele barbeada ou por injeção intradérmica, sendo a operação repetida duas vezes com 7 dias de intervalo e fazendo a contra-prova com 2.ª vacina carbunculosa inoculada por fricção ou em injeção na espessura da pele.

Em todos os animais experimentados os resultados fôram completamente negativos pois não permitiram a Hurska obter a imunidade em nenhum caso.

Ensalos de intradérmo-vacinação pelas vacinas anti-carbunculosas E. S. M. V. e L. P. V.

No cobaia.

Entre nós, o primeiro ensaio de intradérmo-vacinação anti-carbunculosa no cobaia foi efectuado pelo Dr. Gualdino de Brito Vasques, ilustre assistente da nossa Escola.

O seu trabalho mostra que é possível obter neste animal imunidade contra o carbunculo, como afirmam Besredka e os seus colaboradores, desde que façamos a vacinação por injeção na espessura da pele.

Dois cobaias injectados intradérmicamente com antígeno formolado carbunculoso apresentaram, quando da contra-prova, uma sobrevivencia de 3 e 4 dias, respectivamente, sobre o testemunha.

A experiência do Sr. Dr. Brito Vasques foi assim feita:

Cobaia n.º 1: Inoculado intradérmicamente com 1/10 de c. c. de 1.ª vacina anti-carbunculosa pasteuriana. So-

brevivência. Inoculado sub-cutâneamente, 12 dias depois, com 1/4 de c. c. de 2.^a vacina, resistiu á prova.

Cobaia n.º 2: Inoculado intradérmicamente com 1/8 de c. c. de antigéneo formolado carbunculoso, seguido, passados 12 dias, de injeccão sub-cutânea de 2.^a vacina anti-carbunculosa pasteuriana.

Sobrevivência, relativamente ao testemunha, de mais quatro dias.

Cabaia n.º 3: Aplicação local sobre a pele barbeada de penso embebido em antigéneo carbunculoso formolado. Inoculado, passados 6 dias, com 1/4 de c. c. de 2.^a vacina, apresentou, sobre o testemunha, uma sobrevivência de três dias.

Cobaias n.ºs 4, 5 e 6: Testemunhas. Inoculados com 1/4 de c. c. de 2.^a vacina anti-carbunculosa, morreram decorridas 50 a 55 horas depois da inoculação.

Os nossos ensaios de intradérmo-vacinação no cobaia fôram efectuados com as vacinas anti-carbunculosas nacionais pasteuriana E. S. M. V. e esporulada L. P. V., tendo em vista saber, não só se as primeiras vacinas cuti-imunisavam contra as segundas respectivas mas também, qual era o tempo minimo em que se estabelecia essa imunidade.

As experiências fôram realizadas como se segue:

Cobaias n.ºs 8, 9 e 10 — (500 gr., 540 gr. e 510 gr.): São vacinados intradérmicamente com 1/10 de c. c. de 1.^a vacina *Pasteur* E. S. M. V.

O n.º 8 é inoculado, 48 horas depois, com 1/10 de c. c. de 2.^a vacina da mesma origem, injectada sub-cutâneamente num sitio afastado do ponto de vacinação.

Os n.ºs 9 e 10 não são inoculados porque apresentam

grande expeçamento duro da pele no ponto de inoculação acompanhado de um pouco de edema sub-cutâneo.

Cobaias n.ºs 11 e 12 — (540 gr. e 460 gr.):

Vacinados intradermicamente com 1/10 de c. c. de 1.ª vacina pasteuriana E. S. M. V.

Pequena reacção local ; descamação epidérmica.

24 horas depois, recebem a contra-prova feita no cobaia n.º 11 por fricção com 2.ª vacina *Pasteur* na pele barbeada e no n.º 12 por inoculação sub-cutânea de 1/10 de c. c. da mesma 2.ª vacina.

Cobaias n.ºs 13 e 14 — (510 gr. e 430 gr.):

Vacinados intradermicamente com 1/10 de c. c. de 1.ª vacina E. S. M. V.

Reacção local pequena. Destacam-se placas epidérmicas no ponto da vacinação.

18 horas depois, inoculados por fricção com 2.ª vacina na pele barbeada.

Cobaia n.º 15 — (510 gr.):

Testemunha. Não é vacinado. Fricção com 2.ª vacina *Pasteur* depois de barbeado.

Resultados :

Resiste á contra-prova o cobaia n.º 8 (1.º grupo) e n.ºs 11 e 12 (2.º grupo) ;

Sucumbem á contra-prova os cobaias n.ºs 13 e 14 (3.º grupo) ;

Sucumbem da vacinação os cobaias n.ºs 9 e 10, apresentando bacterideas no baço. O testemunha morre em três dias e meio, também com esfregaços de baço positivos.

Como vemos, a 1.ª vacina carbunculosa pasteuriana, produzida na Escola Superior de Medicina Veterinaria,

imunisa o cobaia, quando injectada intra-dermicamente, contra a inoculação da 2.^a vacina respectiva e a imunidade conferida estabelece-se com grande rapidez, podendo observar-se este facto nos cobaias do 2.^o grupo que resistiram á contra-prova 24 horas depois de vacinados.

Estes animais não apresentaram edema local, mas apenas um leve espessamento da pele nos pontos de injeccção das vacinas, acompanhado de descamação epitelial e sem a formação de escara.

O facto dos cobaias n.^{os} 9 e 10 terem succumbido á 1.^a vacina, talvez que se possa attribuir a um caso de hipersensibilidade individual pois essa vacina, produzida na nossa Escola, está suficientemente atenuada. Experimentada na escala biologica mata o ratinho e não mata o coelho nem o cobaia.

Realizado o ensaio com a vacina carbunculosa pasteuriana do laboratorio de bacteriologia da nossa Escola, resolvemos repeti-lo empregando a vacina carbunculosa esporulada do Laboratorio de Patologia Veterinaria, procurando igualmente saber, se injectada intra-dermicamente cuti-*imunisa* o cobaia e, tambem, qual o tempo minimo em que essa imunidade se estabelece.

A experiencia foi a seguinte :

Cobaias n.^{os} 16 e 17 — (515 gr. e 450 gr.):

Injectados na espessura da pele com 1/10 de c. c. de 1.^a vacina esporolada L. P. V. — Reacção local quasi nula.

São inoculados, 48 horas depois, com 1/8 de c. c. de 2.^a esporo-vacina da mesma origem em injeccção subcutanea.

Cobaias n.^{os} 18 e 19 — (550 gr. e 480 gr.):

Intradermo-vacinados, como os do grupo anterior, com 1/10 de c. c. de 1.^a esporo-vacina. Também apresentam uma reacção local minima.

Recebem a contra-prova, 24 horas depois de vacinados, com 1/8 de c. c. de 2.^a esporo-vacina injectada debaixo da pele.

Cobaias n.ºs 20 e 21 — (360 gr. e 610 gr.):

Cuti-vacinados como os dos grupos anteriores: injectação intradérmica de 1/10 de c. c. de 2.^a esporo-vacina.

Inoculação, 20 horas depois, com 1/8 de c. c. de 2.^a esporo-vacina em injectação hipodérmica.

Cobaia n.º 22 — (655 gr.):

Testemunha; não vacinado.

Inoculado sub-cutaneamente com 1/8 de c. c. de 2.^a esporo-vacina.

Resultados:

Resistem á contra-prova os cobaias do 1.^o e 2.^o grupos e o n.º 21.

Sucumbem os n.ºs 20 e 22 (testemunha), em 5-6 dias; esfregaços de baço positivos.

Os resultados obtidos com a vacina carbunculosa esporulada são pois semelhantes aos obtidos com a vacina carbunculosa pasteuriana, mostrando que a 1.^a vacina injectada intradérmicamente no cobaia confere imunidade anti-carbunculosa e que essa imunidade se estabelece muito rapidamente nas primeiras 24 horas.

Como afirma Besredka, pois, o cobaia, animal tão difficil de vacinar contra o carbunculo, imunisa-se, pelo contrario, facilmente e depressa desde que nos dirigamos á pele.

Nos ovinos:

A conselho do nosso ilustre professor Dr. Reis Martins, resolvemos repetir em ovinos o ensaio de intradermo-vacinação carbunculosa que realizamos no cobaia. Esta experiencia, sobremaneira interessante, exigia, porem, alguns destes animais, dificuldade que o ilustre director do Laboratorio de Patologia Veterinaria, Dr. Agueda Ferreira, nos removeu com facilidade, tendo-nos amavelmente cedido as ovelhas necessarias, o que nos tornou devidores dos nossos maiores agradecimentos.

Obtidos os animais, separamo-los em 3 grupos, A, B e C, que receberam a vacinação intradermica na face interna da orelha, respectivamente com 1.^a vacina, 1.^a e 2.^a com 48 horas de intervalo e apenas 2.^a inoculada sem passar pela primeira.

Os animais do grupo D pertenciam a um ensaio feito no Laboratorio pelo Dr. Ribeiro Baptista, cujos resultados ele nos autorizou a juntar aos nossos por se tratar de experiencias realizadas ao mesmo tempo, afim de podermos utilizar um unico testemunha.

A ovelha n.º 7 foi vacinada intradermicamente na mesma região com 1.^a vacina nacional e virus americano Lederle que apresenta uma virulencia superior á das nossas segundas vacinas, sendo destinado a ser utilizado com o sôro na vacinação pelo método simultaneo.

A ovelha n.º 8 recebeu directamente virus Lederle, na dose de 3/10 c. c., sem passar pela primeira vacina.

Tomadas as temperaturas em todos os animais, duas vezes ao dia, verificou-se que nenhum apresentou hipertermia nem qualquer outro fenomeno de reacção geral, o mesmo tendo acontecido quanto a reacções locais que foram completamente nulas, mesmo nos animais que rece-

beram directamente a 2.^a vacina, tendo apenas a ovelha n.º 8, que recebeu directamente virus Lederle, apresentado uma insignificante rubefacção no ponto de inoculação, que desapareceu em menos de 24 horas sem manifestar o mais pequeno edema.

A ovelha n.º 5 morreu no dia 3-12-28 de uma *timpanisação* intercurrente.

Não apresentou hipertermia, tendo os sintomas colhidos em vida e os elementos fornecidos pela necrópsia permitido facilmente o diagnóstico da intercorrência.

Pesquisa de *B. anthracis*: *negativa*.

Observação microscópica de esfregaços de baço: *negativa*. Hemoculturas em caldo e em agar: *negativas*. Culturas de emulsão de fígado, baço e pulmão em caldo e em gelose inclinada: *negativas*.

Podemos, pois, concluir que nos ovinos vacinados intradermicamente contra o carbunculo, segundo as normas de Besredka, não observamos fenomenos de reacção local ou geral, mesmo nos animais que receberam uma intervenção unica de 2.^a vacina e mesmo que esta apresentasse uma virulencia superior á das vacinas nacionais.

Estes resultados, que condizem com os observados lá fora por muitos autores, não se mostraram, porem, igualmente brilhantes quando procedemos á contra-prova.

Esta foi realisada em cada um dos animais alternadamente sub-cutanea e intradérmica, por injeccção de 1/100 de aro de cultura de 48 horas em gelose de uma estirpe muito virulenta que o Dr. Ribeiro Baptista propositadamente tinha exaltado.

Depois da inoculação morreram quatro dos animais injectados, apresentando esfregaços e culturas positivas.

O testemunha, apesar de ter chegado a um estado

	N.º do animal	1.ª vacina 17-11-928	Reacção	2.ª vacina 19-11-928	Reacção	1.ª inoculação 7-12-928	Resultado	2.ª inoculação 21-12-928	Resultado	Obs.
Grupo A	Ovelha n.º 1	Recebe intradermicamente na face interna da orelha 1/4 c. c. de 1.ª esporo-vacina L. P. V.	Nem local, nem geral. Temperaturas normais	—	—	Injecção sub-cutanea na face interna da coxa de 1/100 de aro de cultura virulenta de 48 horas em gelose, estirpe 39. (**).	Sobrevive 21-12-28	1/100 de aro de cultura virulenta de 48 horas, estirpe 39, em injecção sub-cutanea	Sobrevive 17-1-29	Todos os animais se encontravam em adiantado estado de gravidez
	Ovelha n.º 2	Idem	Idem	—	—	Idem intradermicamente na face interna da orelha	Sobrevive 21-12-28	Idem	Sobrevive 17-1-29	
Grupo B	Ovelha n.º 3	Idem	Idem	Injecção intradermica na face interna da orelha de 1/4 c. c. de 2.ª esporo-vacina L. P. V.	Nula Temperaturas normais	Idem sub-cutanea	Morre : 10-12-28 <i>B. anthracis</i>	—	—	
	Ovelha n.º 4	Idem	Idem	Idem	Idem	Idem intra-dermica	Morre : 12-12-28 <i>B. anthracis</i>	—	—	
Grupo C	Ovelha n.º 5	—	—	Idem 1/10 c. c. 2.ª esporo-vacina L. P. V.	Nem local, nem geral. Temperaturas normais	Idem sub-cutanea	Morre : 12-12-28 <i>B. anthracis</i>	—	—	
	Ovelha n.º 6	—	—	Idem 1/4 c. c. 2.ª esporo-vacina L. P. V.	Idem	—	—	—	—	Morre em 3-12-28 de uma timpanização intercurrente. Culturas de sangue do coração e emulsão de visceras em gel. e caldo: <i>negativas</i>
Grupo D	Ovelha n.º 7	Idem 3/10 c. c. de 1.ª esporo-vacina L. P. V. (*)	Idem	Idem 3/10 c. c. de virus americano Lederle	Idem	Idem intra-dermica	Sobrevive 21-12-28	Idem	Sobrevive 17-1-29	
	Ovelha n.º 8	—	—	Idem virus Lederle	Leve hiperemia local que desaparece em 24 h. T. normais	Idem sub-cutanea	Morre : 13-12-28 <i>B. anthracis</i>	—	—	
Testemunha	Ovelha n.º 9	—	—	—	—	Idem intra-dermica	Sobrevive 21-12-28 apresentando hipert. de 41°. Abortou. Um cob.ª inoculado ao mesmo tempo morre em +24 h. <i>B. anthrac.</i>	Idem	Sobrevive: 17-1-29. Um coelho inoculado ao mesmo tempo, morre em +48 horas. <i>B. anthracis.</i>	

(*) 8-11-928

(**) 11-12-928

Year	Quarter 1	Quarter 2	Quarter 3	Quarter 4	Year Total
1911
1912
1913
1914
1915
1916
1917
1918
1919
1920
1921
1922
1923
1924
1925
1926
1927
1928
1929
1930
1931
1932
1933
1934
1935
1936
1937
1938
1939
1940
1941
1942
1943
1944
1945
1946
1947
1948
1949
1950
1951
1952
1953
1954
1955
1956
1957
1958
1959
1960
1961
1962
1963
1964
1965
1966
1967
1968
1969
1970
1971
1972
1973
1974
1975
1976
1977
1978
1979
1980
1981
1982
1983
1984
1985
1986
1987
1988
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
1996
1997
1998
1999
2000
2001
2002
2003
2004
2005
2006
2007
2008
2009
2010
2011
2012
2013
2014
2015
2016
2017
2018
2019
2020
2021
2022
2023
2024
2025
2026
2027
2028
2029
2030

1911-1920
1921-1930
1931-1940
1941-1950
1951-1960
1961-1970
1971-1980
1981-1990
1991-2000
2001-2010
2011-2020
2021-2030

bastante grave, sobreviveu, o que nos não admira grandemente, pois que o animal foi adquirido num marchante que nos não poderia garantir que não estivesse vacinado contra o carbunculo.

Como morreu maior percentagem de animais contraprovados por via sub-cutânea e este facto podesse deixar duvidas, foram de novo inoculados todos os sobreviventes com 1/100 de aro de cultura virulenta da mesma estirpe n.º 39 mas desta vez a injeção foi feita a todos subcutâneamente.

Resultado: Todos os animais sobreviveram.

Analisando o quadro junto, verificamos que estes resultados nos não autorizam a tirar conclusões seguras a favor ou contra o método intradérmico.

Assim, e perante os resultados obtidos lá fora, somos forçados a ir procurar a razão da morte dos quatro ovinos vacinados a qualquer outra causa, possivelmente um exagero do dose de contra-prova, apesar da que utilizamos ser a que usa Sobernheim no coelho para a titulação do sôro anti-carbunculo.

Há que atender porem a que se tratava de uma estirpe muito virulenta e que os animais, todos em estado de gravidez e já de sua natureza muito sensiveis ao carbunculo, se encontravam mal abrigados, tendo o ensaio decorrido numa epoca de chuva e frio rigoroso.

Esta ultima razão não é muito para desprezar pois que o frio, segundo demonstraram Woringer e Brusset, é um poderoso inibidor da função immunisante da pele e, alem disso, o calor ambiente é um elemento sempre a aproveitar no tratamento dos doentes carbunculosos.

Nos equideos

Nos equideos a vacinação anti-carbunculosa intradermica foi efectuada, pela primeira vez em Portugal, pelo distincto médico-veterinario Dr. Ribeiro Batista, do Laboratorio de Patologia Veterinaria.

Os seus trabalhos foram realizados em animais destinados á hiper-imunisação para a produção de sôro anti-carbunculozo e o Laboratorio possui já hoje bastantes deles que foram imunizados por via dermica, tendo os resultados sido os melhores, com ausencia de toda a complicação e da minima reacção local ou geral.

A historia dessas imunisações é resumidamente a que se segue :

Burro n.º 20 I — Imunizado intradermicamente com 5 c. c. de 1.^a esporo-vacina L. P. V. seguida, 7 dias depois, de igual dose de 2.^a vacina injectada tambem na pele.

Não apresentou reacção local ou geral tendo sido hiper-imunizado por via intra-venosa.

Mulos n.ºs 11 I e 13 I — Imunizados intradermicamente com 5 c. c. de 1.^a esporo-vacina, 5 c. c. de 2.^a e 5 c. c. de vacina reforçada, com 7 dias de intervalo entre cada applicação.

Não manifestaram fenomenos de reacção termica ou local.

7 dias depois da vacina reforçada, receberam em injectação na espessura da pele 1/1000 de aro de cultura virulenta, sem manifestar edema ou qualquer outra reacção.

Receberam depois 1/1000 de aro de cultura virulenta em injectação intra-venosa na jugular. A esta dose apre-

sentaram edema no peito e no bordo inferior da tabua esquerda do pescoço que se reabsorveu facilmente com o auxílio de sôro anti-carbunculoso.

Foram hiper-imunizados por via intra-venosa.

Burro n.º 2 III — Imunizado por injeccões intradermicas de 2,5 c. c. de 1.^a vacina, 2,5 c. c. de 2.^a e 5 c. c. de vacina reforçada, intervaladas por espaços de 7 dias.

Reacção nula,

Depois da vacina reforçada recebeu logo 1 aro de cultura virulenta em injeccão hipodermica, tendo resistido sem apresentar fenomenos de reacção local ou geral.

A hiper-imunisação, feita por via sub-cutânea, levou apenas 8 meses.

Nunca apresentou abcessos nos pontos de inoculação no decorrer da hiper-imunisação, contrariamente ao que tem sucedido com outros animais imunizados por via sub-cutânea e hiper-imunizados pela mesma via.

Mulos n.ºs 9 II e 13 II — Imunizados intradermicamente com 2,5 c. c. de 1.^a vacina e, 7 dias depois, 2,5 c. c. de 2.^a vacina.

Reacção nula.

O mulo n.º 13 II, imunizado intradermicamente, e um outro n.º 11 II, imunizado por via sub-cutanea, testemunya, foram injectados hipodermicamente, em seguida á imunisação, com 1 aro de cultura virulenta.

O n.º 13 II apresentou simplesmente uma leve reacção local, sem abcedar, que se reabsorveu com facilidade.

O n.º 11 II, imunizado hipodermicamente, apresentou uma grande reacção local e *sucumbiu*, apesar de ter recebido 700 c. c. de sôro anti-carbunculoso por via intra-venosa e sub-cutanea.

Titulado, pelo método Sobernheim, o poder anti-bac-térico de uma amostra do sôro utilizado, morreram 1 coelho testemunha e 1 que havia recebido sôro e sobrevive-ram 4 de sôro. Não se pôde, pois, atribuir o insucesso á má qualidade deste.

O mulo n.º 13 II, hiper-imunizado por via sub-cutanea, encontra-se hoje com 4 placas de Petri, não tendo nunca abcedado quando das inoculações.

A hiper-imunisação, depois da imunisação intra-der-mica, efectuou-se no curto periodo de 7 mezes.

Entre todos estes animais cutivacinados intradermica-mente conta-se também um cavalo, cuja imunisação nos foi permitido seguir de perto, tendo os resultados obtidos sido os seguintes :

Cavalo n.º 11 III.

28 de Setembro de 1928 :

Recebe 1 c. c. de 1.^a esporo-vacina L P. V. em varias injecções intradermicas na tábua direita do pescoço.

Apezar da dóse injectada ter sido dupla da que ordi-nariamente se usa no cavalo, o animal não apresentou a mais pequena reacção local, o apetite manteve-se e não houve a minima hipertermia.

6 de Outubro de 1928 :

Injectado intradermicamente com 1 c. c. de 2.^a esporo-vacina da mesma origem, na tábua esquerda da pescoço.

Nos dias seguintes, reacção local e geral nula.

15 de Outubro de 1928 :

Recebe 1,5 c. c. de vacina reforçada L. P. V. em várias injeções intradérmicas na mesma região. Não apresentou reacção.

28 de Outubro de 1928 :

É-lhe feito o contraste por injeção intradérmica de 2 c. c. de vírus americano Lederle.

Não manifestou edema, nem hipertermia, nem qualquer outro fenómeno de reacção.

14 de Dezembro de 1928 :

Recebe a mesma dose de vírus americano Lederle em injeção sub-cutânea, reacção nula.

21 de Dezembro de 1928 :

É injectado sub-cutaneamente com 1/100 de aro de cultura de carbunculo virulento em gelose com a idade de 48 horas.

Não apresentou reacção.

8 de Janeiro de 1929 :

Recebe em injeção debaixo da pele a dose de 1/10 de aro de cultura virulenta em gelose e não manifesta a minima reacção local ou geral.

Analisando o que fica descrito, observamos que nos equideos a intradérmica vacinação não provoca reacções locais ou gerais, mesmo que se force a dose de vacina empregada, e que a imunidade conferida parece ser bastante sólida.

O Dr. Ribeiro Batista é mesmo de opinião que o mé-

todo intradérmico traz incontestáveis vantagens de ordem económica e prática para um laboratório.

Assim, tem observado que desde que imunisa convenientemente a pele, deixaram de aparecer abscessos quando das injecções hipodérmicas de cultura para a hiper-imunização. Pelo contrário, nos animais imunizados sub-cutaneamente estes abscessos tem sido constantes, havendo ainda hoje no Laboratório um destes animais que os manifesta sempre que recebe cultura.

Além disso, com o uso da cuti-imunização intradérmica viu baixar o período de hiper-imunização, que antes era de 12 meses, para o curto espaço de 7 a 8 meses, possuindo o soro obtido um valor preventivo e curativo pelo menos igual ao produzido pelos animais imunizados por via sub-cutânea.

*

•

*

Dos casos apontados, embora não sejam em grande número, ressalta com evidencia a utilidade do método intradérmico na vacinação anti-carbunculosa.

Em muitos países já o seu estudo passou do simples campo da experimentação para o da aplicação prática.

É, pois, necessário que entre nós se trabalhe no sentido de aproveitar as excelencias do novo método, visando sobretudo o seu possível emprêgo nos animais novos e nas fêmeas gestantes e principalmente na cabra, prestando-se um incalculavel bem ao país se conseguissemos a eliminação deste reservatorio de virus que, em certas regiões, quasi por si só mantém o contágio do carbunculo.

Outras utilidades, porém, possui o método intradérmico que são de molde a aconselha-lo nas nossas explo-

rações e dentre elas podemos destacar a sua rapidez de acção, duração e intensidade da imunidade conferida, economia de tempo e dinheiro, possibilidade de se utilizar em rebanhos contaminados extinguindo as epizootias sem necessitar de soroterapia, exigir apenas uma unica intervenção, etc.

Em Portugal apenas uma percentagem, que vale por uma pequena minoria dos nossos rebanhos, é anualmente posta a coberto das doenças contagiosas pelo emprego intelligente dos soros e das vacinas.

Este emprego tem que ser mais divulgado e dele se deve fazer uma propaganda activa, principalmente entre os meios rurais, para que nos não envergonhemos de ver grassar as epizootias no nosso país com a mesma sem-cerimónia com que o fariam há uns séculos atraz.

É este um problema que deve marchar a par de tantos outros de primacial importancia, como a lucta anti-tuberculosa, a lucta anti-rábica, etc., e para cuja solução o recente decreto que criou os Inspectores Municipais de Sanidade Pecuária vai certamente concorrer de uma maneira decisiva.

E nós, país essencialmente agrícola que tem na pecuária uma das suas maiores riquezas, nós que arcamos com as responsabilidades da terceira maior potencia colonial do mundo, só marchando a par dos outros nos conseguiremos impôr como aquilo que realmente somos.

... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...

... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...

... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...

... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...

... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...
... e depois, a partir de então, a sua vida...

... e depois, a partir de então, a sua vida...

CONCLUSÕES

I

A cultura de carbunculo envelhecida na estufa e filtrada ou esterilizada pelo formol a 5⁰/₀₀ friccionada na pele barbeada ou injectada intradermicamente no cobaia não conferiu imunidade anti-carbunculosa.

II

No cobaia, as primeiras vacinas anti-carbunculosas nacionais, pasteuriana E. S. M. V. e esporulada L. P. V., quando injectadas intradermicamente, imunizam contra as segundas vacinas respectivas e essa imunidade é conferida muito rápidamentee nas primeiras 24 horas.

III

Nos ovinos a intradermo-vacinação anti-carbunculosa não produz fenómenos de reacção local ou geral, mesmo que utilisemos uma unica intervenção de 2.^a vacina ou de virus americano Lederle sem passar pela 1.^a vacina e mesmo que os animais vacinados se encontrem em período de gestação.

IV

Nos equideos a intradermo-vacinação anti-carbunculosa não provoca reacção local ou geral, mesmo que se force

a dose de vacina empregada e a imunidade conferida pelo método parece ser bastante sólida.

V

Em virtude das enormes vantagens que apresenta o método intradérmico num só tempo, sobre outros métodos de vacinação anti-carbunculosa, é necessário que entre nós se trabalhe no sentido de fazer a sua aplicação nos nossos rebanhos, visando sobretudo a possível vacinação da cabra, a fim de podermos eliminar este perigoso reservatório de virus.



III

VI

BIBLIOGRAFIA

Études sur l'Immunité dans les maladies infectieuses —
A. Besredka — Masson 1928.

Immunisation locale. Pansements spécifiques—A. Besredka
— Masson 1925.

Immunité, Antigènes, Anticorps par Jules Bordet — Tome
VII, Sang, Lymphes, Immunité, du *Traité de Physiologie
normal et pathologique* de G. H. Roger et Léon Binet
— Masson 1926.

Traité de l'Immunité dans les maladies infectieuses — Ju-
les Bordet — Masson 1920.

Traité des Maladies du Gros Bétail — G. Moussu et
R. Moussu — Vigot Frères, 1928.

Comptes Rendus de la Société de Biologie.

Annales de l'Institut Pasteur.

Bulletin de l'Institut Pasteur.

La Presse Médicale.

Revue General de Médecine Vétérinaire.

Récueil de Médecine Vétérinaire.

Annales de Médecine Vétérinaire.

Revue Vétérinaire et Journal de Médecine Vétérinaire.

La Clínica Veterinária.

La Nuova Veterinária.

Revue d'Hygiène et de Médecine Préventive.

Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France.



