

INSTITUTO DE HIGIENE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE HIGIENE E SAÚDE PÚBLICA DO ESTADO
DIRETOR : PROF. H. DE PAULA SOUZA

BOLETIM N. 71

Prova de Proteção intraperitoneal em Camondongo, no Estudo Epidemiológico da Febre amarela Silvestre

(Epidemia ocorrida no Estado de São Paulo, Brasil. em 1937-1938)

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO
1.º ASSISTENTE

1 9 4 0
IMPrensa OFICIAL DO ESTADO
SÃO PAULO

PROVA DE PROTEÇÃO INTRAPERITONIAL EM CAMONDONGO, NO ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO DA FEBRE AMARELA SILVESTRE (*)

(Epidemia ocorrida no Estação de São Paulo, Brasil, em 1937-1938)

DR. LUCAS DE ASSUMPÇÃO
1.º Assistente

É antiga a noção de que uma infecção amarílica confere ao homem imunidade durável.

O fato da existência de anticorpos protetores no sangue de convalescentes de febre amarela já fôra observado por MARCHOUX, SALIMBENI e SIMOND (1903) (1); estes pesquisadores verificaram que o soro de convalescente revelava propriedades terapêuticas e que a imunidade passiva por êle conferida ainda era notada no fim de 26 dias, tendo também demonstrado que a injeção de soro de convalescente protegia o homem contra o vírus da febre amarela; fizeram ainda sugestões para uma imunização mista, ativa e passiva, com soro imune e vírus — “Une injection préventive de sérum chauffé 5' a 55° C. donne une immunité relative que, suivie de l'inoculation d'une très petite quantité de virus, peut devenir complète.”

A êsses pesquisadores falharam, naquela época, tôdas as tentativas para infectar animais de laboratório os mais diversos, tendo mesmo experimentado cinco espécies de macacos. Tiveram que fazer as suas experiências no homem.

Enquanto não se descobriu um animal sensível ao vírus da febre amarela, pouco progrediram as pesquisas sôbre a imunidade nessa infecção, dificultando os estudos epidemiológicos.

PROVA DE PROTEÇÃO EM MACACOS

No dia 26 de maio de 1927, STOKES, BAUER e HUDSON (2) fizeram na África uma experiência que se tornou histórica, inoculando a mistura de sangue citratado de dois casos de

(*) Trabalho apresentado à Associação Paulista de Medicina (Secção de Higiene e Medicina Tropical), em 7 de novembro de 1939.

febre amarela em um chimpanzé, em 12 cobaias e em 12 *Macacus sinicus* (1 cc. de sangue citratado por via peritonial). Os dois *Macacos sinicus* ficaram doentes, apresentando febre e morrendo em hipotermia, um em 8 e outro em 10 dias, revelando ambos lesões macroscópicas e histológicas características, semelhantes às encontradas no homem vítima do mal amarelillo.

Recebendo macacos *rhesus* inocularam, em 30 de junho do mesmo ano, no peritônio, sangue de outros dois casos de febre amarela, um em cada macaco, com resultado positivo. Um destes sangues foi do africano denominado Asibi, cuja fonte de virus tem sido conservada com esse nome até hoje nos principais laboratórios que estudam a febre amarela.

A descoberta da sensibilidade do *Macacus rhesus* à febre amarela permitiu se iniciassem em maior escala, e no laboratório, estudo sobre ela.

Relatam STOKES, BAUER e HUDSON, no trabalho que acabamos de citar, que durante a epidemia de febre amarela ocorrida em Larteh, na Costa do Ouro, em maio de 1927, retiraram sangue de alguns convalescentes com o fim de estudar o valor terapêutico desses soros no tratamento de casos de febre amarela, e que aproveitaram a oportunidade para verificar o poder protetor contra a infecção experimental do *Macacus rhesus* com o virus em estudo.

Em 20 de agosto do mesmo ano, fizeram pela primeira vez uma prova de proteção em animal sensível. Tomaram dois *Macacus rhesus*, injetando no peritônio de cada um 1,5 cc. de soro de convalescente de febre amarela. Inocularam ao mesmo tempo em um deles 1 cc. de sangue virulento de um macaco infetado, sendo o outro picado por 14 mosquitos igualmente infetados com o virus amarelillo.

O primeiro macaco morreu três dias depois, de pneumonia e não de infecção amarelilla. O segundo não apresentou reação alguma. Neste, 16 dias após, reinocularam 1,5 cc. de sangue virulento de outro macaco, não se dando a infecção, comportando-se como imune.

Em setembro do mesmo ano repetiram essas experiências empregando controles e obtendo nítidas provas de proteção: "The results of this experiment show that yellow fever convalescent serum taken from an individual who had had a very severe attack of this disease in the middle of an epidemic protect rhesus monkeys fully, even in as small amounts as 0,1 cc. against experimental infection with the virus under study".

Esta prova de proteção em macacos apresentou-se desde logo como um *test* imunológico de grande valor nas investigações epidemiológicas sobre a febre amarela.

As técnicas empregadas nessas provas são simples e têm sido mais ou menos idênticas.

THEILER e SELLARDS (3) também fizeram provas de proteção em macacos verificando a identidade etiológica da febre amarela africana e americana. O vírus que usaram foi isolado na África Ocidental por MATHIS, SELLARDS e LAIGRET. Infetado o macaco (*rhesus*), geralmente este era sacrificado entre o quarto e o quinto dia e triturado o fígado com um pouco de areia e água fisiológica. Empregavam esta suspensão na quantidade de 1 cc. Em algumas provas injetaram o sôro no peritônio e o vírus subcutaneamente; em outras, o sôro e o vírus eram misturados *in vitro* e injetados sob a pele. A quantidade de sôro comumente empregada foi 2 cc.

ARAGÃO, (4), refere terem sido feitas, no Rio de Janeiro, provas de proteção em *rhesus*, em três casos de importância epidemiológica com resultado positivo em dois deles e negativo em um.

Em Lagos, na Nígeria, BEEUWKS, BAUER e MAHAFFY (5) empregaram a seguinte técnica nas provas de proteção em macacos: tomaram uma dose uniforme de 5 cc. de sôro para cada animal. Como fonte de vírus a raça "Asibi" que vinha sendo mantida em macacos. Três a quatro macacos eram expostos a mosquitos infectados e o animal que manifestasse a mais forte reação pela mais elevada temperatura no terceiro ou quarto dia seria escolhido para doador de vírus, sendo, nessa ocasião, retirados 10 cc. de sangue, e este misturado com igual quantidade de uma solução de citrato de sódio a 2 %. À esta mistura (20 cc.) juntavam 80 cc. de água fisiológica, tornando a diluição do sangue a 1/10. Apenas uma série de experiências foi feita com vírus na dose de 0,25 cc., sendo que, em todas as outras, empregaram 1 cc. da diluição do sangue citratado a 1/10, isto é, 0,1 cc. de sangue virulento. O sôro era injetado no peritônio e o sangue virulento quatro horas, 6 e mesmo 24 horas depois, em injeção subcutânea. Cada prova era feita em 2 macacos. Como contrôles, provas com sôro imune, com sôro normal e outras com diversas doses de vírus.

BAUER, (6), também fez provas de proteção em macacos. Um *rhesus* infetado era sangrado quando apresentava maior reação. Este sangue, citratado e diluído a 1/4 com água fisiológica, era empregado em cada macaco na quantidade de 1 cc., correspondendo a 0,25 cc. de sangue virulento. Inje-

tava o sôro no peritônio e o virus três horas após subcutaneamente. Em experiência prévia determinava a quantidade de sôro a usar. Verificou que, nas condições da sua prova, 2 cc., e 1 cc., e mesmo 0,1 cc. de sôro protegia os macacos. Baseando-se nesses resultados tomou sempre 2 cc. de sôro nas suas provas de proteção. Estas foram feitas para determinar a duração nesses animais da imunidade passiva conferida pela injeção de sôro de macacos que não sucumbiram à inoculação do virus.

Também fez BAUER outra série de provas com sôro humano de convalescentes de febre amarela, resolvendo nestas provas, após ensaios preliminares, tomar 5 cc. de sôro, que eram injetados no peritônio dos macacos, aos quais depois inoculava 0,1 de sangue virulento correspondendo a 1.000.000 de mínimas mortais de virus, cuja determinação tinha sido anteriormente feita.

*

A prova de proteção em macacos, como foi feita por êsses e outros experimentadores nos estudos preliminares sôbre a febre amarela, mostrou-se desde logo um recurso de grande valor, uma prova imunológica segura no estudo epidemiológico dessa doença, para o seu diagnóstico retrospectivo, como também para a determinação da identidade imunológica da febre amarela ocorrida em vários lugares. É possível, com ela, determinar se houve ou não febre amarela em dada região durante a vida da geração atual, já tendo SAWYER observado um caso de sôro-proteção 80 anos após a moléstia.

Contudo, as provas de proteção em macacos não poderiam ser feitas em grande escala, como seria indispensável em estudos epidemiológicos. O elevado preço dêsses animais tornava êsses trabalhos muito dispendiosos, além da dificuldade no seu manuseio, por se tratar de animais verdadeiramente indóceis.

PROVA DE PROTEÇÃO INTRACEREBRAL EM CAMONDONGO

Em 1930, THEILER (7) demonstrou a suscetibilidade do camondongo branco ao virus da febre amarela por inoculação intracerebral. Quando inoculado por outras vias, não se dava a infecção. Verificou THEILER que a inoculação intracerebral produzia no camondongo branco uma encefalite específica, transmissível em série, produzindo lesões com in-

clusões intranucleares nas células ganglionares, sendo o vírus da febre amarela neurotrópico para o camondongo, ao passo que para o macaco êle é viscerotrópico.

A descoberta da suscetibilidade do camondongo branco ao vírus da febre amarela, concorreu notavelmente para que se intensificassem os estudos experimentais sôbre esta moléstia, dando-lhes um novo desenvolvimento.

THEILER, no trabalho que acabamos de citar, ao mesmo tempo que anunciou a sensibilidade do camondongo ao vírus amarello quando injetado no cérebro, mostrou a possibilidade de ser feita prova de proteção nesse animal, inoculando no cérebro 0,03 cc. de uma mistura em partes iguais do sôro a examinar e vírus.

Os primeiros resultados apresentados por THEILER, de uma técnica de prova de proteção intracerebral em camondongos, deram muitos resultados inconclusivos, principalmente devido ao emprêgo de forte dose de vírus.

Em 1931 e em 1933, THEILER, (8 e 9) melhorando a sua técnica de prova de proteção intracerebral, conseguiu bons resultados, como aqueles apresentados em 1933, em que empregou a técnica que passamos a expor.

TÉCNICA DA PROVA INTRACEREBRAL EM CAMONDONGOS

No preparo do vírus tomou diversos cérebros de camondongos nitidamente doentes, do quarto ao quinto dia após a injeção intracerebral do vírus amarello (fonte francesa, neurotrópica). Tomava mais de um cérebro, porque um poderia ter mais vírus que outro.

Empregou água fisiológica como diluente do vírus, mas com 10 % de sôro humano normal, isto é, negativo em prova de proteção, seguindo os conselhos de BAUER e MAHAFFY (10) que tinham verificado morrer o vírus rapidamente quando suspenso em água fisiológica, resistindo muito mais quando o diluente era preparado com sôro.

Os cérebros são bem triturados com o diluente e a suspensão centrifugada meia hora a 2.500 rotações por minuto. Com êste líquido decantado (suspensão do vírus) são feitas diluições a 1|100, 1|1000, 1|10000 e 1|100000.

A cada uma destas diluições juntava partes iguais dos sôros a examinar, injetando as misturas no cérebro de camondongos, na quantidade de 0,03 cc., empregando para cada mistura um grupo de seis camondongos.

A mínima mortal do virus usado por THEILER era de 1|100000, e as melhores provas foram obtidas com o virus diluído a 1|1000 e 1|10000.

THEILER também fez a sua prova de proteção intracerebral empregando o virus sêco no vácuo pelo processo de SAWYER, LLOYD e KITCHEN.

STEFANOPOULO, desde 1931, em provas feitas na África Ocidental francesa, que emprega a prova de proteção intracerebral de THEILER.

Mais recentemente STEFANOPOULO (1935-1936) (11) continua empregando na pesquisa de anticorpos antiamarílicos, êsse mesmo método de soroproteção intracerebral no camondongo, seguindo a técnica apresentada por THEILER em 1933, usando o virus sêco; sendo êste o método usual em seu laboratório.

*

A técnica de Theiler, de prova de proteção intracerebral, tem sido empregada por diversos pesquisadores com resultados satisfatórios.

Nós também lançamos mão dela com bons resultados no estudo e identificação de uma das fontes de virus que isolamos de doentes de febre amarela silvestre, na epidemia que houve no Estado de São Paulo, em 1937, tendo chegado à seguinte conclusão: "O virus neurotrópico da febre amarela "raça francesa" (F503), e o virus isolado em São Paulo, pelo A., de um caso de febre amarela silvestre, mostraram, nas provas apresentadas, identidade imunológica, sendo ambos igualmente neutralizados pelo mesmo sôro amarílico imune." (12).

A prova de proteção intracerebral indiscutivelmente permite a diferenciação entre sôro imune e não imune, mas os resultados têm sido um pouco irregulares para alguns pesquisadores.

Ficou assim perfeitamente estabelecida a possibilidade de uma prova de proteção em camondongo, substituindo êste animal de laboratório o macaco; contudo, impunha-se novo progresso no aproveitamento dêsses animais em uma prova mais sensível.

Na prova intracerebral a quantidade de sôro é muito pequena (0,015 cc.), sendo inoculada diretamente no cérebro misturada com um virus altamente neurotrópico.

Ainda recentemente, OLITSKY e HARFORD (1936), (13) demonstraram que o sôro imune contra o virus da encefalomyelite equina protege muito melhor quando as misturas de sôro-virus são inoculadas no peritônio, do que no cérebro.

Também a mistura do vírus da pseudo raiva com sôro imune é infecciosa quando injetada no cérebro, mesmo que mínimas doses de vírus sejam usadas, porém protege contra a infecção quando administrada por via sub-cutânea.

PROVA DE PROTEÇÃO INTRAPERITONIAL EM CAMONDONGOS

SAWYER e LLOYD (14) estudaram um método para empregar mais sôro e no qual o vírus não fosse injetado diretamente no cérebro dos camondongos, mas a êle conduzido e fixado mais lentamente.

Conhecendo o fato assinalado por SAWYER e FROBISHER de que a injeção intraperitonal de uma dose massiça do vírus da febre amarela em animais resistentes, como, por exemplo, a cobáia, pôde ser encontrado no sangue durante dois ou mais dias, experimentaram injetar no peritônio de camondongos a mistura de maiores quantidades de sôro e vírus e ao mesmo tempo produziram uma pequena irritação ou lesão no cérebro para que o vírus circulante fosse aí fixar-se.

Sendo favoráveis os resultados, uma nova técnica de prova de proteção foi então apresentada por SAWYER e LLOYD, com a denominação de *prova de proteção intraperitonal*, tendo sido estudados também todos os fatores que pudessem concorrer para a sua boa execução, como sejam: I) raça de camondongos bem suscetível ao vírus da febre amarela; II) fonte do vírus; III) agente localizador do vírus no cérebro; IV) técnica da prova.

I) *Raça de camondongos.* SAWYER e LLOYD, em 1931, verificaram que as diferentes raças de camondongos brancos variam em sua suscetibilidade ao vírus da febre amarela, o que foi confirmado por THEILER em 1932.

Das raças de camondongos estudadas por êsses e outros pesquisadores, a raça "Suiça" é a que tem revelado maior suscetibilidade. Ainda recentemente LYNCH e HUGHES (1935) (15) também verificaram a sensibilidade diferente ao vírus da febre amarela, de camondongos de duas fontes, tendo estudado o resultado de cruzamentos, deixando bem claro que os fatores hereditários têm muita importância na resistência dos camondongos à encefalite amarílica.

Na prova de proteção intraperitonal tem sido empregada a raça "Suiça", pelas razões expostas.

II) *Fonte de vírus* — A fonte usada foi a francesa, isolada em 1937 por SELLARDS, MATHIS e LAIGRET, em

Dakar (Senegal) ; esta é a fonte neurotrópica, que é empregada até hoje nessas provas.

III) *Agente localizador do virus no cérebro*. Diversas experiências foram feitas por SAWYER e LLOYD com o fim de determinar o agente localizador do virus, que, injetado no peritônio, teria que se fixar no cérebro por uma irritação aí praticada. Antes da inoculação intraperitoneal do virus é feita a injeção intracerebral do agente localizador. Experimentaram água destilada, solução de clorureto de sódio a 0,9 e 3 %, soro humano normal e de cavalo, soluções de sulfato e clorureto de magnésio, soluções de tapioca, de amido, etc. Adotaram a solução a 2 % de amido em água fisiológica, injetada no cérebro na quantidade de 0,03 cc., cuja lenta absorção e presumível maior lesão dos tecidos por ela praticada, torna-a mais indicada do que as simples lesões da agulha ou da injeção de soluções salinas isotônicas.

TÉCNICA DA PROVA DE PROTEÇÃO INTRAPERITONIAL EM CAMONDONGOS

- a) *soro* — Na prova de SAWYER e LLOYD, são empregados 3 cc. de soro. São necessários no mínimo 6 cc. de soro para que se possa repetir a prova no caso de resultados duvidosos ou não satisfatórios. No caso de se querer titular o soro, este pode ser diluído, por exemplo, a 1|4, 1|6, 1|64, 1|256, 1|1024, etc. Empregaram como diluente solução fisiológica a 8,5 %, com 10 % de soro humano normal.
- b) *Camundongos* — Os camundongos devem ser sadios, de 6 a 10 semanas, com aproximadamente 20 grs. de peso. São separados em grupos de 5 ou 6 para cada soro ou diluição de soro.
- c) *Preparo do virus* — Três a quatro dias antes da prova serão inoculados camundongos com o virus amarello no tecido cerebral, sendo todos inspecionados diariamente. No terceiro ou quarto dia a maioria apresenta-se nitidamente doente, sendo então morta pelo clorofórmio. Após dissecação e exposição do crânio, pinça-se o focinho do animal com uma pinça de Koch, recorta-se a tampa craniana de trás para diante, levantando-a e removendo-a com a tesoura. Secciona-se a medula junto ao bulbo, levanta-se o cérebro na extremidade da tesoura entreaberta transferindo-o para uma placa de Petri. Antes de recortar a tampa craniana passa-se uma ponta de cobre aquecido ao

rubro nas partes laterais da cabeça do camondongo e depois, rapidamente, na parte central.

Os cérebros são finamente triturados em um gral de porcelana, com sol. fisiológica. SAWYER e LLOYD aconselham sol. fisiológica, ou preferivelmente sol. fisiológica com 10 % de sôro normal, sendo a suspensão também a 10 %.

- d) *Preparo da solução de amido.* A solução de amido para a injeção intracerebral era preparada por SAWYER e LLOYD juntando 2 % de amido à água fisiológica, que em seguida deve ser aquecida por algum tempo em água fervendo e depois autoclavada.
- e) *Preparo da mistura sôro-virus.* Colocam-se 3 cc. de cada sôro a examinar em um tubo de ensaio, juntando a cada um deles 1,5 cc. da suspensão do virus. O conteúdo destes tubos é aspirado em uma seringa de 5 cc. graduada com divisões de 0,2 cc.
- f) *Contrôles* — Cada prova é acompanhada de diversos controles. Um grupo de camondongos é inoculado com sôro normal humano ou de macaco e virus, em lugar do sôro a examinar; outro, com sôro imune e virus; e ainda um terceiro grupo é inoculado unicamente com a suspensão do virus, mas no cérebro. As inoculações com sôro normal e sôro imune são indispensáveis para se verificar que os camondongos morrem pelo virus e não por algum organismo que esteja contaminando o sôro ou o virus.
- g) *Inoculação dos camondongos* — Os camondongos são anestesiados em um grande vaso de vidro com um pedaço de algodão embebido em éter. Quando inconscientes, são retirados, colocados na mesa em cima de uma toalha ou papel e deitados com as costas para cima. Na parte da cabeça em que vão ser inoculados passa-se um algodão com álcool a 70°. Toma-se uma seringa especial, com uma agulha muito fina, injetando-se no cérebro 0,03 cc. da sol. de amido. Em seguida, suspendendo-se o animal pela pele do pescoço, e segurando-o, é feita a injeção intraperitonal de 0,6 cc. da mistura ra sôro-virus.
- h) *Inspecção após as inoculações* — Após as inoculações inspecionam-se todas as caixas, substituindo-se os animais que hajam morrido por traumatismo devido à injeção. Durante 14 dias os camondongos continuam a ser inspecionados todas as manhãs, registrando-se os que estão doentes, os moribundos e os mortos. Con-

vém observar si a morte não resultou da luta entre animais.

- i) *Interpretação da prova.* — A morte antes do 4.^o dia provavelmente não é devida aos virus da febre amarela. SAWYER e LLOYD aconselham dar valor aos que morrem até o 10.^o dia após a inoculação e que estavam vivos no 4.^o dia.

Os resultados são resumidos da seguinte maneira: “5/6”, isto é, sobreviveram 5 dos 6 camondongos inoculados.

MAHAFFY, LLOYD e PENNA (16) empregaram a técnica que acabamos de descrever nas provas de proteção que fizeram nos laboratórios da Fundação Rockefeller em Lagos, na Nigéria, e entre nós, na Baía. Usaram a suspensão do virus a 20 % e não 10 % como o fizeram SAWYER e LLOYD.

*

Em 1936 estivemos na Baía, no Laboratório da Fundação Rockefeller, nessa ocasião dirigido pelo *Dr. L. Whitman*. Neste laboratório as provas de proteção eram feitas pelo sr. Harry Burrus, do “Serviço Federal da Febre Amarela”, a cargo da Fundação Rockefeller. Acompanhámos êsse serviço e a técnica que seguimos nas nossas provas foi a que lá aprendemos.

A técnica de SAWYER e LLOYD que acabamos de resumir, era a seguida no Laboratório da Fundação Rockefeller da Baía, apenas com algumas pequenas modificações.

Na parte do preparo do virus, em vez da sua suspensão ser a 10 %, era feita a 15 %.

A sol. de âmido é feita com 2 grs. de âmido em 125 cc. de água fisiológica. Esta solução é fervida até reduzir o volume para 100 cc.; depois autoclavada.

Como contrôles, apenas um grupo de camondongos com sôro imune e virus e outro com sôro normal e virus.

As provas de proteção podem ser consideradas: positivas, negativas, inconclusivas e não satisfatórias.

Positivas — 6|6 — 5|6 — 5|5 — 4|5 — 4|4.

Negativas — 2|6 — 1|6 — 0|6 — 1|5 — 0|5 — 0|4.

Inconclusivas — 4|6 — 3|6 — 3|5 — 2|5 — 3|4 — 2|4 — 1|4.

Não satisfatórias — 3|3 — 2|3 — 1|3 — 0|3 — 2|2 — 1|2 — 0|2 — 1|1 — 0|1.

As porvas inconclusivas e as não satisfatórias devem ser repetidas.

Damos em seguida o resultado das provas por nós feitas, no Instituto de Higiene, dos sangues que nos foram enviados pelo Serviço Especial de Defesa contra a Febre Amarela do Departamento de Saúde do Estado.

PROVA DE PROTECCAO

Nº 1

Fonte de virus: F 503

Data: 2 - 3 - 937

16 - 3 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias apds a inoculação e registo dos que sobreviveram																Resultado				
				2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	Total	P.	N.	I.		
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14						
1	S. D.	Pompéia	24	5	5	4	4	4	4	3	3	0	0	0	0	0	0	0/4		N.				
2	J. B.		25	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.					
3	J. F.		26	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4/5	P.					
Testemunhas:																								
4	Soro normal negativo F.A.(N.P.110)		27	5	5	5	5	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.				
5	Soro normal negativo F.A.(N.P.110)		28	5	5	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.				
6	Soro immune positivo F.A.(I.P.113)		29	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.					
7	Soro immune positivo F.A.(I.P.113)		30	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.					

G.C. = Grupo de camandongos

P. = Prova positiva

N. = Prova negativa

I. = Prova inconclusiva

5/5 = O numerador indica o numero de camandongos que sobreviveram até o 14º dia; o denominador, o dos que foram inoculados e se conservaram vivos e sãos até o 3º dia.

F.A. = Febre amarela

N.P. = Normal pool - mistura de sôros negativos em prova de proteção, fornecida pela Fundação Rockefeller.

I.P. = Immune pool - mistura de sôros positivos em prova de proteção, fornecida pela Fundação Rockefeller.

PROVA DE PROTECCAO

Nº 2

Fonte de virus: F 503

14 - 4 - 937

Data: -----

28 - 4 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registo dos que sobreviveram														Resultado				
				14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	Total	P.	N.	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
8	P.D.	Rocinha	70	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
9	M.A.	Tamboré	71	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
10	J.P.	Tamboré	72	5	5	5	5	5	5	5	4	3	2	2	2	2	2	2	2/5			I
11	M.B.N.	Indaiatuba	73	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	6/4	P.		
12	S.D.	Rocinha	74	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
13	V.D.	Rocinha	75	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
Testemunhas:																						
14	Soro normal negativo F.A.(N.P.110)		67	5	5	5	5	5	5	3	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
15	Soro immune positivo F.A. (I.P.113)		68	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

Fonte de vírus: F 503

Nº 3

Data: 17 - 5 - 937

31 - 5 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobrevivem																Resultado			
				17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	Total	P.	N.	I.	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
16	A. B.	Indaítuba	106	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
17	R. R.	Indaítuba	107	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
18	I. P.	Jundiahy	108	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
19	J. A. de S.	Baurd	109	5	5	5	5	5	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1/5		N.			
20	G. R.	Rocinha	110	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.				
21	G. B.	Rocinha	111	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.				
22	J. C.	Piras - Perú	112	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.				
Testemunhas:																							
23	Soro normal negativo F.A.(N.P.110)		104	5	5	5	5	5	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5		N.			
24	Soro imune positivo F.A.(I.P.113)		105	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.				
25	Soro imune positivo F.A.(I.P.113)		103	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.				

PROVA DE PROTEÇÃO

Nº 4

Fonte de vírus: F 503

Data: 29 - 5 - 937

12 - 6 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobreviveram																Resultado			
				29	30	31	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	Total	P.	N.	I.	
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
26	A. T.	Indaítuba	135	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
27	J. B.	Parnahyba	136	5	5	5	5	5	5	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1/5		N.		
28	J. N.	Indaítuba	137	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
29	J. T. P. C.	Jundiahy	138	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
30	E. R.	Indaítuba	139	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
31	B. H.	Lussanvira	140	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
32	J. T. V.	São Paulo	141	5	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2/5			I.	
33	Y. T.	Indaítuba	142	5	5	5	5	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4/5	P.			
34	V. A.	Indaítuba	143	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
35	A. R.	Rocinha	144	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
Testeunhas:																							
36	Soro normal negativo F.A.(N.P.110)		133	5	5	5	5	5	5	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
37	Soro imune positivo F.A. (I.P.113)		134	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			

Fonte de vírus: F 503

15 - 6 - 937
Data: 30 - 6 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobrevivem																Resultado			
				16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30					
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	P.	N.	I.	
38	Macacus rhesus nº 1 (*)		169	5	5	5	5	5	5	5	4	3	1	1	1	1	1	1	1/5		N.		
39	Macacus rhesus nº 2 (*)		170	5	5	5	5	5	5	2	2	1	1	0	0	0	0	0	0/5		N.		
40	I. P.	São Paulo	171	5	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2	2	2	2/6			I.	
41	R. C.	São Paulo	172	5	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
42	A. G.	São Paulo	173	5	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
43	Macacus rhesus nº 3 (*)		180	5	5	5	5	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
44	J. T. V.	São Paulo	174	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3	3	3	3	3	3	3/5			I.	
	Testemunhas:																						
45	Sôro normal negativo F.A. (S.N.1)		175	5	5	5	5	5	4	4	3	3	3	1	1	1	1	1	1/5		N.		
46	Sôro imune positivo F.A. (I.P.113)		176	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
47	Sôro imune positivo F.A. (S.P.1)		177	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/4	P.			

(*) Antes da inoculação do vírus da febre amarela silvestre.

PROVA DE PROTEÇÃO

Fonte de vírus: F 503

18 - 8 - 937
Data: 2 - 9 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobrevivem																Resultado			
				15	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	1	2					
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	P.	N.	I.	
48	M. do R.	Presidente Kennedy	231	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
49	T. G. V.	Presidente Kennedy	232	5	5	5	5	5	5	4	2	2	1	0	0	0	0	0	0/5		N.		
50	F. G. V.	Presidente Kennedy	233	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/5	P.			
51	A. S. M.	Presidente Kennedy	234	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
52	M. G. M.	Presidente Kennedy	235	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
53	A. S. M.	Presidente Kennedy	236	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
54	M. V. R.	Presidente Kennedy	237	5	5	5	5	5	5	4	3	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
55	H. F. S.	Presidente Kennedy	238	5	5	5	5	5	5	5	3	3	3	2	2	2	2	2	2/5			I.	
56	C. F. do R.	Presidente Kennedy	239	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
57	A. S.	São Paulo	240	5	5	5	5	5	5	4	3	1	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
	Testemunhas:																						
58	Sôro normal negativo F.A. (N.P.110)		229	5	5	5	5	5	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
59	Sôro imune positivo F.A. (I.P.113)		230	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			

Fonte de vírus: F 503

Data: 23 - 8 - 937
6 - 9 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro das que sobreviveram												Resultado			
				23	25	27	29	31	2	4	6	8	10	12	14	Total	P.	N.	I.
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11				
60	A. P. D.	Presidente Kennedy	251	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
61	J. G. L.	Presidente Kennedy	252	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
62	L. M. C.	Presidente Kennedy	253	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
63	J. G. L.	Presidente Kennedy	254	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/5	P.		
64	C. A. C.	Presidente Kennedy	255	5	5	5	5	5	5	4	2	0	0	0	0	0/5	N.		
65	P. G. L.	Presidente Kennedy	256	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
66	A. B.	Presidente Kennedy	257	5	5	5	5	5	5	2	2	2	2	2	2	2/5			1.
67	T. G.		258	5	5	5	5	5	5	3	1	1	1	1	1	1/5	N.		
68	T. F.		259	5	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
69	A. G.		260	5	5	5	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0/5	N.		
71	A. C.	São Paulo	263	5	5	5	5	5	5	4	3	1	0	0	0	0/5	N.		
72	L. P.	São Paulo	264	5	5	5	5	5	5	3	2	1	1	1	1	1/5	N.		
Testemunhas:																			
73	São João? positivo F.A. (nº 1)		262	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
74	São João? positivo F.A. (nº 2, 110)		249	5	5	5	5	5	5	4	1	0	0	0	0	0/5	N.		
75	São João? positivo F.A. (nº 113)		250	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

PROVA DE PROTEÇÃO

Fonte de vírus: F 503

Data: 1 - 9 - 937
15 - 9 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro das que sobreviveram															Resultado		
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	Total	P.	N.
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14			
76	A. B.	Presidente Kennedy	272	5	5	5	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
77	B. de R.	Presidente Kennedy	273	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
78	F. D. V.	Presidente Kennedy	274	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
79	M. V. B.	Presidente Kennedy	275	5	5	5	5	5	5	4	3	1	0	0	0	0	0	0/5	N.		
80	N. F. S.	Presidente Kennedy	276	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
81	L. M. C.	Presidente Kennedy	277	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
Testemunhas:																					
82	São João? positivo F.A. (Nº 3)		270	5	5	5	5	5	5	3	1	1	1	1	1	1	1	1/5	N.		
83	São João? positivo F.A. (Nº 1)		279	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
84	São João? positivo F.A. (Nº 1)		278	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

PROVA DE PROTEÇÃO

Nº 8

Fonte do vírus: F 503

Data: 22 - 8 - 937

6 - 9 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobreviveram												Resultado			
				22	24	26	28	30	2	4	6					Total	P.	N.	I
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
85	P. Lúcia S.	Presidente Wenceslau	317	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
86	B. G.	Presidente Wenceslau	318	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
87	A. Jula S.	Presidente Wenceslau	319	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
88	J. Lúcia A.	Presidente Wenceslau	320	5	5	5	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.
89	P. N. F.	Presidente Wenceslau	321	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
90	J. de M. S.	Presidente Wenceslau	322	5	5	5	5	5	5	4	2	1	0	0	0	0	0	0/5	N.
91	E. F. P.	Presidente Wenceslau	323	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
92	J. A. da S.	Presidente Wenceslau	324	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
93	J. S.	Presidente Wenceslau	325	5	5	5	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0/5	N.
94	J. M.	Presidente Wenceslau	326	5	5	5	5	5	5	4	2	0	1	0	0	0	0	0/5	N.
95	Antes ⁽¹⁾ S.	São Paulo	327	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.
96	Macaco rhesus nº 1		328	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
97	Macaco rhesus nº 2		329	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.
	Testemunhas:																		
98	Sôro normal negativo F.A. (nº 2)		340	5	5	5	5	5	5	4	2	0	0	0	0	0	0	0/5	N.
99	Sôro faune positivo F. A. (nº 1)		341	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.

Como acabamos de ver, foram feitas 181 provas de proteção para estudo epidemiológico. Destas, 6 provas com sôro de três macacos rhesus ns. 1, 2 e 3. Êstes macacos foram inoculados pelo DR. PAULO DE AZEVEDO ANTUNES (17) com o vírus que isolamos do doente P. A. n.º 8, de Lavrinhas, Parnaíba, (18) com febre amarela silvestre, sendo negativas as provas com êles feitas antes da inoculação do vírus desse doente (provas ns. 38, 39 e 43); mas, após 4 meses dessa inoculação, tendo resistido à infecção, as provas, feitas novamente, mostraram anticorpos protetores que neutralizaram o vírus da febre amarela, protegendo todos os camundongos inoculados, como se pode ver nas provas ns. 96, 97 e 109 A.

Quanto às provas inconclusivas, só não repetimos a n. 10, de J. P., de Tambaú, por falta de sôro.

A prova n. 32, J. T. V., São Paulo, deu resultado inconclusivo, protegendo 2 camundongos dos 5 inoculados (2/5).

PROVA DE PROTEÇÃO

Nº 9

Fonte de vírus: F 503

30 - 9 - 937
Data: -----
14 - 10 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registo das que sobrevivem														Resultado					
				30		2		4		6		8		10		12		14					
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	P.	N.	L.	
100	A. C. de O.	Presidente Venceslau	340	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
101	D. V.	Presidente Venceslau	341	5	5	5	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
102	J. de C.	Presidente Venceslau	342	5	5	5	5	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
103	F. F.	Presidente Venceslau	343	5	5	5	5	5	5	5	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
104	C. D.	Presidente Venceslau	344	5	5	5	5	5	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
105	A.B. da S.	Presidente Venceslau	345	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
106	A. R.	Presidente Venceslau	346	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
107	O. D.	Presidente Venceslau	347	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
108	E. S.	Presidente Venceslau	348	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
109	A. B.	Presidente Venceslau	349	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
109A	Macacus rhesus nº 3 (*)			350	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
	Testemunhas:																						
110	Sôro normal negativo F.A.(nº 2)			338	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
111	Sôro faune positivo F. A.(nº 1)			339	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

Feita nova prova, n. 44, o resultado ainda foi inconclusivo, protegendo 3 em 5 camundongos (3/5). Trata-se de um servente do Instituto que apesar de não estar vacinado trabalhava no serviço de febre amarela a nosso cargo, sendo possível que se tenha contaminado.

A prova de I. P., S. Paulo, n. 40, foi inconclusiva na primeira vez, protegendo 2 em 6 camundongos (2/6); na repetição, n. 72, protegeu 1 em 5 camundongos (1/5), cujo resultado é considerado como negativo.

N. F. S. de Presidente Venceslau, prova n. 55, foi primeiro inconclusiva (2/5), tornando-se positiva (5/5), quando repetida; ao passo que a prova A. B., também de Presidente Venceslau, n. 66, de inconclusiva (2/5), passou na repetição a dar resultado negativo (0/5).

PROVA DE PROTEÇÃO

MS. 10

Fonte de vírus: F. 554

19 - 10 - 937
Data: -----
2 - 11 - 937

N.º	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobreviveram														Resultado			
				19	21	23	25	27	29	31	33	35	37	39	41	43	45	Total	P.	N.	I.
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13				
112	A. F.	Presidente Wenceslau	372	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
113	A. G.	Presidente Wenceslau	373	5	5	5	5	5	4	2	1	1	0	0	0	0	0	0/5	N.		
114	L. B.	Presidente Wenceslau	374	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
115	B. S. de A.	Presidente Wenceslau	375	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
116	L. B.	Presidente Wenceslau	376	5	5	5	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
117	P. V.	Presidente Wenceslau	377	5	5	5	5	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
118	J. J. de S.	Presidente Wenceslau	378	5	4	4	4	4	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
119	C. P. de W.	Presidente Wenceslau	379	5	5	5	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
120	J. M.	Presidente Wenceslau	380	5	5	5	5	4	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
121	A. de O.	Presidente Wenceslau	381	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
122	E. F.	Presidente Wenceslau	382	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
123	J. de S. C.	Presidente Wenceslau	383	5	5	5	5	5	5	3	3	2	1	1	0	0	0	0/5	N.		
124	H. M.	Presidente Wenceslau	384	5	5	5	5	5	5	4	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
125	A. R.	Presidente Wenceslau	385	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
126	C. R.	Presidente Wenceslau	386	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
127	H. S.	Presidente Wenceslau	387	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/4	P.		
128	A. de O.	Presidente Wenceslau	388	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
129	L. B.	Presidente Wenceslau	389	5	5	5	5	5	5	5	1	1	1	1	1	1	1	1/5	N.		
130	D. de C.	Presidente Wenceslau	390	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
131	A. B.	Presidente Wenceslau	391	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
Testemunhas:																					
132	Sôro normal negativo F.A. (nº 2)		392	5	5	5	5	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0	0/5	N.		
133	Sôro imune positivo F.A. (nº 1)		393	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

A prova n.º 95 é de uma auxiliar técnica do nosso serviço antes de ser vacinada contra a febre amarela, tendo morrido todos os camundongos dos 5 inoculados (0/5); na prova 152, feita após vacinação, o sôro protegeu os 5 camundongos inoculados (5/5).

Nas reações contrôles com sôro normal, foram injetados 75 camundongos, dos quais apenas 3, ou 4 %, sobreviveram.

Nas provas de proteção feitas pelos membros da Fundação Rockefeller também temos visto assinalado êsse fato,

PROVA DE PROTEÇÃO

Nº 11

Fonte de vírus: F 654

3 - 11 - 937
Data:-----
17 - 11 - 937

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias apds a inoculação e registro dos que sobrevivem															Resultado			
				3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17				
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	Total	P.	N.	I.
134	J. C. M.	Presidente Wenceslau	503	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
135	J. S.	Presidente Wenceslau	504	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
136	E. L.	Presidente Wenceslau	505	5	5	5	5	5	5	4	1	1	1	0	0	0	0	0	0/5		N.	
137	Z. B. de S.	Santo Anastácio	506	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
138	M. Q. T.	Santo Anastácio	507	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
139	V. M. de J.	Presidente Wenceslau	508	5	5	5	5	5	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
140	P. da C.	Presidente Wenceslau	509	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
141	F. M. de J.	Presidente Wenceslau	510	5	5	5	5	5	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1/5		N.	
142	M. F. de J.	Presidente Wenceslau	511	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
143	R. da C.	Presidente Wenceslau	512	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
144	M. P.	Presidente Wenceslau	513	5	5	5	5	5	5	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1/5		N.	
145	E. de S.	Presidente Wenceslau	514	5	5	5	5	5	5	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
146	G. F.	Presidente Wenceslau	515	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
147	M. A. de M.	Presidente Wenceslau	516	5	5	5	5	5	5	4	3	1	1	0	0	0	0	0	0/5		N.	
148	M. P.	Presidente Wenceslau	517	5	5	5	5	5	5	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
149	C. P.	Presidente Wenceslau	518	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
150	B. A. C.	Presidente Wenceslau	519	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
151	G. P.	Presidente Wenceslau	520	5	5	5	5	5	4	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.	
152	Ados S. (x)	São Paulo	521	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		
Testemunhas:																						
153	Soro normal negativo F.A. (S.N.2)		522	5	5	5	5	5	5	4	3	2	2	0	0	0	0	0	0/5		N.	
154	Soro inerte positivo F.A. (S.P.1)		523	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.		

que julgam ser devido à não localização do vírus no cérebro dos camundongos, o que se pode dar pela ausência de alguns fatores que determinam essa localização. Sabe-se que com a raça de camundongos usada atualmente nessas provas, morrem todos os inoculados no cérebro.

As provas inconclusivas, na sua maior parte, são devidas a êsse fato, tornando-se conclusivas em segunda prova, em-

PROVA DE PROTEÇÃO

Nº 12

Fonte do vírus: F 654

Data: 24 - 3 - 938
7 - 4 - 938

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobrevivem														Resultado					
				24		26		28		30		1		3		5		7		Total	P.	N.	T.
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
155	S. G.	Presidente Prudente	556	5	5	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
156	A. G.	Presidente Prudente	557	5	5	5	5	5	5	4	2	2	1	1	1	1	1	1	1/5		N.		
157	A. G.	Presidente Prudente	558	5	5	5	5	5	5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1/5		N.		
158	E. G.	Presidente Prudente	559	5	5	5	5	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
159	J. G.	Presidente Prudente	560	5	5	5	5	5	5	4	1	1	1	1	1	0	0	0	0/5		N.		
160	A. G.	Presidente Prudente	561	5	5	5	5	5	4	4	2	1	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
161	F. G.	Presidente Wenceslau	562	5	5	5	5	5	5	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1/5		N.		
162	M.J.da S.	Presidente Wenceslau	563	5	5	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
163	F.F.dos S.	Presidente Wenceslau	564	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
164	R. C.da S.	Rio Preto	565	5	5	5	5	5	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
165	I. A.	Campinas	566	5	4	4	4	4	4	4	2	2	2	1	0	0	0	0	0/5		N.		
166	M. G.	Presidente Wenceslau	567	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
	Testemunhas:																						
167	Soro normal negativo F.A. (S.N. 2)		568	5	5	5	5	5	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0/5		N.		
168	Soro imune positivo F.A. (S.P. 1)		569	5	5	5	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/5	P.			

bora algumas ainda continuam inconclusivas, como acabamos de ver.

MAHAFFY, LLOYD, e PENNA, em trabalho já citado, dizem o seguinte sobre as provas que repetidas ainda continuam inconclusivas: "The reason for this, although not clearly understood, might have been some inherent property in the serum itself".

Nas reações contrôles com soro imune, foram injetados 95 camundongos, dos quais 93 foram protegidos, só morrendo 2, ou 2,1 %.

Do número total de provas feitas — 181 — descontadas 34 que foram testemunhas, 6 em macacos e 2 em pessoa vacinada, restam 139, das quais 79 positivas, ou 56,8 %, sendo pois esta a porcentagem de reações positivas dos sangues que

PRÓVA DE PROTEÇÃO

Nº 13

Fonte de vírus: F 654

Data: 26 - 4 - 938
10 - 5 - 938

Nº	Nome	Localidade	G.C.	Dias após a inoculação e registro dos que sobrevivem														Resultado				
				26		28		30		2		4		6		8		10	Total	P.	N.	I.
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14				
169	M. de J.	Rio Preto	603	5	5	5	5	5	5	3	2	1	0	0	0	0	0	0/5	N.			
170	J.C. da S.	Rio Preto	604	5	5	5	5	5	5	2	2	1	1	1	1	1	1	1/5	N.			
171	A. F.	Rio Preto	605	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
172	B. N.	Rio Preto	606	5	5	4	4	4	4	2	1	1	1	1	1	1	1	1/5	N.			
173	J. B.	Presidente Wenceslau	607	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
174	J. M.	Presidente Wenceslau	608	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
175	E. B.	Presidente Wenceslau	609	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
176	L. B.	Presidente Wenceslau	610	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
177	J. G.	Presidente Wenceslau	611	5	5	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4/4	P.			
178	M. de O.M.	Presidente Wenceslau	612	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
179	A.A.R.N.	Bananal	613	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			
	Testemunhas																					
180	Soro normal negativo F.A. (S.N.2)		614	5	5	5	5	5	5	5	4	1	1	1	1	1	1	1/5	N.			
181	Soro faune positivo F.A. (S.P.1)		615	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5/5	P.			

recebemos das diversas localidades do Estado de S. Paulo em que foi observada a febre amarela silvestre na epidemia ocorrida em 1937-1938.

Das 181 provas excluindo só as 34 testemunhas, teríamos 147, sendo que destas, apenas 6, ou 4,08%, foram inconclusivas na primeira verificação.

Com os sôros testemunhas tôdas as provas foram conclusivas.

RESUMO

- 1 — Foram estudadas e comentadas as diversas técnicas de provas de proteção: prova de proteção em macaco e as provas de proteção intracerebral e intraperitonal em camundongo.
- 2 — A técnica adotada foi a intraperitonal em camundongo.
- 3 — Além de alguns sangues de macacos, na sua quasi totalidade os sangues examinados foram de pessoas que tiveram ou se supôs terem

tido febre amarela silvestre, no surto epidêmico ocorrido no Estado de S. Paulo, Brasil, em 1937-1938, e enviados pelo Departamento de Saúde Pública do Estado.

- 4 — Os sôros dos macacos rhesus ns. 1, 2 e 3, deram prova negativa antes da inoculação de um dos virus isolados de doentes de febre amarela silvestre, e positiva 4 meses após essa inoculação.
- 5 — Foram feitas 181 provas, sendo que, destas, 147 com os diversos sôros a examinar e 34 com sôros testemunhas.
- 6 — Das 147 provas de proteção feitas com os sôros a examinar, 79 foram positivas (53,7 %), 54 negativas (36,7 %) e 6 inconclusivas (4,08 %).
- 7 — Com os sôros testemunhas todas as provas foram conclusivas.
- 8 — Excluindo-se das 181 provas, 34 que foram testemunhas, 6 com os sôros dos macacos e 2 de pessoa vacinada, restariam 139. Destas, 79 foram positivas, ou 56,8 %, sendo esta a porcentagem de provas positivas obtidas com os sangues recebidos de pessoas de diversas localidades do Estado de S. Paulo, Brasil, em que foi verificada a febre amarela silvestre na última epidemia ocorrida em 1937-1938.

SUMMARY

Intraperitoneal protection test in mice for the epidemiological investigation of jungle yellow fever.
(1937-1938 Epidemy, State of S. Paulo, Brasil).

By LUCAS DE ASSUMPÇÃO, M. D.

- 1 — The various methods for protection tests such as protection tests in monkeys and intracerebral and intraperitoneal protection tests in mice were studied and commented on.
- 2 — The method chosen was that of intraperitoneal inoculation in mice.
- 3 — The blood samples examined were nearly all of people who had or were supposed to have had jungle yellow fever during the epidemic which occurred in the State of S. Paulo in 1937-38. They were sent by the State Public Health Departmente.
- 4 — The sera of rhesus monkeys ns. 1, 2 and 3 were negative before the inoculation of virus and positive 4 months after the inoculation of a virus isolated from patients with jungle yellow fever.
- 5 — There were made 181 tests of which 147 which the various sera to be examined and 34 with control serum.
- 6 — Out of 147 protection test made with the sera to be examined, 79 were positive (53,7 %), 54 were negative (36,7 %) and 6 were inconclusive (4,08 %).
- 7 — All the tests made with control sera were conclusive.
- 8 — If 34 controls, 6 test which monkey serum, and 2 test en vaccinated individuals from different localities in the State of S. Paulo, Brasil, 181) there remain still 139 tests. Of these 79 were positive or 56,8 %, and that is the percentage of positive tests obtained with blood of individuals from different localities in the State of S. Paulo Brasil, where cases of jungle yellow fever were observed during the last epidemy occuring in 1937-1938.

BIBLIOGRAFIA

- 1) — Marchoux, E., Salimbeni, A. et Simond, P. L. 1903 — La fièvre jaune. Rapport de la mission française. Ann. de l'Inst. Pasteur. Vol. XVII, 665-730.
- 2) — Stokes, A., Bauer, J. H., and Hudson, N. P., 1928 — Experimental transmission of Yellow Fever to Laboratory animals. Vol. VIII, 103-164.
- 3) — Theiler, M., and Sellards, A. W., 1928 — The immunocological relationship of yellow fever as it occurs in West Africa and in South America. Ann. Trop. Med. and Parasit. Vol. XXII, 449-460.
- 4) — Aragão, H. B., 1928 — Relatório a respeito de algumas pesquisas sobre a febre amarela. Instituto Oswaldo Cruz. Suplemento das Memórias. N. 2 — 23-46.
- 5) — Beeuwkes, H., Bauer, J. H., and Mahaffy, A. F., 1930 — Yellow fever endemicity in West Africa, with special reference to protection test. Amer. Journ. Trop. Med. Vol. X. N. 5 — 305-333.
- 6) — Bauer, J. H., 1931 — The duration of passive immunity in yellow fever. Amer. Journ. Trop. Med. Vol. XI. — N. 6. 451-457.
- 7) — Theiler, M., 1930 — Studies on the action of yellow fever virus in mice. Ann. Trop. Med. and Parasitol. Vol. XXIV.
- 8) — Theiler, M., 1931 — Neutralisation tests with immune yellow fever sera and a strain of yellow fever virus adapted to mice. Ann. Trop. Med. and Parasitol. Vol. XXV.
- 9) — Theiler, M., 1933 — A yellow fever protection test in mice by intracerebral injection. Ann. Trop. Med. and Parasitol. Vol. XXVII.
- 10) — Bauer, J. H., and Mahaffy, A. F., 1930 — Studies on the filtrability of yellow fever virus. Amer. Jour. of Hyg. Vol. XII.
- 11) — Stefanopoulo, G.-J., 1937 — Resultats fournis par l'application du test de séroprotection contre la fièvre jaune, sur les indigènes de l'Afrique Equatoriale française. Juillet 1935 — Janvier 1936. Extrait des Annales de Medicine et de pharmacie coloniales: yellow fever. The Journ. of Exp. Med. Vol. LIV. Vol. XXXV.
- 12) — Assumpção, L., 1938 — Prova de proteção intracerebral em camundongos, com o virus isolado em São Paulo de um caso de febre amarela silvestre. An. Paulistas de Med. e Cir. Vol. XXXV. N. 4.
- 13) — Olitsky, P. K., and Harford, C. G., 1936 — Intraperitoneal and intracerebral routes in serum protection tests with the virus of equine encephalomyelitis. The Jour. of Exp. Med. Vol. 66. N. 5.
- 14) — Sawyer, W. A., and Lloyd, W., 1931 — The use of mice in test of immunity against yellow fever. The Jour. of Exp. Med. Vol. LIV.
- 15) — Lynch, C. J., and Hughes, T. P., 1936 — The inheritance of susceptibility to yellow fever encephalitis in mice — Reprinted from Genetics 21: 104-112, March, 1936.

- 16) — Mahaffy, A. F., Lloyd, W., and Penna, H. A., 1933 — Two years' experience with the intraperitoneal protection test in epidemiological studies of yellow fever. The Amer. Journ. of Hygiene. Vol. XVIII, N. 3. 618-628, November, 1933.
- 17) — Antunes, P. C. A., 1937 — Nota sobre o virus da febre silvestre isolado em São Paulo. (Lida na Secção de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina, em 4-IX-1937).
- 18) — Assumpção, L., 1937 — O virus isolado dos doentes de febre amarela silvestre durante o último surto epidêmico verificado no Estado de S. Paulo. (Nota prévia apresentada à Sociedade de Biologia de São Paulo, em 8-IV-1937, e depois à Secção de Higiene e Medicina Tropical da Associação Paulista de Medicina em 2-X-1937). Revista da Associação Paulista de Medicina. Vol. XI, n. 5.