JULIO DE M. RUELLA

A IMMUNISAÇÃO

CONTRA AS DOENÇAS MICROBIANAS

ABRIL DE 1911

A IMMUNISAÇÃO
CONTRA AS DOENÇAS MICROBIANAS

INSTITUTO DE AGRONOMIA E VETERINARIA

A IMMUNISAÇÃO
CONTRA AS DOENÇAS MICROBIANAS

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

Apresentada e defendida

POR

Julio de Mascarenhas Ruella

Abril de 1911

LISBOA
INSTITUTO GERAL DAS ARTES GRAPHICAS
Sociedade Cooperativa — Limitada
Rua das Pretas, 17
1911

INSTITUTO DE AGRONOMIA E VETERINARIA

Director

José Verissimo d'Almeida

Secretario

Theotonio Julio Pimenta Rodrigues

Curso de Medicina Veterinaria

CADEIRAS	LENTES
Anatomia descriptiva e comparada, embryologia e teratologia	Joaquim Ignacio Ribeiro
Botanica	Antonio X. Pereira Coutinho (D.)
Physica agricola	Filippe de Figueiredo
Histologia e Physiologia comparada	José Antunes Pinto
Materia medica, chimica medica, pharmacologia e pharmacia	Antonio Augusto dos Santos
Chimica agricola e analyse	Luiz A. Rebello da Silva
Pathologia geral e anatomia pathologica geral	João Sabino de Sousa
Pathologia interna	José Maria Alves Tórgo
Agricultura geral e culturas arvenses	Carlos Eugenio de Mello Geraldes
Pathologia externa, medicina operatoria e obstetricia	João Ferreira da Silva
Zootechnia, exterior e hygiene dos animaes domesticos	Antonio M. dos Santos Viegas
Pathologia das doenças contagiosas e direito veterinario	João Viegas Paula Nogueira.

Clinicas

Medica	José Maria Alves Tórgo
Cirurgica	João Ferreira da Silva
Das doenças contagiosas	João Viegas Paula Nogueira

Cursos auxiliares

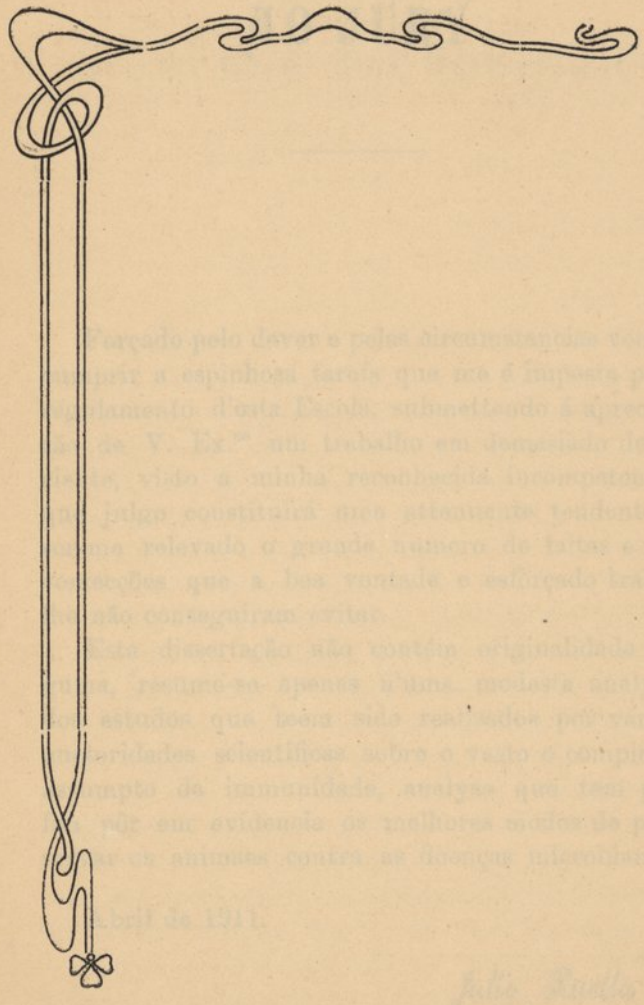
Microscopia	Miguel A. Reis Martins
Chimica geral	C. J. de Lima Alves
Zoologia	Godofredo da Silva Santos

Chefes de serviço

Manoel Diogo da Silva, Godofredo da Silva Santos,
Miguel Augusto dos Reis Martins,
José Miranda do Valle, Antonio Carvalho da Fonseca.

---

*O **Instituto** não se responsabilisa pelas doutrinas exposta n'esta dissertação. (Art.º 76.º do Reg.º de 10 de setembro de 1903.*



AO JURY

Forçado pelo dever e pelas circumstancias venho cumprir a espinhosa tarefa que me é imposta pelo regulamento d'esta Escola, submettendo á apreciação de V. Ex.as um trabalho em demasiado defficiente, visto a minha reconhecida incompetencia que julgo constituirá uma attenuante tendente a ser-me relevado o grande numero de faltas e incorrecções que a boa vontade e esforçado trabalho não conseguiram evitar.

Esta dissertação não contém originalidade alguma, resume-se apenas n'uma modesta analyse dos estudos que teem sido realisados por varias auctoridades scientificas sobre o vasto e complexo assumpto da immunidade, analyse que tem por fim pôr em evidencia os melhores modos de preservar os animaes contra as doenças microbianas.

Abril de 1911.

Julio Ruella

A DOENÇA MICROBIANA

O organismo dos animaes domesticos encontra-se defendido, naturalmente, pela pelle e pelas mucosas contra o ataque das bacterias, mas, logo que n'aquellas, sob a acção de que qualquer traumatismo, se crie uma solução de continuidade ou um logar de menor resistencia, o animal está exposto a todas as infecções, tem em si uma porta de entrada bastante para qualquer germen microbiano.

A entrada do microbio no interior dos tecidos do animal, não significa, fatalmente, a producção, n'esse animal, de phenomenos morbidos. A doença microbiana não pode ser considerada pura e simplesmente devida á entrada do microorganismo pathogeneo no seio dos tecidos do animal, a doença microbiana é o resultado da lucta que se trava entre o agente invasor e o organismo invadido, e este resultado está directamente dependente do valor de cada um d'estes factores, não tendo nada de absoluto antes mostrando-se em extremo variavel com diversas circumstancias que passo a analysar.

Condições principaes de variabilidade do valor do microbio

Virulencia. — E' um factor que tem de se considerar em primeiro logar, visto ser uma propriedade em virtude da qual certas bacterias podem determinar graves perturbações no organismo em que penetraram.

Esta propriedade foi definida por Roux como sendo uma aptidão dos microbios pathogeneos para se multiplicarem e segregarem toxinas no interior dos animaes. Estas toxinas, que possuem os caracteres geraes das diastases, de composição ainda desconhecida, são capazes, só por si e em dóses extremamente pequenas, de produzir perturbações mortaes. Assim, a toxina diphterica, na dóse de $\frac{1}{200}$ do c. c. mata o cobaya; a toxina tetanica mata o mesmo animal na dóse de $\frac{1}{1.000}$ do c. c. e na de $\frac{1}{2}$ do c. c. é mortal para o cavallo; a toxina botulinica é de tal energia que na insignificante dóse de $\frac{1}{5.000.000}$ do c. c. faz succumbir o rato, etc.

Não tem sido possivel isolar as toxinas no estado de pureza. Sabe-se, no entanto, que algumas, como a toxina botulinica, tetanica, cholerica, typhica diphterica etc., abandonam facilmente as bacterias que lhes dão origem; outras, pelo contrario, só difficilmente se desprendem das cellulas d'onde proveem, estão n'este caso as *plasminas*, mais ou menos toxicas, retiradas do bacillo typhico e do vibrião cholerico, depois de desembaraçados das toxinas soluveis.

A producção das toxinas é muito variavel e parece estar em relação com a das diastases digestivas. A experiencia tem mostrado que a toxina tetanica só é bastante activa quando, no meio em que se cultiva o bacillo de Nicolaier, existem chloretos, ao passo que, para a toxina diphterica, é necessario que o bacillo de Loeffler encontre phosphatos á sua disposição.

A reacção do meio tambem influe na secreção das toxinas e, em geral, são os meios neutros que mais favorecem a sua producção. A presença ou ausencia do ar atmospherico e o grau thermico, são, egualmente, factores de variabilidade, a que convem attender, na producção, tanto quantitativa como qualitativa, das toxinas.

Como se vê, a producção das toxinas não está sujeita a regras fixas, antes pelo contrario, se mostra extremamente variavel com numerosas circunstancias.

Do mesmo modo, a aptidão de viver e multiplicar-se no seio d'um organismo, não é exclusivo de microbios especiaes, mas sim, uma faculdade que pode ser adquirida ou perdida pela adaptação ao meio.

Assim, o *bacillus subtilis* que normalmente é incapaz de se desenvolver no cobaya, póde, no entanto, habituar-se a viver, como parasita, no organismo d'aquelle animal; o mesmo se dá com o *bacillus mesentericus vulgatus* em relação ao coelho.

Por outro lado, a experiencia tem evidenciado, que pela cultura em meios artificiaes, se conseguem

transformar as bacterias pathogeneas, em seres quasi inoffensivos para as especies em que determinavam a doença.

Os mesmos resultados se podem obter variando a acção do calor, do ar e da luz ou fazendo actuar, sobre as culturas, substancias antisepticas. Foi assim que Pasteur diminuiu a virulencia do agente do cholera das gallinhas e a da bacteridia carbunculosa mantendo a temperatura do meio de cultura, respectivamente a 37 e 42°. Pela dessecação obteve, o citado auctor, o enfraquecimento do agente da raiva, emquanto que Chauveau e Arloing, conseguiram a attenuação do virus d'esta doença, pela acção da luz. Roux e Chamberland, cultivando o *bacillus anthracis,* em um caldo addicionado de acido phenico, na proporção de $\frac{1}{600}$ ou de bicarbonato de potassa na de $\frac{1}{1.200}$, verificaram que a virulencia d'aquelle microbio decresce rapida e progressivamente.

Outro processo, porque se consegue modificar a virulencia d'um microbio pathogeneo, é a passagem successiva d'esse microbio por animaes que vulgarmente não são por elle invadidos. O immortal Pasteur, fazendo passar o agente do mal rubro sobre o coelho, constatou que aquelle microbio ia augmentando de virulencia para este animal, mas se attenuava em relação ao porco. Ainda, devido ao espirito observador de Pasteur, se sabe que, o virus rabico passando pelo macaco se torna menos activo para o cão.

Facto analogo é citado por Zakharoff com re-

lação ao *bacillus mallei,* cuja virulencia se torna menor para o cavallo, quando previamente se tenha feito passar pelo gato.

A virulencia, porém, póde-se fazer exaltar, como o provou Pasteur, com relação ao mal rubro, passando o germen d'esta doença pelo pombo. O bacillo retirado d'este animal e inoculado no porco, mostra-se muito mais virulento do que normalmente.

Por meio das associações microbianas, como veremos mais adeante, tambem se póde exaltar a virulencia.

Esta propriedade não tem, pois, nada de definitivo antes se vê que póde apparecer ou desapparecer, augmentar ou diminuir, segundo multiplas e variadas circumstancias.

Proveniencia das bacterias. — Do que fica dito comprehende-se a importancia d'este factor, por quanto, pela adaptação dos microbios aos meios em que se encontram, torna-se evidente que uma dada especie, tendo vivido por muito tempo no ar, na agua ou no solo, desde que seja introduzida bruscamente no interior do organismo, experimentára, por certo, muitas difficuldades para resistir ás novas condições mesologicas e aos agentes defensivos do organismo. Se, porém, se trata do contagio, directo ou indirecto, de animal para animal, já o microbio se encontra n'outras condições de resistencia e habituado ao meio, tornando-se por isso mais virulento.

A reforçar estas doutrinas vem a experiencia dizendo-nos que os streptococcos que tenham vivido por muito tempo nos meios exteriores não dão origem quando inoculados, a perturbações de importancia; ao passo que os provenientes d'um erysipelatoso produziram já lesões mais graves ou mesmo uma verdadeira erysipela.

Quantidade de bacterias. — E' intuitivo que este factor muito deve contribuir para a maior ou menor gravidade da infecção, pois muito bem se sabe que, os meios de defeza á disposição do organismo, não teem um poder illimitado, d'onde resulta que, quanto maior fôr o numero de microbios, tanto mais encarniçada será a lucta e conseguintemente maiores serão as difficuldades d'aquelle para sair victorioso. Tal verdade foi posta bem em evidencia por Buchner, o qual, collocando cobayas em uma atmosphera confinada e carregada de *bacillus anthracis* isolados, reconheceu que era necessario elevar a quantidade de bacterias a 1.000:000:000, por metro cubico, para produzir infallivelmente o carbunculo.

Influencia das associações microbianas. — E' corrente, desde os trabalhos de Pasteur, que por meio das associações de microbios se póde annular ou adjuvar o poder de uma dada especie microbiana. O grandioso bacterioligista provou que quando se inoculava a bacteridia car-

bunculosa com outros microbios inoffensivos, o carbunculo não se desenvolvia, deixando illesos os animaes de experiencia. Outros auctores demonstram, depois, que o *cocco-bacillus prodigiosus*, o bacillo de Friedlander e o pyocianico possuiam egualmente uma acção antagonica em relação á dicta bacteria.

Porém, a juncção de streptococcos com o bacillo diphterico determina a exaltação da virulencia d'esto ultimo, que, do mesmo modo, se torna altamente energico em face dos agentes da putrefacção.

Quando a uma infecção streptococcica se associam os agentes da putrefacção, determina-se uma septicemia, em regra mortal, devido á exaltação da virulencia dos streptococcos.

Pertencem ainda á cathegoria dos exemplos em que ha adjuvancia microbiana, as exaltações soffridas pelo bacillo tetanico e pelos staphylococcos em contacto, respectivamente, com os agentes pyogenicos e com os pneumo-coccos.

Do que sob a ultima epigraphe fica exposto vê-se, claramente, quanto variavel póde ser o resultado d'uma infecção, visto que, no organismo se encontram normalmente especies microbianas, que tanto pódem favorecer como annular a acção do microbio introduzido. Não é raro dar-se o caso, de certas bacterias inoffensivas se tornarem altamente perigosas, quando inoculados no organismo, em virtude de poderem realisar verdadeiras symbioses com os microbios já existentes.

Influencia do logar de entrada. — Tendo-se observado clinicamente, que varias doenças apresentavam manifestações e evolução que differiam conforme o ponto de entrada dos microbios, suppoz-se que esses caracteres especiaes fossem devidos aquelle facto.

Effectivamente a experiencia vem reforçar esta supposição mostrando que variando o logar de entrada, para o mesmo microbio, se obteem resultados diversos; em geral as inoculações intra-venosos, intra-peritoneaes ou intra-pleuraes são mais graves do que as intra-cutaneas ou sub-cutaneas. A administração de microbios pela via digestiva não produz, em regra, perturbação alguma, ainda mesmo quando praticada em animaes que lhe sejam muito sensiveis, quando a via escolhida é outra. O que se passa com o cavallo, tão sensivel ao bacillo de Nicolaier, que se póde encontrar no tubo digestivo d'este animal sem o incommodar, constitue um exemplo bem frisante do que fica dito.

As inoculações nos centros nervosos ou n'um orgão proximo, como no olho, são immensamente graves, principalmente quando se trata de microbios que teem uma afinidade especial para o tecido nervoso, como succede com o virus da raiva.

Condições principaes de variabilidade do valor do individuo

Estas condições pódem-se dividir em *extrinsecas* (temperatura, pressão atmospherica, luz, etc.)

e *intrinsecas* (especie, raça, variedade, individuo, edade, estado de fadiga, miseria organica, etc.).

Pondo de lado as condições extrinsecas e algumas intrinsecas que possuem um caracter generico, exercendo uma acção analoga em toda a pathologia, que se resume em enfraquecer a resistencia do organismo de modo a preparar á doença um terreno mais favoravel ao seu desenvolvimento, vou tratar das condições physiologicas da especie, da raça, da variedade e do individuo, que lhes permittem resistir ou permanecer immunes a um ataque microbiano.

Quando em condições normaes se inocula um dado virus a um determinado animal, este póde reagir de dois modos diversos: ou apresenta perturbações mais ou menos graves ou se mostra indifferente á inoculação.

N'este ultimo caso, quando o animal não revela alteração alguma, diz-se que elle é immune ou possue immunidade para a especie microbiana introduzida. O caracol, a rã e a gallinha, estão n'este caso, em relação á bacteridia carbunculosa pois que toleram doses seguramente mortaes para o carneiro e para o boi.

Todos os animaes domesticos resistem ao *treponema pallida* que tão facilmente ataca o homem, por outro lado a peste bovina, a gurma, o cholera das gallinhas, a pneumo-enterite dos porcos, etc., não se transmittem á especie humana; o boi não é atacavel pelo *bacillus mallei* e o cavallo não apre-

senta nunca a peripneumonia contagiosa dos bovideos, etc., etc.

Todas estas especies de animaes resistem d'um modo constante ás infecções indicadas, transmittindo-se hereditariamente, essa resistencia, de geração em geração de modo a tornar-se um attributo proprio da especie.

E' o caso da immunidade natural.

Contudo, esta immunidade nem sempre é apanagio d'uma especie inteira, tal é o que se verifica com os carneiros da Argelia que são perfeitamente refractarios ao *bacillus anthracis,* filiando-se o facto, provavelmente, n'uma questão de selecção natural em virtude da qual só ficariam os mais fortes, os que seriam capazes de resistir melhor ao carbunculo hematico, o que se iria acentuando de geração em geração até á formação de uma raça que se caracterisasse pela enorme refractariedade a bacteridia carbunculosa.

Landouzi refere-se tambem a um caso d'esta ordem, em que os habitantes de Versailles e Lyon se não deixam influenciar pelo vimbrião cholerico, sem saber a que attribuir semelhante immunidade.

Outras vezes nota-se ainda que a immunidade natural é um attributo individual.

A este respeito é interessante observar o que se passa por vezes com os animaes de experiencia aos quaes, em perfeita egualdade de circumstancias, se tenha inoculado um determinado agente pathogeneo. Se a dose foi mortal para a maior parte, lá apparece, todavia, um ou outro que se

conserva indifferente. Até hoje, este facto não recebeu explicação satisfactoria.

*

* *

Quando um animal é atacado por um dado virus e contrae a doença, esse animal depois de curado, apresenta-se intimamente transformado e capaz de resistir, por um espaço de tempo, que pode ser indefinido, a um novo ataque d'esse mesmo virus. Este é o caso da *immunidade adquirida naturalmente* tão commum com a variola do homem, com o cholera, o typho, etc.

Vaillard sustenta que esta immunidade se póde transmittir por hereditariedade, constatando o facto sobre diversas femeas, immunes contra o carbunculo e contra o cholera, cujos filhos a manifestavam mesmo passados 4 a 5 mezes depois do parto.

A immunidade adquirida póde ser conferida aos animaes, por varios processos que constituem a *immunisação* da qual me occuparei mais adeante.

Resta ainda accrescentar, que é preciso não confundir a immunidade contra a infecção microbiana, com a immunidade contra as toxinas, porque são duas propriedades distinctas.

O *bacillus pyocianicus* e o *cocco-bacillus prodigiosus*, por vezes existentes nas feridas, são inoffensivos e todavia as toxinas d'elles retiradas produzem, quando inoculadas em animaes, alterações pathologicas graves.

E' necessario, portanto, considerar tambem uma

immunidade natural e uma immunidade adquirida para as toxinas.

Immunidade natural para os microbios pathogeneos

Depois da introducção de agentes virulentos, n'um organismo naturalmente refractario, quer no tecido sub-cutaneo quer directamente na torrente circulatoria, nota-se que esses agentes, passado tempo, desapparecem do interior do animal de experiencia.

Opitz injectando directamente no sangue de cães, 10.000.000 de microbios, viu que, passados vinte minutos, apenas se encontravam n'esse mesmo sangue 9.000.

De que processo se serviu o organismo para operar semelhante eliminação?

De principio, por analogia com o que se passava com os toxicos vegetaes e mineraes, pensou-se que o organismo se depuraria dos microbios, expellindo-os pelos emunctorios naturaes. Mais tarde, depois de bastantes controversias suscitadas por innumeras experiencias em que tomam, sem duvida, o primeiro logar as de Opitz e Metin, ficou assente que os microbios não eram eliminados pelo rim, pelo figado, nem pelo intestino.

Krikliwy faz-nos, por seu lado, saber que as bacterias não são, como alguns auctores o julgaram, regeitadas pelas glandulas sudoriparas.

O facto da reabsorpção do pus, do sangue extra-

vasado, e dos varios exsudados pathologicos, levou alguns bacteriologistas a crêr, que a desapparição dos microbios, teria por base um mechanismo semelhante.

Effectivamente, dos estudos praticados no sentido de nos elucidar sobre tão discutidos assumptos, deve concluir-se que ha realmente uma profunda analogia, entre a mencionada reabsorpção do pus e o desapparecimento dos microbios, visto que os elementos postos em acção, em qualquer dos casos, são intimamente semelhantes.

Investigando como se daria a reabsorpção do pus e dos exsudados, os anatomo-pathologistas foram surprehendidos pela presença de cellulas que continham quer globulos de pus quer hematias, que se iam modificando mais ou menos rapidamente, dissolvendo-se e acabando por desapparecerem.

A estas cellulas, denominadas cellulas amiboides ou leucocytas, foi desde logo attribuido um importante papel na vida do organismo.

Occupando-se de trabalhos ácerca d'esta materia Langham pelas suas detalhadas experiencias, traz-nos á luz uma curiosa serie de factos.

Provocando uma extravasão sanguinea no tecido sub-cutaneo do pombo, do coelho e do cobaya, o alludido experimentador notou que a hemorragia era seguido de inflamação aseptíca, durante a qual se manifestava uma forte hyperleucocytose na região traumatisada, sendo as hematias avidamente englobadas e digeridas.

Seria fastidioso tentar expôr a longa lista dos homens de sciencia que incessantemente se veem

dedicando a trabalhos similares, motivo porque me reportarei a Elie Metchnikoff, grande auctoridade sobre o assumpto.

No parecer d'este eminente bacteriologista, o phenomeno de que venho fallando é mais evidente e produz-se mais rapidamente, injectando no animal de experiencia sangue desfibrinado ou hematias d'um animal de especie differente, desembaraçadas do sôro por lavagem.

Injectando no peritoneu do cobaya, globulos vermelhos de pato, Metchnikoff reconheceu que a injecção era seguida d'uma crise do lado dos leucocytas os quaes desappareciam quasi na totalidade da lympha peritoneal, onde normalmente abundam, mostrando-se os sobre-existentes profundamente ~~aggravados~~ deteriorados ou mortos.

Este phenomeno recebeu o nome de *phagolyse*.

Passado tempo os leucocytas reapparecem e em grande quantidade no ponto de injecção, englobando as hematias, solubilisando a hemoglobina que se diffunde no estroma do leucocyta para depois ser excretada. A transformação completa das hematias não se faz *in loco* porque passados tres ou quatro dias depois da injecção, já se não encontram leucocytas, com as hematias englobadas, na lympha peritoneal; é necessario ir procura-los nos ganglios do epiploon e do mesenterio, no baço e no figado onde se reconhecem ainda pelos restos das hematias, principalmente pelos nucleos que chegam a resistir semanas á solubilisação. Pode ainda verificar-se, que do figado passam a veia cava e d'aqui

ao coração, para entrarem de novo na circulação geral, terminada que tenha sido a sua tarefa.

Se, em logar de hematias, se injectaram globulos brancos, spermatozoides ou qualquer outras cellulas, os resultados são perfeitamente identicos.

Os phenomenos de englobamento e dissolução das hematias pelos leucocytas, são inteiramente semelhantes á digestão intra-cellular, observada por Metchnikoff, Mesnil, Mouton, Leon Frederic e outros, nos animaes inferiores (plamario, actinia, amiba, etc.) quando alimentados com sangue de qualquer especie animal.

Digestão em geral. — A digestão na serie animal resume-se essencialmente em dois actossuccessivos e de egual importancia.

O primeiro é attribuido a uma sensibilidade especial do protoplasma, pela qual aprecia a natureza dos corpos a digerir e segrega diastases dando assim origem ao segundo acto, puramente chimico, no qual as substancias são dissolvidas e transformadas em materia assimilavel capaz de fazer parte integrante do protoplasma vivo. Se, porém, nas suas linhas geraes a digestão se resume nos dois actos summariamente analysado, nos seus detalhes ella é mais complexa convindo distinguir a que se passa no interior das cellulas e a que se realisa no exterior d'ellas.

*
* *

A digestão intra-cellular é exclusiva dos animaes inferiores.

Tomando para exemplo a amiba, cujo organismo é constituido por uma unica cellula, com o seu protoplasma e o seu nucleo, vê-se que quando este pequeno ser é abandonado n'um meio em que existem varias substancias alimentares, não as digere indifferentemente, procura de preferencia certas e determinadas para as quaes se dirige, mercê da mobilidade do seu protoplasma, cercando-as de pseudopodos e englobando-os em si. Esta orientação da amiba para dadas substancias e o seu movimento para as alcançar e englobar, constituem uma reacção mechanica que deve ter origem n'uma propriedade do protoplasma, n'uma sensibilidade de apreciação comparavel a sensibilidade gostativa.

Em seguida ao englobamento das particulas alimentares, estas não tardam a transformarem-se tornando se uma parte assimilavel e a outra em productos de excreção.

A transformação d'estas particulas é devida ao concurso de diastases segregadas pela amiba, ainda em virtude da primeira sensação, as quaes, como o demonstrou Mouton, são capazes de solubilisar as substancias organicas deslocando-lhes as suas molleculas de modo a levar a materia a um estado mais simples e de mais facil assimilação.

Subindo na escala zoologica vejamos muito por alto, o que seja á digestão em animaes um pouco mais differenciados, como o *planario* ou a *actinia*.

N'estes, onde apparece já uma cavidade digestiva, são as cellulas epitheliaes d'esta cavidade, que englobam e digerem as substancias alimentares, pelo mesmo processo que na amiba, conseguindo até Leon Frederic obter um extracto das cellulas epitheliaes da actinia, a que deu o nome de *action-diastase*, capaz, como a amibo-diastase de Mouton, de solubilisar as substancias albumioides.

*

* *

Nos animaes de organisação superior, como nos mammiferos, vê-se, egualmente, que a primeira phase da digestão é tambem devida a uma questão sensitiva, aqui da mucosa do tubo digestivo, que, por intermedio do systhema nervoso e por acto reflexo, regula a qualidade e a quantidade das diastases que hão-de tomar parte activa na digestão.

E' preciso notar que n'estes animaes as diastases não ficam no interior das cellulas, são derramadas na cavidade digestiva onde se passa a phase chimica, operação muito complexa, pois qne as substancias que devem ser digeridas teem que soffrer transformações multiplas antes que possam ser utilisadas pelas cellulas do organismo.

Rematando as considerações que tinha a fazer sobre a digestão em geral, vou referir-me aquella

que, em harmonia com o meu trabalho, reputo de maior importancia.

Além das diastases, que teem uma acção directa sobre os alimentos, outras secreções ha que, embora indirectamente, desempenham um papel bastante importante nos phenomenos digestivos.

Esta n'este caso a bilis que reforça o poder da lypase e á *enterokinase* que sendo incapaz, por si só, de produzir uma acção digestiva, como bem a demonstraram Chepowalmikoff e Delezene, augmenta em grande proporção a da trypsina sobre os albuminoides. Estes auctores mergulhando a fibrina n'um extracto de intestino, contendo enterokinase, notaram que esta substancia abandonava o liquido para se fixar sobre a fibrina, que não soffreu nenhuma digestão. Lavando esta fibrina e tratando-a depois pela trypsina reconheceram que ella soffre uma digestão treze vezes mais rapida do que aquella que não tinha sido previamente preparada com a enterokinase.

Ora é precisamente este facto que tem muita importancia, como veremos mais longe, parecendo que a enterokinase exerce uma acção mordente sobre a fibrina, permittindo-lhe uma mais forte fixação da trypsina.

Para terminar resta me dizer que producção quantitativa das diastases é de um modo geral exaggerada havendo um excesso de fermentos que não é necessario á digestão e que se elimina pelos emunctorios naturaes, como succede com a trypsina e com a amylase no homem e no cão.

Digestão e defeza contra os microbios. — Por este esboço muito superficial da digestão reconhece-se que, nos organismos superiores, este phenomeno é mais completo, requer o concurso de orgãos, systemas e apparelhos perfeitamente differenciados ao passo que nos animaes inferiores se resume á sua expressão mais simples.

N'estes ultimos seres a digestão tem, porém, um papel mais vasto pois que, a par da nutrição lhes assegura tambem um meio de defeza efficaz contra os ataques dos microbios pathogeneos.

Effectivamente conhecem-se germens capazes de produzir nas amibas doenças graves mas vendo, com o auxilio do microscopio, como aquellas se comportam em presença do microbio invasor, nota-se que o tratam como uma simples particula alimentar, solubilisando-o e digerindo-o no seio do seu protoplasma.

N'estes animaes, pois, a nutrição e a defeza contra os microbios são indistinctas e realisadas pela digestão intra-cellular.

A' medida que se consideram animaes de organisação mais aperfeiçoada, em que os orgãos se isolam e differenciam para executar as suas funcções, constata-se que a nutrição e a defeza se vão separando para serem exercidas por orgãos distinctos.

Nos vertebrados, a nutrição dos tecidos é realisada pelo apparelho digestivo por meio da digestão extra-cellular e a defeza é assegurada pelos phagocytas que praticam a digestão intra-cellular, de

modo que n'um só individuo se encontram reunidos os dois typos de digestão.

Phagocytas.—E' aos leucocytas que se encontram por todo o organismo, quer fixos quer vagueiando atravez dos tecidos, que está confiada a defeza do animal contra os agentes microbianos. O elemento leucocyta funcciona exactamente como a amiba, quando encontra ao seu alcadce qualquer corpo extranho, qualquer especie de cellula ou de microbio, lança-lhe os seus pseudopodos, engloba-o e digere-o no seio de um vacuolo cavado no protoplasma. E' devido a esta propriedade que os globulos brancos receberam o nome de phagocytas.

Depois dos trabalhos classicos de Ehrlich e Ranvier, conhecem-se varias especies de phagocytas que se pódem dividir em dois grupos: fixos e moveis.

No primeiro estão incluidas as cellulas endotheliaes dos vasos e das serosas, certos elementos nervosos e nevroglicos, as cellulas estrelladas do figado ou cellulas de Kupffer e ainda certas cellulas do tecido conjunctivo que se encontram espalhadas pela economia.

Todos estes elementos pódem exercer a phagocytose mas esta é muito limitada, visto que elles estão fixos, tendo por isso menos importancia do que a desempenhada pelos phagocytas do segundo grupo. Estes são provenientes dos orgãos lymphoides e da medulla dos ossos, podendo entre elles estabelecer-se ainda um certo numero de sub-divisões das

quaes, para este estudo, basta apenas considerar duas, comprehendendo respectivamente os *phagocytas mononucleares* e os *polynucleares*.

Aos primeiros, que pódem apresentar mais d'um nucleo como acontece nas cellulas gigantes, chamou Metchnikoff, para evitar confusões e para precisar melhor o seu papel, *macrophagos* e aos segundos, que teem realmente um só nucleo, deu a designação de *microphagos*.

Tanto uns como os outros possuem uma grande sensibilidade tactil, uma especie de gosto ou *sensibilidade chimiotatica* em virtude da qual pódem apreciar a natureza chimica das substancias com que se põem em contacto e escolher de entre ellas as que mais appetitosas se lhes tornem. E' assim que os macrophagos manifestam uma predilecção especial pelos corpos inertes, para os quaes os microphagos accusam um chimiotaxismo negativo.

Chimica da digestão dos corpusculos inertes pelos macrophagos. — Assim como Mouton, com o extracto de amibas e Leon Frederic com o extracto de actinias, conseguiram no laboratorio produzir a digestão que aquelles seres realisavam em vida, assim varios auctores, inspirados n'estes trabalhos, foram levados a tentar manifestar *in vitro* o que já tinha sido observado *in vivo*, servindo-se de extractos dos ganglios lymphaticos do mesenterio, do epiploon e do baço, por serem estes orgãos muito ricos em macrophagos. Na verdade estes extractos possuiam uma acção solu-

bilisante, sobre as hematias do pato e d'outros animaes, respeitando, todavia, a membrana externa e o nucleo, o que é um pouco differente do que se passa no organismo.

Por outro lado sabe-se, desde os estudos da transfusão do sangue, que o soro de um animal destroe os globulos vermelhos das especies differentes, o que é devido, segundo Daremberg e Buchner, a uma substancia protectora ou *alexina* analoga aos albuminoides, de composição chimica desconhecida, a qual exerce um poder, hemolytico, semelhante á acção digestiva de varias diastases.

Mais tarde Bordet encontra diversas alexinas differentes umas das outras, segundo as especies animaes, mas todas capazes de exercerem a hemolyse.

Ehrlich e Morgenroth, estudando este phenomeno, contestaram a opinião de Buchner e de Bordet sustentando que cada soro contem varias alexinas, cada uma das quaes é hemolytica para uma dada especie de hematias, mas que não pódem exercer a sua acção caracteristica sem o concurso de uma outra substancia differente, pelo facto de que um soro hemolytico sendo aquecido a 55°, para o privar do seu poder, é susceptivel de adquiril-o, novamente, desde que se lhe addicione um soro normal, não possuindo acção dissolvente.

No soro que foi aquecido houve, por tanto, qualquer substancia que resistiu á temperatura de 55° e que só por si deixa as hematias intactas, mas que combinada com uma outra substancia, exis-

tente no soro não hemolytico, se torna capaz de produzir a solubilisação das hematias.

Ehrlich dá á primeira d'estas substancias, á que resistiu ao aquecimento, o nome de *corpo intermediario* e a segunda o de *complemento;* possuindo, no dizer d'este auctor, cada animal varios corpos intermediarios e varios complementos.

Bordet, por seu turno, confirma a existencia d'estas duas substancias.

Injectando por varias vezes sangue de pato no peritoneu do cobaya, obtem d'este animal um soro fortemente hemolytico para o sangue de pato, perdendo a sua propriedade desde que seja aquecido entre 55° e 56°, conservando-se apenas agglutinante, podendo todavia retoma-la desde que se lhe junte soro de um cobaya não preparado e que, por si só, é incapaz de produzir a hemolyse.

Este auctor diz-nos mais que o complemento ou alexina, que se destroe a 55°, é normal no soro, existindo quasi na mesma quantidade, tanto nos animaes preparados como nos não preparados ao passo que o corpo intermediario ou sensibilisatriz, quasi não existe ou não existe em absoluto no soro do animal normal, sendo, pelo contrario, abundante no d'aquelle que tenha recebido injecções preparatorias de sangue.

Antes de liquidar esta questão, torna-se indispensavel declarar que o fixador é especifico ao passo que o complemento é generico.

Ehrlich e Morgeronth para conhecerem, mais de perto, o modo como estas duas substancias, de

que tenho frisado a importancia, exercem o hemolyse, estudaram o phenomeno detalhadamente.

Esponhamos a sua experiencia capital.

Tratando as hematias por um soro de animal preparado, que foi aquecido a 55° para lhe annular a acção hemolytica, aquellas ficaram intactas durante algumas horas. Separando, por centrifugação, as hematias do soro que foi aquecido notaram que este se mostrava inteiramente despojado da substancia intermediaria, não realisando jámais a hemolyse, muito embora se lhe juntasse soro normal em grande quantidade. Pelo contrario, as hematias que estiveram em contacto com o soro, de que foram separadas por centrifugação, dissolvem-se rapidamente em presença do soro normal o que prova terem-se ellas apoderado do fixador.

Para Ehrlich o complemento, que não gosa da faculdade do corpo intermediario, isto é, que não se fixa sobre as hematias, deve ter duas afinidades: uma para a hematia e outra para o complemento, sendo mais forte a primeira visto que se satisfaz a uma temperatura mais baixa do que a segunda.

A molecula do fixador tem pois dois agrupamentos, denominados *aptophoros*, capazes de combinação chimica. Um d'estes agrupamentos une-se com uma molecula correspondente do globulo vermelho denominado *receptor*, o outro liga-se com o complemento o qual exerce, então, a sua acção sobre a hematia.

Segundo Bordet o phenomeno não pode ser considerado de ordem puramente chimica visto que a

absorpção do fixador, pelas hematias, não segue a lei das proporções definidas.

De egual modo, contesta que o fixador se combine com o complemento, para este exercer a sua acção. Admitte que o mechanismo seja, antes, analogo ao que se passa com a coloração das cellulas, quando se emprega um mordente para tornar a sua substancia mais sensivel a um dado corante.

Volf, abundando nas mesmas idéas, diz que o fixador torna as hematias mais avidas de complemento, o qual, encontrando-se em grande quantidade no seu interior, exerce sobre ellas uma acção hydratante, produzindo-lhes a dissolução da hemoglobina e do estroma.

London, por outro lado, pretende, por uma série de novas experiencias, resolver o problema inclinando-se para a theoria de Ehrlich.

De modo que as opiniões não são concordes e o que presentemente podemos admittir, de parecer com Metchnikoff, é que acção do complemento sobre as hematias é da categoria dos phenomenos produzidos pelas diastases ou fermentos soluveis.

Origem do fixador e do complemento. — Como o poder hemolytico do soro de um animal, se torna bem patente, após a digestão das hematias pelos leucocytas, é provavel que a substancia activa, existente n'esse soro, seja de origem leucocytaria.

Pesquizando o conteúdo dos globulos brancos varios auctores asseguram n'estes a existencia de diversas diastases, que se derramam no soro, logo

que aquelles se deterioram ou morrem. Tal é a origem da plasmase ou fibrino-fermento que se combina com o fibrinogene para produzir o coagulo sanguineo. Rossbach nota a presença da amylase no interior dos leucocytas; Leber e Achalme encontram n'estas cellulas a lypase e um outro fermento, analogo á trypsina, capaz de atacar a fibrina; Portier descobre nos mesmos elementos as oxydases e Delezene, um fermento anticoagulante.

Quando se injectam hematias, pela primeira vez, no peritoneu do cobaya, vê-se que, após a phagolyse, aquellas são degeridas no interior dos phagocytas e não no plasma sanguineo, mas repetindo as injecções, nota-se que ellas começam a ser digeridas no plasma, excepto a membrana e o nucleo que ficam a cargo dos macrophagos.

D'esta experiencia pode concluir-se que quando se praticou a primeira injecção não existia, por certo, a substancia hemolytica no plasma sanguineo e que essa substancia só ahi apparece depois de praticadas as outras injecções que produzem sempre uma determinada phagolyse. Por outro lado, evitando que se produza a deterioração e destruição dos phagocytas, para que não abandonem o fermento hemolytico, a digestão das hematias ou não se dá ou é insignificante havendo em troca, por parte d'aquelles, um englobamento muito activo.

Metalnikoff injectando em um cobaya espermatozoides do mesmo animal obteve um soro antiespermotoxico *in vitro*. O que se realisa em *in vitro* dever-se-ia realisar *in vivo* se a substancia espermo-

toxica existisse no plasma e nos outros liquidos do organismo, porem os dados experimentaes mostram o contrario, conservando-se os espermatozoides, que se encontram nos orgãos genitaes do animal de experiencia, em perfeito estado movendo-se por muito tempo no seio do soro physiologico. Se, no emtanto, estes espermatozoides forem lançados no soro de um cobaya não preparado perdem rapidamente os seus movimentos o que não acontece se se tratar de espermatozoides de um animal normal.

D'estes e d'outros resultados Metchnikoff é levado a crer que o complemento ou cytase se encontra nos leucocytas e só é abandonado nos humores do organismo quando aquelles são deteriorados ou destruidos; ao passo que o fixador ou sensibilisatriz existe livre nos humores devendo ter a mesma origem leucocytaria, sendo provavel que seja, em parte, excretado durante a digestão e abandonado nos liquidos do organismo para ser eliminado pelos emuctorios, semelhantemente ao que se dá com a amylose e a pepsina que se encontram na urina do homem e do cão.

Mechanismo da immunidade natural contra os microbios. — A inoculação de microbios virulentos nos tecidos de um animal, naturalmente refractario, determina uma inflammação localisada, como quando se inoculam hematias, porem aqui, a vermelhidão, o calor e a parte liquida do exsudado são insignificantes, mas a diapedese leucocytaria é extremamente abundante e os leucocy-

tas, graças aos movimentos amiboides, accumulam-se rapidamente nos pontos invadidos pelos microbios, para os quaes possuem um chimiotaxismo positivo, realisando o seu englobamento. Após este acto vê-se que o microbio é cercado d'um vacuolo no seio do qual se fragmenta em pequenas granulações, transformando-se até desapparecer por completo, exactamente com o que se passa na reabsorpção das hematias.

Em alguns casos os leucocytas englobam e digerem grande numero de microbios, d'uma só vez, de modo que a phagocytose é muito rapida; n'outros casos, principalmente se os microbios são muito moveis, o englobamento é mais moroso visto que os leucocytas teem que enviar pseudopodos conicos muito compridos.

Os agentes da phagocytose são de natureza differente consoante os corpos que devem ser atacados. Na reabsorpção das hematias são os macrophagos que trabalham, mas se se trata de bacterias são, quasi exclusivamente, os microphagos que interveem.

Como ficou dito a digestão das cellulas pelos macrophagos é feita por duas diastases sendo o papel principal desempenhado pelo complemento ou alexina.

A digestão dos microbios pelos microphagos, será praticada pelo mesmo processo e com as mesmas diastases?

Nuthal estudando a acção bactericida do sangue desfibrinado, do humor aquoso e de outros liquidos

organicos, descobriu que essa acção era devida a uma substancia, indeterminada, que se destruia á temperatura de 55° durante 1 hora.

Esta descoberta deu origem á *theoria humoral da immunidade* de que Buchner era o principal adepto, dando o nome de alexina á substancia bactericida. Todavia a breve trecho se reconheceu que essa substancia tinha uma origem leucocytaria, como o provaram bem as experiencias de Havet mostrando que os extractos de leucocytas, por elle preparados, eram muito mais fortemente bactericidas, do que os diversos liquidos do organismo, deixando de o ser logo que eram aquecidos a 55°.

Gengou comparando os extractos de macrophagos com os de microphagos, torna-nos sciente de que os primeiros são inactivos ao passo que os segundos são fortemente bactericidas, perdendo, no entanto, o seu poder quando aquecidos a 55°.

Outras experiencias vieram mostrar que a alexina bactericida ou *microcytase* era um fermento intracellular que actua, *in vivo,* no seio do protoplasma dos microphagos. Quanto á sua identidade com a diastase intracellular dos macrophagos ou macrocytase, as opiniões divergem. Metchnikoff e outros afirmam que os dois fermentos são distinctos; Buchner sustenta o contrario dizendo que são perfeitamente identicos, muito embora provenham de cellulas differentes e manifestem a sua acção sobre corpos diversos.

No que, no entanto, todos são concordes é em que existe realmente uma diastase, no intimo dos

microphagos, sempre a mesma para a mesma especie animal, capaz de digerir os microbios como a macrocytase digere as hematias. Com respeito ao modo como essa digestão é feita, ao seu mechanismo intimo, ainda pouco se sabe. As experiencias realisadas no sentido de esclarecerem a presença de fixadores, na immunidade natural, teem mostrado que aquellas substancias não existem, ou são muito raras, não se podendo afirmar se a microcytase para digerir os microbios, actua por si só ou se precisa do concurso d'outras substancias ou se succede como a digestão dos albuminoides pela trypsina a qual se torna muito mais activa quando auxiliada pela enterokinase.

O que não admitte replicas é que a immunidade natural é devida á phagocytose pelos microphagos.

O phenomeno parece não ser, comtudo tão simples como ficou descripto. Os estudos recentes sobre a immunidade, fazem intervir um novo factor que, segundo parece, tem uma alta importancia, precedendo o englobamento e a consequente digestão dos microbios pelos phagocytas.

Wright demonstrou que o soro fresco de varios animaes continha substancias exercendo sobre os microbios uma acção tal que estes ficavam mais aptos para soffrer a phagocytose. A existencia real d'estas substancias, denominadas *opsoninas,* ainda não é acceite por todos os auctores.

No entretanto Sleeswijk põe em evidencia a existencia das opsoninas, substancias differentes dos fixadores e das agglutininas, destruindo-se pelo

aquecimento de 55 a 56°, de origem desconhecida e que se fixam sobre as bacterias facilitando a intervenção dos phagocytas.

De modo que a immunidade natural resume-se, segundo os ultimos conhecimentos, á opsonisação das bacterias seguida do englobamento e da digestão pelos phagocytas.

*

* *

Na immunidado adquerida o mechanismo é mais complexo e os phenomenos humoraes adquirem aqui uma grande importancia.

O cobaya, por exemplo, succumbe quando se lhe inocula no peritoneu uma dada dose de vibrião cholerico. Se, porém, essa dose fôr muito diminuta os microbios encontram uma resistencia obstinada da parte dos leucocytas que os englobam e digerem desembaraçando o organismo do sua acção nociva, ficando o cobaya vaccinado contra o vibrião cholerico e capaz de tolerar doses successivamente maiores.

Praticando uma nova inoculação do mesmo virus, no animal já vaccinado, nota-se que os microbios, logo após a sua introducção no organismo, se transformam fragmentando-se em pequenas granulações que se dissolvem e desapparecem nos humores, quasi sem a intervenção dos phagocytas.

Esta transformação e solubilisação dos microbios nos liquidos do organismo recebeu o nome de *phenomeno de Pfeiffer*, phenomeno este que se póde

mesmo realisar *in vitro* com soro proveniente de cobayas preparados. Se este soro fôr aquecido a 55°, durante meia hora, torna-se incapaz de produzir a transformação dos microbios sendo tadavia susceptivel de os immobilisar e agglutinar.

Addicionando a este soro, assim aquecido, outro proveniente de um cobaya não preparado, vê-se que esta mistura transforma e solubilisa os microbios, embora cada um dos liquidos em separado seja impotente para realisar o phenomeno de Pfeiffer.

D'esta experiencia resulta que este phenomeno deve ser devido, como a digestão das hematias, ao concurso de duas substancias que se encontram dissolvidas no soro sanguineo; uma que se destroe a temperatura de 55.° e que se encontra normalmente em todos os soros, outra que só é alterada a uma temperatura mais elevada e só existe nos animaes preparados. Esta ultima actua como os fixadores, no caso da digestão das hematias, favorecendo a acção da outra que desempenha o papel de complemento.

Qualquer das duas substancias, como o patenteou Metchnikoff reconhece a sua origem nos microphagos. O fixador, sempre especifico, é elaborado em excesso no acto da digestão e a parte excedente, que não é aproveitada, é abandonada nos liquidos da economia; o complemento existe no intimo dos microphagos e só é abandonado quando estes são alterados ou destruidos.

Outras experiencias tem sido levadas a effeito, com differentes especies microbianas, mostrando

que estes phenomenos seguem sempre as mesmas linhas geraes.

De modo que a immunidade adquirida pode ser considerada como um caso especial da digestão realisada pelos microphagos.

*

* *

O poder agglutinante que exerce, sobre o vibrião cholerico, o soro do cobaya, vaccinado contra o cholera, foi egualmente observado com o soro de outros animaes immunisados por outras especies microbianas, podendo mesmo encontrar-se no soro de animaes, normaes. Este poder, attribuido a substancias diastasicas denominadas *agglutininas,* cujo mechanismo é ainda pouco conhecido, apresenta, de um modo geral, uma especificidade caracteristica sendo mesmo utilisado para a diagnose de certos estados morbidos. Emquanto ao papel que é levado a desempenhar na immunidade adquirida tudo é problematico visto a grande divergencia entre os auctores que se teem occupado d'este assumpto.

Gruber affirma que sem a agglutinação dos microbios se não póde exercer a phagocytose o que é contrario ao parecer de Metchnikoff de Gengou e de Karlinski os quaes teem observado casos em que o soro de animaes, fortemente immunisados, contra um dado microbio, não apresenta o poder agglutinante, succedendo mesmo que a propriedade agglutinativa nem sempre está em relação com o grau de immunidade dos vaccinados.

O soro dos animaes vaccinados contra um dado micobrio possue ainda a faculdadade de fornecer a um outro animal, quando lhe seja inoculado, uma immunidade passageira contra esse mesmo microbio, como veremos quando se tratar da immunisação pelos soros.

Immunidade contra as toxinas

Qualquer substancia, embora de composição chimica muito completa póde ser reabsorvida pelos tecidos e utilisada pelo organismo sem passar pelo estomago e intestinos. O mechanismo por meio do qual o organismo se apropria d'estas substancias, fóra do aparelho digestivo, ainda não é bem conhecido, no entretanto quando se faz uma injecção de leite ou de clara d'ovo no peritoneu do cobaya vê-se que essa injecção é seguida de uma inflammação aseptica local, passada a qual não se encontram vestigios da substancia inoculada e o soro dos animaes, em que se praticou as injecções, adquire então propriedades diastasicas especiaes. Tchistowich descobriu que o soro de coelhos, a que se injectava o de enguia ou o de cavallo, se modificava apresentando substancias que *in vitro* eram capazes de precipitar os soros injectados.

Bordet injectando leite de vacca e Myers albumina d'ovo, obtêm soros que precipitam estas substancias por intermedio de diastases especiaes denominados *precipitinas* as quaes são especificas. A que actua sobre o leite, por exemplo, é incapaz de

precipitar a albumina d'ovo ou outra qualquer substancia.

Quando em logar de substancias albuminoides se empregam fermentos soluveis, como o labe, a trypsina, a tyrosina, etc., o soro dos animaes de experiencia apresenta substancias especificas que neutralisam o poder d'aquellas diastases e que por esse facto receberam a designação generica de *antifermentos.*

Inoculando no coelho um soro hemotoxico, isto é que contenha *cytases hemolyticas,* vê-se apparecer, no soro d'este animal, uma substancia, de natureza enzimatica, que impede a acção da cytase hemolytica.

Com um soro espermotoxico obtem-se um resultado analogo apparecendo, no soro do animal de experiencia, uma substancia antispermotoxica.

Se, em vez de diastases, se injectam em dóses convenientes e em determinadas condições toxinas microbianas, que possuem composição e acção analoga á d'aquellas substancias, observa-se que o soro dos animaes, por este modo preparados, revela em si uma substancia, capaz de neutralisar tanto *in vivo* como *in vitro,* a acção das toxinas empregadas.

A substancia formada, que não é mais do que um anticorpo recebe, n'este caso, o nome de *antitoxina.*

*

* *

Porque modo apparecem e de que fonte proveem estas substancias?

Buchner e varios auctores, fundando-se no facto da antitoxina ser especifica e tanto mais abundante no animal quanto maior é a dóse total de toxina injectada, admittiram que aquella era proveniente de transformações que esta soffria no interior do plasma sanguineo. Tal hypothese não passa, na opinião de Roux e Vaillard, d'uma mera phantasia. Vejamos o que nos mostram as suas experiencias. Tendo injectado uma determinada toxina em animaes, de modo a obterem um soro fortemente antitoxico, praticaram em seguida sangrias abundantes e n'um espaço de tempo muito curto de modo a renovarem por completo a massa sanguinea.

D'este modo, dizem elles, se a theoria de Buchner fôsse verdadeira, os animaes que soffrem as sangrias não deviam, subsequentemente, apresentar a antitoxina no seu soro. Ora é precisamente o que não acontece, visto que os animaes continuam a produzir antitoxina sem que tenham recebido novas injecções de toxina.

Para Metchnikoff as antitoxinas são de origem leucocytaria e produzidas pelo mesmo processo que o fixador e o complemento. Effectivamente este auctor verificou que os leucocytas aprehendem e digerem as toxinas. Injectando em cobayas uma mistura de toxina tetanica e de substancia nervosa finamente triturada, produz-sé no ponto de injecção uma forte hyperleucocytose sendo as cellulas nervosas promptamente atacadas pelos globulos brancos.

Ora como a toxina tetanica tem a propriedade de se fixar sobre a substancia nervosa é provavel, se

não certo, visto que ella produz alterações morbidas no animal de experiencia, que seja englobada e digerida pelos phagocytas juntamente com as cellulas nervosas com que se acha combinada. N'essa digestão o leucocyta para transformar a toxina tetanica produz diastases em excesso que se derramam no soro.

Por tanto, para Metchnikoff, a immunidade para as toxinas é devida, como a immunidade para os microbios, a um acto digestivo realizado pelos leucocytas.

Ehrlich vae mais longe e na sua theoria a digestão das toxinas é praticada não só pelos leucocytas mas tambem pelas outras cellulas do organismo. Este auctor considera a cellula animal como um aggregado de moleculos vivas ou protoplasmicas, comparaveis as moleculas organicas complexas, apresentando, como ellas, um nucleo central e caracteristico com as suas cadeias lateraes, denominadas *receptores*, por meio das quaes podem entrar em combinação com outras substancias.

Estes receptores possuem duas affinidades distinctas: uma para o corpo que deve ser atacado e outra para a diastase que actua.

Por outro lado a molecula de toxina é, na concepção do mesmo auctor, formada por dois agrupamentos differentes intimamente unidos entre si e respectivamente designados um por *toxophoro* e o outro por *haptophoro*. O primeiro constitue a parte verdadeiramente activa da toxina; o segundo não é toxico e possue uma affinidade para os receptores das moleculas vivas combinando-se com ellas pondo

assim em contacto o grupo toxophoro com as cellulas sobre as quaes exerce a sua acção noxiva.

Se a molecula viva de um animal não possue cadeias lateraes com affinidade para o grupo haptophoro da molecula de uma dada toxina, esta não exercerá acção alguma perniciosa sobre o animal. A este respeito haja em vista o que se dá com a cellula nervosa das gallinhas em presença da toxina tetanica.

Mas as cousas passam-se de um modo muito differente quando esta toxida é levada, por exemplo, ao contacto da cellula nervosa do cobaya. Aqui, como existem já receptores com affinidades para o grupo aptophoro da toxomolecula a acção da toxina póde ser mortal.

Quando se inocula ao cobaya, pela primeira vez, uma dada dóse de toxina tetanica, não mortal, produz se egualmente a saturação dos receptores do elemento nervoso mas em numero muito reduzido, não alterando por isso profundamente a cellula viva. Esta porem ficou com um certo numero de receptores saturados e por isso inutilisados mas a molecula protoplasmica não pode vivêr sem elles e por tanto elabora outros de novo: Esta producção de novos receptores é sempre em excesso sendo um grande numero d'elles, a parte excedente, abandonados nos liquidos da economia.

Se praticarmos agora, no mesmo cobaya, uma injecção mais forte de toxina tetanica, a molecula d'esta vae encontrar receptores livres para que tem affinidade, combinando-se com elles por intermedio

do grupo haptophoro, que só dispõe de uma affinidade a qual é substituida por um receptor livre. Desde então o grupo texophoro da molecula da toxina já não pode exercer o seu effeito nocivo sobre as cellulas, porque não tem meios de se combinar com ellas, e o animal conserva-se immune.

*
* *

Na immunidade natural o mechanismo é o mesmo realizando-se exclusivamente no interior das cellulas ao passo que na immunidade adquirida se realiza não só dentro das cellulas como tambem fora d'estas, nos humores do organismo.

IMMUNISAÇÃO

A immunisação contra as doenças contagiosas é praticada desde a mais alta antiguidade entre os povos cultos e os povos selvagens. O homem, conhecendo pela observação, que um individuo, depois de ter soffrido e resistido a um primeiro ataque d'uma doença contagiosa, podia expôr-se sem perigo a essa doença, foi levado a tentar reproduzir aquillo que via succeder naturalmente.

Rochebrune conta que os povos do norte d'Africa, desde os tempos mais remotos immunisam os seus bois, contra a peripneumonia epizootica, cravando um punhal no pulmão do animal que succumbe a esta affecção e fazendo com o mesmo, incisões na pelle d aquelles a que desejam evitar a doença. Este processo foi, mais tarde, espalhado e é praticado na Europa desde o seculo dezoito.

Landouzi a proposito da immunisação contra o veneno das serpentes, que actua como as toxinas microbianas, affirma que os Psyllos, povo que viveu na Africa, praticavam essa immunisação, já no anno 60 antes da era christã, fazendo perfurações na pelle com dentes provenientes dos ophideos que temiam.

O explorador Serpa Pinto narra-nos que, na sua viagem atravez d'Africa, foi immunisado pelos vatuas contra o veneno das serpentes, consistindo a operação da introducção, em incisões praticadas na pelle, d'uma pasta viscosa composta de succos vegetaes e de veneno extrahido de serpente.

Os chinezes a quem primeiro foi dado conhecer a polvora, o aerostato e a typographia sabiam tambem, desde o principio do seculo onze, o modo de evitar a variola, depondo nas narinas ou em incisões feitas na pelle, as crostas resultantes das vesiculas variolicas o que determinava uma variola benigna protegendo o individuo contra a variola grave e perigosa.

Esta pratica, embora os seus inconvenientes, era conhecido em toda a Asia e em 1721 foi importada para a Europa por Lady Montague onde o seu uso se espalhou rapidamente.

No Beloutchistan, diz Haeser que desde tempos immemoriaes é costume fazer ordenhar as vaccas attingidas de cawpox por creanças com as mãos feridas com o fim de as immunisar contra a variola humana. Semelhante pratica era seguida egualmente, ha muitos seculos, na Hollanda na Allemanha na França e na Inglaterra onde em 1798 Edward Jenner constatou o facto e, estudando-o pelo methodo experimental, verificou que effectivamente as pessoas vaccinadas pelo cawpox não contrahiam a variola humana, vaccinação que não era tão perigosa como a preconisada pelos chinezes, vulgarisando-se por isso rapidamente e tornando-se de uso universal.

Annos depois quando Pasteur estudava as relações entre os microbios e as doenças contagiosas, o acaso proporcionou-lhe a descoberta da vaccina contra o cholera das gallinhas, por meio dos virus envelhecidos. Esta descoberta, que mostrava a possibilidade da attenuação dos virus e a propriedade vaccinante d'estes, foi, depois de pormenorisadamente estudada por Pasteur e pelos seus collaboradores, applicada com successo a outras doenças contagiosas como a raiva, o carbunculo e o mal rubro. Seguindo os passos dos seus antecessores muitas outras entidades scientificas se dedicaram com maior ou menor exito a trabalhos d'esta natureza generalisando-se, assim, o processo de immunisação por meio dos virus attenuados.

Mais recentemente, Fodor na Hungria e Nuthal na America descobrem a propriedade bactericida do sangue desfibrinado de varios animaes. Emerich, Mesnil, Pffeifer e outros provam que esta propriedade é muito accentuada nos animaes vaccinados, creando-se por tal motivo a theoria humoral da immunidade que, como já disse n'outra parte do meu trabalho, teve Buchner por principal defensor.

Por fim Richet, Hericourt, Behring e Kitasato reconhecem que o soro de animaes vaccinados contra um dado microbio manifesta, quando injectado n'outros animaes, a curiosa faculdade de os preservar contra os ataques d'esse mesmo microbio.

Por este modo se descobriu a immunisação pelos soros que n'um certo numero de doenças microbianas é praticada com optimos resultados.

Immunisação pelos virus frescos

E' este o processo de immunisação primeiramente conhecido pelo homem que, na perpetua concorrencia vital, procurava augmentar os meios de defeza, conseguindo, pela observação, surprehender os segredos da Natureza e reproduzir a immunidade. E' valendo-se dos virus frescos que, desde tempos muito remotos, os chinezes immunisam contra a variola; é pelos mesmos meios que os povos do norte d'Africa immunisam, desde a mais alta antiguidade, os seus bois contra a peripneumonia contagiosa.

O processo em questão, cuja origem se perde na noute dos tempos, é ainda praticado um pouco por toda a parte com o fim de immunisar os animaes domesticos contra um certo numero de doenças microbianas. Actualmente pratica-se por exemplo, a *aphtisação* e a *gafeiração*. A pratica da aphtisação consiste em retirar da bocca de um animal doente o conteúdo das vesiculas proprias da doença, que constituem o virus, e introduzi-lo na bocca dos animaes que se querem vaccinar. Na gafeiração executa-se identica inoculação; para isso escolhe-se um animal onde a doença tenha um caracter benigno e com uma lanceta, colhe-se o liquido contido nas vesiculas varioliformes o qual, depois, é introduzido nos animaes que se pretendem immunisar, por meio de incisões praticadas, geralmente na extremidade da cauda ou da orelha, com a mesma lanceta com que se retirou o virus.

Os resultados obtidos com estas praticas suggeri-

ram a generalisação do processo a outras doenças, porém as consequencias foram desanimadores. Na colonia do Cabo tentaram immunisar os ruminantes, contra a peste bovina, inoculando-lhes o virus pestoso, mas todas as tentativas foram coroadas de mau exito pois que, estas inoculações, produziam sempre uma doença tão grave como a doença natural.

No entanto este processo de immunisação quando se trata da peripneumonia contagiosa dos bovideos, da febre aphtosa ou da variola dos carneiros, produz em certas condições resultados favoraveis.

A inoculação dos respectivos virus tem por fim determinar nos animaes uma doença muito benigna, que desapparece depressa, deixando-os de tal modo impressionados que elles resistem ulteriormente a um ataque forte d'essa doença.

Phenomenos que se passam após a inoculação dos virus. — Pelo que deixei dito, a immunidade é devida á phagocytose, que intervem de um modo constante nos animaes naturalmente immunes logo que se dá a infecção, phenomeno que é dependente da sensibilidade cellular do individuo. Esta sensibilidadado cellular, sensibilidade chimiotatica, em virtude da qual os phagocytas são postos em movimento, nem sempre é favoravel ao organismo. Umas vezes a chiomiotaxia é positiva e os phagocytas correm ao encontro dos microbios englobando-os e digerindo-os e o organismo mantem-se immune, outras vezes porém, quando se trata de animaes sensiveis, a acção phagocytaria é nulla, a

sensibilidade chimiotatica é negativa e os leucocytas não apparecem no ponto da infecção podendo os microbios desenvolverem-se e multiplicarem se invadindo o organismo.

Em summa a immunidade e a receptividade estão inteiramente dependendentes d'uma questão de sensibilidade protoplasmica, podendo-se concluir que immunisar um animal sensivel a um dado virus significa transformar a chimiotaxia negativa dos seus elementos defensivos, em chimiotaxia positiva. Ora esta transformação é possivel. A materia viva, o protoplasma é uma substancia plastica por excellencia, susceptivel de se moldar ás exigencias que lhe são impostas, podendo perder, adquirir ou modificar ao infinito as suas propriedades.

Como disse, no principio d'este trabalho, a doença microbiana é devida a um variado numero de condições dependentes quer do microbio, quer do individuo que soffre a sua acção.

Quando estas condições concorrem todas para favorecer o microbio, este póde exercer o seu poder nefasto de um modo completo e o individuo succumbe á infecção. Mas nem sempre assim succede: varias vezes a acção do microbio é muito contrariada e exerce-se lentamente podendo o organismo reagir contra a acção suave d'este microbio que funcciona como um virus attenuado, como um corpusculo extranho sem importancia que em breve será englobado e digerido pelos phagocytas que seriam repellidos se o microbio fosse secundado por todas as condições de que necessita para viver bem.

Entre estes dois casos extremos, que succedem com um animal sensivel a um dado virus, existem todos os termos de transição.

No ultimo caso, quando a acção do agente microbiano é contrariada e o phagocyta intervem englobando-o e digerindo-o, a substancia cellular do leucocyta transforma-se. Se este praticou o englobamento do microbio, como praticaria o de um corpusculo inerte, tem no entanto que o digerir como um verdadeiro microbio que é o que deve exigir a secreção de diastases especiaes para atacarem a sua substancia de composição chimica caracteristica, especifica.

Este phagocyta portanto está transformado, é differente dos phagocytas dos individuos da mesma especie, possue uma coisa a mais, uma propriedade nova: a faculdade de segregar determinadas diastases. Em seguida a esta transformação, depois do phagocyta ter adquirido a nova qualidade, está apto a digerir o microbio que o transformou, passando a sua chimiotaxia de negativa a positiva e permanecendo o animal immune perante um novo ataque d'este microbio.

A transformação do leucocyta opera-se muito lentamente e não é definitiva porque as cellulas vivas manifestam uma tendencia constante e geral para retomarem os seus caracteres biologicos que são hereditarios; no entanto esta modificação persiste por um periodo de tempo tanto mais longo quanto mais profundamente fôr alterado o protoplasma, assegurando pelo menos alguns mezes de immunidade ao individuo transformado.

Eis o que se passa, nas melhores condições, com os virus frescos. Todavia nem sempre estas condições se realisam. O virus que se retira do animal doente, ou do que succumbiu, para se introduzir nos tecidos do animal que se quer immunisar, está em geral nas melhores condições de actuar; só se póde pois contar com a resistencia do animal, embora naturalmente receptivo, que por isso mesmo será insignificante não tardando este a apresentar phenomenos morbidos de maior ou menor gravidade.

Algumas vezes mesmo a doença que se produz é tão grave como a doença natural, quer porque haja uma causa predisponente ou porque exista já uma infecção latente que é secundada pelo virus inoculado.

E' por este facto que nunca se deve empregar este processo de immunisação em animaes que se suspeitem infectados.

Quando se colhe o virus que se quer inocular pódem egualmente colher-se outros microbios que lhe estejam associados, natural ou accidentalmente, o que póde dar logar a complicações ás vezes mais graves do que a propria doença, não sendo raros os accidentes septicemicos e pyoemicos. Antigamente usou-se, por muito tempo, retirar o conteúdo das vesiculas que se desenvolviam sobre o homem após a inoculação do virus do cowpox, para immunisar outros individuos mas este processo foi condemnado por ter dado logar a casos

de contaminação pelo virus syphilitico que acompanhava o conteúdo das vesiculas.

A immunisação pelos virus frescos, tem ainda o inconveniente e perigo de crear fócos de contagio, que pódem irradiar e invadir uma região. Por tal motivo em França é interdicta a gafeiração em rebanhos indemnes, sendo só permittida nos atacados, por que então apressa-se a duração da doença e diminue-se a sua gravidade.

Immunisação pelos virus attenuados

A attenuação dos virus foi descoberto por Pasteur em 1879, no decorrer dos seus estudos sobre o cholera das gallinhas. Este auctor verificou que inoculando doses, de culturas velhas do coccobacillo do cholera das gallinhas, sufficientes para produzir a morte, os animaes ficavam indifferentes o que não succedia quando as culturas eram recentes. As aves que recebiam o virus velho podiam, depois, ser impunemente inoculadas com o coccobacillo cultivado recentemente.

A insensibilidade que as gallinhas apresentavam, para o coccobacillo proveniente das culturas velhas, foi attribuida por Pasteur ao enfraquecimento da virulencia d'aquelle microbio, o que resultava das más condições de vida em que elle se encontrava nas culturas antigas. Na verdade póde-se diminuir a virulencia de qualquer microbio modificando-lhe as condições de existencia, contrariando a sua vitalidade, aftastando-o do seu habitat natural, culti-

vando-o em meios que lhe não são communs, fazendo-o supportar temperaturas mais elevadas ou mais baixas que a habitual, collocando-o sob a acção de substancias que lhe sejam nocivas, etc.

Pasteur conseguiu diminuir a actividade do virus rabico por meio da dessecação. Arloing e Chauveau attenuam o mesmo virus com o auxilio da luz natural. Outros auctores teem mostrado ainda que se póde modificar a virulencia dos microbios, inoculando-os em serie sobre animaes de especie differente da que é atacada geralmente. Na actualidade é facil obter um microbio com todos os graus de virulencia.

Logo que se consiga reduzir a zero a virulencia de um dado microbio pathogeneo este póde ser inoculado sem perigo algum ao animal que lhe era sensivel primitivamente.

Apoz esta inoculação o organismo reage e faz intervir a phagocytose que se comporta com estes microbios como com corpusculos extranhos, englobando-os e digerindo-os. Esta digestão como já deixei dito transforma os phagocytas tornando-os aptos a atacarem microbios mais virulentos. Inoculando, de novo, o mesmo microbio com um grau de virulencia um pouco superior este será digerido immediatamente pelo phagocyta que por este acto se modifica ainda mais profundamente. Praticando novas inoculações com o mesmo microbrio, mas cuja virulencia seja cada vez mais elevada, o phagocyta ilo-ha sempre digerindo, visto que já está educado para isso, e transformando-se cada vez mais pro-

fundamente a ponto de chegar a poder digerir o microbio com a virulencia maxima ou exaltada.

Tal é o methodo fundamental de immunisação, empregado por Pasteur contra o cholera das gallinhas, o mal rubro, o carbunculo e a raiva. Mais tarde Salmon, Smith, Charrin, Chamberland e Roux conseguiram immunisar os animaes contra o hog-cholera, o bacillo pyocianico, o bacillo do carbunculo symptomatico e o vibrião septico, empregando para isso, não culturas attenuadas e vivas mas sim culturas mortas ou filtradas, aproveitando apenas, para inocular, os productos de secreção das bacterias.

Este processo de immunisação pelas toxinas foi depois desenvolvido e muito aperfeiçoado, podendo actualmente alterar-se o poder d'uma toxina fazendo actuar sobre ella uma dada temperatura ou misturando-a com determinadas substancias, como o trichloreto de iodo, obtendo-se productos cuja virulencia se póde graduar á vontade, como quando se trata de microbios, e que conferem a immunidade como as bacterias de que proveem.

E' por este methodo que se immunisam os animaes destinados a fornecer os soros antidiphterico e antitetanico.

As toxinas assim preparadas conferem, aos animaes a que são inoculadas, a immunidade, não só para as bacterias que lhes dão origem, como tambem para as toxinas puras, o que não succede com os virus attenuados que só dão ao animal a resis-

tencia para as bacterias e não para as toxinas que ellas segregam.

Este processo de immunisação não offerece pois o perigo que manifestava o da immunisação pelos virus frescos, pois que aqui a primeira inoculação é praticada com um virus muito attenuado e por isso inoffensivo ou quasi inoffensivo.

No entanto para se estabelecer a immunidade por meio d'este processo é necessario um periodo sempre longo.

Ora se a extensão do periodo de tempo é uma condição para que a transformação dos phagocytas se opere bem e profundamente, dando logar a uma immunidade bastante duradoura, não deixa tambem de ser um perigo em determinados casos, como por exemplo quando se trata de animaes com infecção latente ou contaminados no inicio da operação.

Todavia este processo é muito preferivel ao da immunisação pelos virus frescos conferindo aos animaes uma immunidade duradoura ou activa.

Immunisação pelos soros

Este processo foi descoberto por Richet e Hericourt, em 1888, quando surprehendidos pelo facto de que o sangue de cães, fortemente immunisados contra os staphylococcos, podia, sendo injectado n'outros animaes, sensiveis áquelles *coccus,* conferir-lhes a immunidade para os mesmos microbios. Pouco depois Bouchard provava, pelas suas experiencias, que não era necessario empregar o sangue

completo, bastando injectar apenas o soro dos animaes immunisados, para se obterem os mesmos resultados.

Dois annos mais tarde Behring e Kitasato servem-se d'este processo, para immunisar os animaes contra a diphteria e contra o tetano, encarregando-se Roux e Martin de o fazer entrar em uso clinico, vulgarisando-se rapidamente o seu emprego e generalisando-se a outras doenças.

Producção dos soros.—Varios auctores como Behring, Kitasato, Wasserman, Ehrlich, Fraenkel, Catani e outros fizeram conhecer diversos processos de producção de soro, em animaes de laboratorio, mas estes não eram faceis e praticos; só depois dos trabalhos de Roux, Nocard e Vaillard a sua technica se tornou favoravel aos usos clinicos.

A principal difficuldade residia na escolha do animal destinado a produzir o soro immunisante, visto que não são identicos entre si os soros dos differentes animaes domesticos. Segundo as experiencias de Leclainche e Remond, sobre a toxicidade comparada dos soros, devemos preferir, sob este ponto de vista, o soro do cavallo ao das outras especies por ser o que se apresenta menos toxico.

A questão da receptividade ou da refractariedade do animal productor de soro, para uma dada doença, é perfeitamente indifferente. D'este modo o cavallo, que em condições normaes é refractario ao carbunculo, fornece, não obstante isso, um soro fortemente immunisante contra esta doença.

Behring admitte, todavia, que um animal fornecerá um soro tanto mais activo quanto maior fôr a sua sensibilidade em relação á toxina de que se tratar. Comparando, comtudo, o soro fornecido pelo cavallo com o fornecido pela cabra, quando tratados pela toxina diphterica, vê-se que o do primeiro d'estes animaes é tanto ou mais activo do que o fornecido pelo segundo muito embora este seja mais fortemente impressionado pela citada toxina.

Portanto a este respeito póde-se pois adoptar o cavallo o qual se torna ainda preferivel a qualquer outro animal, não só pela grande quantidade de soro que fornece de cada vez, com tambem pela sua extrema resistencia e docilidade.

O soro obtido pode ser antitoxico ou antimicrobiano, conforme se inocula a toxina ou o agente microbiano. Este ultimo soro é incapaz de proteger o organismo contra a acção da toxina e por isso não convem para os casos de doenças do typo nitidamente toxico, como o tetano, nos animaes domesticos e a diphteria ou o cholera na especie humana.

Quando se trata pois de obter soros para immunisar contra aquellas doenças basta inocular, nos individuos productores, as toxinas dos respectivos microbios, que são obtidas por filtração das culturas correspondentes.

A dose do virus a inocular varia com a receptividade do animal productor do soro. Se este é insensivel a um dado virus podem-se-lhe administrar doses, relativamente elevadas, de culturas virulentas ou de

toxinas. Quando porém o animal é sensivel teem que se empregar primeiro, doses muito pequenas de culturas ou de toxinas attenuadas que irão augmentando em successivas inoculações até que o animal esteja fortemente immunisado, podendo então receber culturas virulentas para fornecer um soro bastante activo.

O modo de praticar as inoculações não é indifferente. Seguindo os conselhos de Roux, Vaillard e Martin, quando se trata do tetano ou da diphteria, devem fazer-se inoculações successivas sub-cutaneas de fracas doses de toxina, inoculações que se repetem por muitas vezes após cada sangria. Para outras doenças, como o carbunculo symptomatico ou a septicemia gangrenosa é de toda a conveniencia que o virus seja introduzido por inoculações intra-venosas para se conseguir manter em um grau elevado o poder immunisante do soro.

Para se colher o soro sangram-se os animaes asepticamente por meio de um trocart pela canula do qual o sangue é debitado para o interior de vasos de vidro cylindricos e esterilisados a autoclave, coagulando rapidamente. Decorridas 48 a 72 horas recolhe-se o soro, com o auxilio de uma pipeta ou de um siphão esterilisado, distribuindo-o por frascos apropriados e asepticos d'onde depois é utilisado em clinica.

Modo d'acção dos soros. — A propriedade immunisante dos soros é devida a estes conterem os fermentos que operam a digestão dos virus *in*

vivo. O logar onde são produzidos estes fermentos, o mechanismo da sua producção e a razão porque se encontram no soro dos animaes immunisados, são pontos a que já me referi quanto tratei do mechanismo da immunidade.

No entretanto é necessario distinguir o modo como actuam os soros antimicrobianos e modo porque actuam os antitoxicos.

Quando se trata de um soro antimicrobiano a sua acção póde ser examinada *in vitro* e *in vivo.*

Misturando por exemplo o soro anticholerico com uma emulsão de vibriões, reconhece-se que se produz uma forte agglutinação dos microbios que acabam por ser destruidos, destruição esta que é devida á presença, no soro, de duas substancias de natureza enzymatica: o complemento e o fixador.

O complemento como já disse é normal em todos os soros, mas incapaz, por si só, de actuar sobre os microbios; o fixador só existe nos animaes preparados e é devido á sua intervenção que o complemento se torna activo.

A acção bactericida d'um soro é devida pois a existencia, n'esse soro, do fixador ou anticorpo.

No organismo este phenemeno é differente e mais complicado. A resistencia do individuo, a que se tenha administrado um soro antimicrobiano com o fim de o immunisar, parece estar directamente dependente dos phagocytas sobre os quaes esse soro exerce uma acção profundamente estimulante. Metchnikoff dá ás substancias activas d'estes soros,

mercê do papel que desempenham, o nome de *estimulinas*.

Todos os soros antimicrobianos asseguram o englobamento e a destruição rapida dos microbios estimulando mais ou menos energicamente os phagocytas, e tanto assim é que evitando a reacção d'estes elementos, o animal, tratado pelo soro, morre como se d'este se não tivesse feito uso.

Praticado que tenha sido o englobamento, a digestão dos microbios, no interior dos leucocytas, não se faz esperar, exercendo-se em virtude da acção dissolvente produzida pelo complemento, que existe normalmente, e o fixador, levado pelo soro considerado.

*

* *

A acção dos soros antitoxicos não é ainda bem conhecida porque se não póde observar o que succede as toxinas que são agentes não figurados.

As hypotheses attinentes a explicar a acção antitoxica teem sido muitas, pelo que me limitarei a citar apenas a de Behring e a de Roux e Vaillard.

Behring juntando em determinada proporção a toxina tetanica com o soro antitetanico, obtem uma mistura inerte que pode ser immediatamente injectada sem produzir o menor effeito. Este facto levou-o a pensar que a antitoxica neutralisava a toxica, á semelhança do que se dá com os acidos em presença das bases.

A experimentação tem no entanto mostrado que a toxina não está combinada com antitoxina nem se destroe pela acção d'esta.

Buchner notou que a mistura de Behring, inoffensiva para certas especies, podia matar animaes pertencentes a outros. Applicada por exemplo ao rato e ao cobaya deixa o primeiro illeso mas mata o segundo. Roux experimenta-a, egualmente, sobre muitos animaes da mesma especie (cobayas) concluindo que a toxina não está neutralisada visto originar alguns casos de tetano.

Vaillard mostra que os animaes que se conservam indifferentes á inoculação d'aquella mistura podem porem succumbir pelo tetano logo que se lhe diminua a resistencia vital, embora isto se faça só ao fim de muitos dias. Calmette, por seu turno, com uma mistura de veneno de serpente e de soro antivenenoso, mostra que não ha neutralisação do veneno, porque aquecendo a mistura em questão, a 70°, o que destroe a substancia antivenenosa, aquella torna-se activa como o proprio veneno.

Wasserman com uma mistura de toxina pyocianica e do respectivo soro, chega aos mesmos resultados.

Estes factos levam pois a concluir que as toxinas nem são destruidas nem neutralisadas pelas antitoxinas.

A theoria de Roux, conhecida por theoria da acção cellular das antitoxinas, é a que actualmente se firma em bases mais solidas sendo seguido por quasi todos, senão por todos os homens de sciencia.

O grande numero de experiencias levadas a effeito no sentido de mostrar como se comportam as antitoxinas, no phenomeno da immunidade, attribuem a estas uma acção estimulante sobre os leucocytas que absorvem então as toxinas, do mesmo modo que se apropriam dos microbios, influenciados pelos anticorpos especificos.

Metchnikoff em 1896 faz-nos saber que os leucocytas absorvem e digerem a toxina cholerica bem como a tetanica.

Posto isto intrerpetando a experiencia de Chatenay, o qual se serve do soro antiabrico como typo dos soros antitoxicos, vejamos comparadamente o que se dá com um animal normal, a que tenha sido inoculada uma dose consideravel de abrina, e um outro nas mesmas circunstancias mas que tenha recebido previamente o soro antiabrico.

No animal não vaccinado a abrina determina uma hypoleucocytose crescente até á morte, ao passo que no vaccinado se nota exactamente o contrario isto é, a hypoleucocytose é substituida por uma hyperleucocytose extraordinariamente consideravel.

Calmette e Deleard utilisando-se do negro animal que fixa fortemente a abrina mostram claramente a absorpção d'este toxico pelos leucocytas do animal vaccinado. Examinando o exudado peritoneal de cobayas, não vaccinados, que tenham succumbido ao emprego do negro animal abrinado, nota-se que os leucocytas ahi existentes deixaram em liberdade a maior parte dos grãos de negro

animal, o que não acontece com os animaes d'esta mesma especie, quando vaccinados, pois que as particulas abrinadas são avidamente aprisionadas e atacadas pelos leucocytas.

De modo que a resistencia d'um animal tratado por um soro antitoxico é a consequencia da intervenção phagocytaria, resumindo-se a acção do soro na estimulação dos leucocytas e no fornecimento do fixador necessario á digestão.

Em presença de todos os novos dados que tenho mencionado a theoria da acção neutralisante emittida por Behring está completamente posta de parte.

*

* *

Posto que muito superficialmente não quero deixar de dizer duas palavras, apenas sobre a especificidade dos soros.

A regra geral é as antitoxinas exercerem uma acção nitidamente especifica. Um determinado soro só deverá ser activo em presença da toxina que se empregou para immunisar o individuo productor d'esse soro.

Todavia, esta regra geral não é invariavel apresentando, pelo contrario, bastantes excepções. Assim Roux e Calmette mostram que o soro antitetanico é capaz de perservar os individuos, a que tenha sido administrado, da acção morbigena do veneno das serpentes; do mesmo modo o soro de coelhos vaccinados contra a raiva póde proteger os animaes

contra aquelle veneno; a toxicidade da abrina pode ser attenuada pelo soro antivenenoso, etc. A acção antitoxica, praticada nos casos a que me acabo de referir, só se exerce assim, indifferentemente, quando o soro é empregado em doses muito elevadas. Fazendo uso do soro em fracas doses, este só é activo para a toxina correspondente, de modo que a especificidade dos soros deve ser considerada como um facto real e geral.

*

* *

O processo de immunisação pelos soros é o menos perigoso, visto que não se empregam nem virus frescos nem attenuados mas simplesmente substancias, cuja innocuidade está perfeitamente estabelecida. A immunidade produzida por este processo, pode conferir-se aos animaes em qualquer altura, antes ou depois do ataque microbiano.

D'aqui resulta que o processo de que estou fallando deixa muitas vezes de ser uma simples medida phophylatica para se tornar verdadeiramente curativo. E' o que atestam os trabalhos de Leclanche com a sorotherapia do mal rubro; os de Bosc e Borrel sobre a cura da gafeira pelo soro de animaes immunisados contra esta doença; os de Nicolle sobre os animaes atacados de peste bovina; os de Leclanche e Morel sobre a utilisação, a titulo curativo, do soro contra a septicencia gangrenosa, etc.

Por aqui se pode vêr a grande importancia do processo de immunisação pelos soros em medicina veterinaria. Dia a dia novos conhecimentos nos veem chegando e não será talvez, arriscado prognosticar a este excellente processo um futuro de mais vastos horisontes.

Este methodo de immunisação tem no entanto a inconveniencia de fornecer aos animaes uma immunidade passageira ou passiva de modo que a sua prophylaxia é pouco duradoura e em breve aquelles voltam a estar sujeitos a uma nova infecção.

Tal inconveniente pode ser evitado, por completo, inoculando aos animaes substancias virulentas durante o periodo em que aquelles estão sobre a acção dos soros, inoculação que lhes vae fornecer uma immunidade activa e isto sem perigo algum visto que os animaes já estão em perfeito estado de immunidade.

Esta technica que não é mais do que a conjugação dos dois processos, a immunisação pelos soros e a immunisação pelas vaccinas, constitue o methodo de immunisação chamado soro-vaccinação.

E' este o unico processo que, livre de todos os os perigos, permitte conferir aos animaes uma immunidade duradoura ou activa.

O seu uso tornou-se ultimamente de uma applicação geral a quasi todas as doenças microbianas. Pode-se no entanto objectar que em virtude d'este processo requerer pelo menos duas operações successivas, sairá mais cara do que qualquer outro no que diz respeito a parte technica, objecção esta

que pouco valor tem, attendendo a que é um processo sem perigos, fornecendo uma immunidade segura, muitas vezes mesmo quando se trata de animaes já infectados.

CONCLUSÕES

A gravidade de uma doença microbiana está em grande parte dependente do grau de virulencia do microbio que a produz.

A digestão dos microbios é devida á accção dissolvente resultante do concurso de duas substancias de natureza enzimatica.

Toda a immunidade repousa na phagocytose.

Prefiro, como meio de conferir a immunidade activa, a soro-vaccinação aos outros processos.

O futuro reserva á serotherapia uma alta importancia na prophylaxia e therapeutica de certas doenças microbianas.