

# O sôro anti-pestozo

pelo

**Dr. Figueiredo Vasconcellos**

Chefe de serviço no Instituto

---

# Le sérum anti-pesteux

par le

**Dr. Figueiredo Vasconcellos**

Chef de service à l'Institut

---

Em 1900 apareceu pela primeira vez a peste no continente americano, sendo Santos o primeiro porto do Brazil onde fez erupção.

O governo brasileiro justamente alarmado por esse fato cojitou imediatamente de fundar um Instituto onde fosse preparado o sôro anti-pestozo, o que fez, entregando a sua direção tecnica ao dr. Oswaldo Gonçalves Cruz.

Era a incumbencia muito ardua e espinhoza, pois que, ha pouco tempo apenas, havia sido iniciado o tratamento da peste pelo sôro especifico, de modo que nada havia ainda de preciso sobre o seu preparo.

Com efeito, nessa epoca a literatura bacteriologica pouco registrava a esse respeito. Borrel, Calmette e Yersin, que foram os primeiros que tentaram preparar animais pela inoculação de bacilos da peste, com o fim de obter um sôro especifico, nas publicações feitas nos Anaes do Instituto Pasteur, referiam-se apenas de modo geral aos procesos que empregaram. Assim, dizem que inocularam bacilos da peste sob a pele dos animais, mas como obtinham grande numero de abcessos rezolveram fazer a inoculação intra-venoza. Quando chegaram á inoculação dos cavalos, para a obtenção de sôro terapeutico, referem-se ao emprego de culturas do bacilo mortas pelo calor, não indicando, porém, as quantidades inoculadas.

En 1900, la peste fit sa première apparition sur le continent américain. Santos fut le premier port du Brésil où elle se déclara.

Justement alarmé, le gouvernement brésilien eut aussitôt l'idée de créer un Institut où l'on préparât le sérum antipesteux. L'Institut fut fondé, et sa direction technique confiée au docteur Oswaldo Gonçalves Cruz.

La mission était bien délicate et difficile. Le sérum spécifique commençait à peine à être employé pour le traitement de la peste, de sorte qu'il n'existait rien de précis sur ce point au sujet duquel la littérature bactériologique était d'une grande pauvreté. Les premiers qui essayèrent de se servir des animaux pour l'inoculation des bacilles de la peste pour obtenir un sérum spécifique ont été Borrel, Calmette et Yersin. Ils rapportent d'une façon générale, en des articles publiés dans les Annales de l'Institut Pasteur, qu'ils inoculèrent des bacilles de la peste sous la peau des animaux, mais comme il se produisait un grand nombre d'abcès, ils ont résolu faire l'inoculation intraveineuse. Quant ils arrivent à l'inoculation des chevaux, pour obtenir le sérum thérapeutique, ils nous parlent de l'emploi de cultures de bacilles tués par la chaleur, sans toutefois spécifier les quantités inoculées.

Après quelques essais, le docteur Oswaldo Cruz, forcé par les circonstances, adopta le



Forçado pelas circunstancias e depois de alguns ensaios, o dr. Oswaldo Cruz firmou a seguinte tecnica, que durante muito tempo foi a usada no Instituto, para o preparo dos cavalos que deveriam fornecer o sôro anti-pestozo.

Uma garrafa de Roux de 20 cm. de comprimento por 11 cm. de largura, contendo gelose simples, apresentando, portanto, o meio nutritivo a superficie de 220 cm.<sup>2</sup>, é semeada com 1 ou 2 cc de cultura em caldo de um bacilo da peste pouco virulento. Conservada na temperatura ambiente e passadas 48 horas a cultura desenvolvida em superficie, verificada a sua pureza, é emulsionada em 16cc de agua fisiologica a 0.75 %<sub>o</sub>. Recolhida a emulsão é ella esterilizada entre 65 a 68° durante 1 hora. Com esta emulsão esterilizada é que se começava o preparo dos cavalos, que deveriam fornecer o sôro anti-pestozo. Eram estes inoculados intravenozamente com 1, 2, 4, 8, 12 e 16cc dessa emulsão, variando o prazo, em geral de 20 a 30 dias, entre uma e outra das primeiras inoculações, e de um a 2 mezes nas ultimas, conforme a reação que apresentava o animal. Este só é novamente inoculado depois de ter readquirido seu pezo primitivo. Inoculados os 16cc, isto é, toda a cultura desenvolvida em uma garrafa, passava-se a fazer a inoculação de culturas vivas, utilizando-se ainda esse mesmo bacilo pouco virulento. Inoculados os 16 cc de emulsão, destes bacilos eram injetados então germens muito virulentos. Nesta serie, porém, principiava-se pela inoculação de 4cc de emulsão, seguidas das de 8, 12 e 16cc. Só então é que o animal considerado suficientemente imunizado começava a fornecer sôro anti-pestozo.

Quer para os bacilos de pouca quer para os de muita virulencia, o modo de preparar a emulsão é sempre o mesmo que já foi descrito, assim como é conservada a já referida série de dózes de inoculação.

O bacilo da peste pouco virulento que empregamos é o mesmo que foi izolado pelo Dr. Oswaldo Cruz, em Santos, em 1900, quando alí foi comissionado pelo Governo Federal para determinar a especie morbida

procédé suivant — lequel fut longtemps employé à l'Institut — pour le traitement des chevaux qui devaient fournir le sérum anti-pestueux.

Une bouteille de Roux de 20 cm. de long sur 11 de large, contenant de la gélose simple — le milieu nutritif présentant donc une superficie de 220 cm.<sup>2</sup> — est ensemencé avec 1 ou 2 cc. d'une culture en bouillon d'un bacille de la peste peu virulent. Conservée à la temperature ambiante, au bout de 48 heures, la culture s'est développée en surface; après en avoir vérifié la pureté, on l'émulsionne avec 16 cc. d'eau physiologique à 0,75 %<sub>o</sub>. On recueille l'émulsion et on la stérilise pendant une heure entre 65 et 68°. C'est avec cette émulsion stérilisée que l'on commençait le traitement des chevaux qui devaient fournir le sérum antipesteux: On leur faisait des inoculations intraveineuses, en laissant généralement un intervalle de 20 à 30 jours entre chacune des premières inoculations et d'un à deux mois, pour les dernières, selon la réaction observée chez l'animal, qui n'était inoculé de nouveau, qu'après avoir acquis son poids primitif. Les 16 cc. une fois inoculés (c'est à dire: toute la culture développée dans une bouteille) on passait à faire l'inoculation de bacilles vivants, en employant toujours ce même bacille peu virulent. On inoculait les 16, cc. d'émulsion de ces bacilles, après quoi l'on injectait alors des germes très virulents. Mais dans cette série, on commençait par l'inoculation de 4 cc. de l'émulsion, en passant ensuite à 8, 12 et 16 cc. Ce n'est qu'alors que l'animal était considéré comme suffisamment immunisé et commençait à fournir du sérum antipesteux.

Qu'il s'agisse de bacilles peu virulents ou très virulents, la façon de préparer l'émulsion est toujours la même qui vient d'être exposée, bien comme la série de doses à inoculer.

Le bacille de la peste peu virulent, que nous employons est le même qui a été isolé, en 1900 par le Dr. Oswaldo Cruz, à Santos, quand il y fut envoyé en commission par le Gouvernement Fédéral pour déterminer l'espece morbide qui y régnait alors. On l'inocule tous les six mois dans l'organisme d'un co-



reinante. E' o bacilo passado de 6 em 6 mezes pelo organismo da cobaia, sendo necessario fazer a inoculação intraperitoneal de 2 cc. de uma cultura em caldo, de 48 horas, para se obter a morte do animal.

Os bacilos da peste de forte virulencia são inoculados mensalmente em ratos e cobaias. As nossas culturas da peste são conservadas em gelye simples e na temperatura ambiente.

Pela descrição do processo que acabo de fazer, é facil compreender que o tempo necessario para se obter um cavalo solidamente imunizado, de modo a poder fornecer um bom sôro, é muito longo, não só pelo grande numero de inoculações necessarias, como tambem pelos accidentes que aparecem no decurso do processo imunizante, e que obrigam a distanciar, umas das outras, as inoculações.

Foi por isso modificada a tecnica até então seguida, sendo completamente abolidas as inoculações de culturas mortas.

Eis como procedemos agora: o titulo da emulsão empregada continúa o mesmo  $\frac{1}{16}$ , assim tambem a série de dózes de inoculação, variando porém o numero dellas. O animal recebe desde o inicio da imunização inoculações de culturas vivas do bacilo de fraca virulencia, e somente as 3 primeiras dózes da série, isto é, 1, 2 e 4 cc. da emulsão. Passa-se imediatamente a fazer inoculações de culturas vivas dos bacilos de forte virulencia, com estes, então, procede-se á inoculação de toda a série. Quer com um quer com outro bacilo, as inoculações são sempre intravenozas.

Confrontando-se os 2 metodos, vê-se que antigamente era necessario proceder-se a 16 inoculações (6 de cultura morta, 6 de cultura viva de fraca virulencia, e 4 de cultura viva de forte virulencia) para que o cavalo fosse considerado pronto a fornecer o sôro anti-pestozo, ao passo que hoje ha mister tão somente de 9 inoculações (3 de cultura viva, fraca virulencia e 6 de cultura viva de forte virulencia) para se obter identico rezultado.

O exame dos 2 seguintes quadros mostra claramente o tempo que se ganha com o

baye. Pour obtenir la mort de l'animal, il est nécessaire de faire l'inoculation intrapéritoneale de 2 cc. d'une culture en bouillon, de 48 heures.

Les bacilles de la peste de grande virulence, sont inoculés tous les mois à des rats et des cobayes. Nos cultures de peste sont conservées dans la gélose simple et à la température du laboratoire.

Par la discription que je viens de faire du procédé, on comprendra facilement qu'il faille un assez long temps pour obtenir un cheval solidement immunisé et qui puisse fournir un bon sérum. Cela est dû non seulement au grand nombre d'inoculations nécessaires, mais encore aux accidents qui surviennent au cours de l'opération immunisante et qui obligent à espacer les inoculations. Nous avons donc modifié les procédés employés jusqu'alors, en supprimant les inoculations de cultures mortes.

Voici comme nous procédons aujourd'hui:

Le titre de l'émulsion reste toujours le même,  $\frac{1}{16}$ , ainsi que la série de doses à inoculer; ce qui varie, c'est le nombre d'inoculations. Dès le debut de l'immunisation, l'animal reçoit des inoculations de cultures vivantes du bacille d'une faible virulence, et seulement les 3 premières doses, c'est à dire 1, 2 et 4 cc. de l'émulsion. On passe aussitôt à faire des inoculations de cultures vivantes des bacilles de forte virulence. Ceux-ci servent à l'inoculation de toute la série. Qu'il s'agisse de l'un ou de l'autre des bacilles, les inoculations sont toujours intraveineuses.

En comparant les deux méthodes, on voit qu'il fallait autrefois procéder à 16 inoculations (6 de culture morte, 6 de culture vivante, de faible virulence et 4 de culture vivante, de forte virulence) pour que le cheval fût considéré prêt à fournir le sérum antipesteux, tandis qu'aujourd'hui il n'en faut plus que 9 (3 de culture vivante, de faible virulence et 6 de culture vivante, de forte virulence) pour arriver au même résultat.

L'examen des deux tableaux suivants montre clairement le temps gagné par l'emploi de notre méthode actuelle d'immunisation:



emprego do nosso atual metodo de imunização:

## I

PESTE MORTA Germen de fraca virulencia					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

PESTE VIVA Germen de fraca virulencia					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

PESTE VIVA Germen de forte virulencia			
4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

## II

PESTE VIVA Germen de fraca virulencia			
4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

PESTE VIVA Germen de forte virulencia					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

Ha quatro anos que é este metodo uzado no preparo dos cavalos fornecedores de sôro anti-pestozo no nosso Instituto, e até hoje só temos a registrar um unico cazo de perda do animal. Os cavalos suportam-no perfeitamente, desde que haja prudencia e cuidado com as inoculações. Infelizmente, nem sempre se pode seguir com regularidade o processo imunizante, inoculando-se umas apoz outras, as dózes estabelecidas na serie. Muitas vezes quando se procede á inoculação da dóze imediatamente superior á inoculada, os fenomenos que apresenta o animal são de tal ordem que manda a prudencia cessar a inoculação, ainda em quantidade menor que a já injetada, para evitar, talvez, a morte do animal.

## I

PESTE MORTE Germe de faible virulence					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

PESTE VIVANTE Germe de faible virulence					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

PESTE VIVANTE Germe de forte virulence			
4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

## II

PESTE VIVANTE Germe de faible virulence		
1 cc.	2 cc.	4 cc.

PESTE VIVANTE Germe de forte virulence					
1 cc.	2 cc.	4 cc.	8 cc.	12 cc.	16 cc.

Voilà quatre ans que cette méthode est employé à notre Institut pour préparer les chevaux destinés à fournir le sérum antipesteux, et jusqu'aujourd'hui nous avons à signaler un seul cas de mort parmi eux. Ils s'en trouvent parfaitement bien pourvu que les inoculations soient faites avec soin et prudence. On ne peut malheureusement employer avec régularité le procédé immunisant, en inoculant l'une après l'autre les doses déterminées dans la série. Et souvent, tandis que l'on procède à l'inoculation de la dose immédiatement supérieure à celle qui vient d'être inoculée, les phénomènes que présente l'animal sont tels que la prudence nous enjoint de cesser l'inoculation, même si la quantité inoculée est inférieure à la précédente, afin d'éviter la mort possible de l'animal.



São imediatas ou mediatas as reações que apresenta o cavalo depois da inoculação.

As imediatas são constituídas por dispnéa, mais ou menos intensa, tosse, contrações musculares, estado vertiginoso e suores.

A dispnéa é a mais frequente das reações, podendo variar em intensidade, não dependendo isto da quantidade de emulsão inoculada; pois que o mesmo animal pode apresentar intensa dispnéa com pequena dóze, e quasi nula com dózes mais elevadas. Não tem também influencia o gráu de imunização, visto que um animal que já suportou 16 cc de emulsão, póde apresentar uma dispnéa intensissima com dóze muito inferior a esta.

A tosse acompanha quasi sempre a dispnéa; vem por acessos que se sucedem uns aos outros.

As contrações musculares observam-se nos membros, principalmente nos posteriores. O animal contrae lentamente um dos membros, vendo-se em relevo os musculos contraidos, para depois distendel-o também vagarosamente. Estas contrações são alternadas, levantando o cavallo, ora um, ora outro membro posterior. Não é raro observar-se contrações fibrilares nos musculos das coxas e de outras rejões.

O estado vertiginoso é também muito comum: o animal cambaleia, tenta firmar-se d'um lado para imediatamente apoz firmar-se do outro. A's vezes este estado não vae alem disso; em outros cazos, porém, progride de modo que, si se fizer o animal andar, a marcha se torna difficil, não levantando bem os pés e arrastando a parte anterior dos cascos. Si é obrigado a correr, os membros enrijam, batendo uns nos outros durante a corrida, lançando-se o corpo ora para um, ora para o outro lado. Este estado pode adquirir tal intensidade que o animal cae, debatendo-se por levantar-se, o que só consegue com muito esforço.

A's vezes pouco depois da inoculação o animal fica de cabeça baixa, os membros afastados para melhor se conservar em equilibrio, os flancos batem fortemente, intervindo

Les réactions que présente le cheval après l'inoculation sont immédiates ou médiates.

Les immédiates sont les suivantes: dyspnée, plus ou moins forte, toux, contractions musculaires, état vertigineux, sueur.

La plus fréquente d'entre elles est la dyspnée, dont l'intensité peut varier, ce qui ne dépend pas de la quantité d'émulsion inoculée, car l'animal peut souffrir d'une dyspnée intense, avec une petite dose, ou d'une dyspnée presque nulle, avec des doses plus fortes. Le degré d'immunisation n'exerce pas non plus d'influence là-dessus, puisqu'un animal qui a déjà supporté 16 cc. d'émulsion peut être attaqué d'une dyspnée très violente, avec une dose bien inférieure á celle-là.

La toux accompagne presque toujours la dyspnée; elle vient par accès qui se succèdent sans interruption.

On observe les contractions musculaires dans les membres, surtout dans les membres postérieurs. L'animal contracte lentement un des membres — les muscles contractés se dessinent en relief — pour le détendre ensuite avec la même lenteur.

Ces contractions sont alternés; le cheval soulève tantôt l'un tantôt l'autre des membres postérieurs. Il n'est pas rare d'observer des contractions fibrillaires dans les muscles des cuisses et d'autres régions.

L'état vertigineux est aussi très commun: l'animal chancelle, cherche à s'affermir d'un côté pour s'appuyer de l'autre, aussitôt après. Quelquefois, les choses en restent là; mais en d'autres occasions cet état empire, de sorte que, si l'on oblige l'animal à avancer, la marche lui devient difficile: il ne lève pas les pattes et laisse trainer la partie antérieure des sabots. Si on le fait courir, ses membres durcissent; ils se cognent l'un contre l'autre pendant la course, avec des rejets du corps à droite et à gauche. Cet état peut arriver à un tel point d'intensité que l'animal tombe, en se débattant pour tâcher de se relever, ce qu'il n'arrive à faire qu'au prix de grands efforts.

Parfois, peu après, l'animal conserve la tête baissée; il écarte les pattes pour mieux garder l'équilibre, ses flancs halètent avec force et le diaphragme intervient puissamment



do poderosamente para a respiração o diafragma e apresentam então uma forte crise de suor. Vêm-se aparecer entre os pelos as gotas de suor que se vão reunindo e caindo pelas partes em declive. Em pouco tempo o suor escorre por todo o corpo do animal e o chão, em baixo, mostra grande quantidade de liquido que d'elle cahiu.

As reacções mediatas são constituídas pela elevação de temperatura, perda de pezo, tumefacção do escroto, e tardiamente as artrites e queda de pelos.

A elevação de temperatura dá-se, em geral, pouco depois da inoculação, podendo a hipertermia atingir 1 a 2.<sup>o</sup> acima da normal. Passadas 24 horas, porém, comumente é observada a queda, sinão á normal, ao menos ás suas proximidades.

Raro é o cavalo que, 24 horas depois da inoculação não tenha perdido pezo. Geralmente a diminuição é pequena, de 6 a 10 kilos, porém, já observámos, que alguns apresentavam uma diminuição de 20 a 30 quilos.

A tumefacção do escroto é reacção não muito rara. Aumentado de volume, a bolsa se torna distendida, tensa e a pele luzidia. Os testiculos aumentam de volume. Na vaginal não se revela a presença de liquido. Comumente, 48 horas depois tudo desaparece voltando o escroto ao tamanho natural.

As artrites manifestam-se, em geral tardiamente. Localizam-se, geralmente, nas articulações dos membros, podendo porém, aparecer em todas as outras articulações. Já observámos um cavalo que apresentava artrites, nas articulações da coluna vertebral, mas em outro as artrites apareceram não só nesse ponto como nas articulações de todos os membros. Nestes cazos os animaes se movem muito lentamente, sendo muito difficil voltarem-se, só o podendo fazer quando ha espaço amplo para uma longa curva.

As artrites são no começo acompanhadas de elevação de temperatura, que se prolonga durante alguns dias. Concomitantemente ha grande perda de pezo, pois que o

pour la respiration. Il a alors un fort accès de transpiration. On voit poindre à l'extrémité des poils les gouttes de sueur qui se rejoignent et coulent tout le long du corps. En peu de temps, l'animal est en nage et l'on peut voir sous lui le sol complètement trempé.

Les réactions médiates se font remarquer par l'élévation de la température, la diminution du poids, tuméfaction du scrotum, et, plus tard, l'arthrite et la perte des poils.

La température s'élève, en général, peu après l'inoculation; elle peut arriver à 1 ou 2<sup>o</sup> au dessus de la normale, mais elle tombe communément au bout de vingt-quatre heures, sinon jus'qu'à la normale, au moins jusque dans son voisinage.

Il est rare que, vingt-quatre heures après l'inoculation, un cheval n'ait pas perdu de son poids.

La perte n'est généralement pas très grande: de 6 à 10 kilos. Nous en avons cependant observé quelques uns qui accusaient une diminution de 20 à 30 kilos.

La tuméfaction du scrotum est une réaction assez fréquente. L'accroissement de volume produit une tension de la bourse, dont la peau devient luisante et tirée. Les testicules augmentent. L'examen ne rèleve pas la présence de liquide. Tout disparaît d'ordinaire au bout de 48 heures, et le scrotum revient à ses proportions normales.

Les arthrites ne se manifestent d'habitude que plus tard. Elles se localisent le plus souvent dans les articulations des membres, mais elles peuvent pourtant apparaître dans toutes les autres. Nous avons déjà observé un cheval qui ne présentait d'arthrites qu'aux articulations de la colonne vertébrale; mais chez un autre, les arthrites étaient apparues non seulement au même endroit mais encore aux articulations de tous les membres. En ce dernier cas, les animaux se meuvent très lentement; ils ne peuvent se retourner qu'avec une grande difficulté, et seulement lorsque l'espace est assez large pour qu'ils puissent faire une grande courbe. La perte des poils accompagne souvent les arthrites.

Celles-ci provoquent, au débout, une élévation de température qui se prolongue pen-



animal pouco come. Conserva-se quasi sempre imovel, de cabeça baixa recuzando a alimentação. Desde, porém, que a temperatura cae e que o processo articular inflamatório começa a regressar, volta o apetite e o estado do animal melhora, voltando elle rapidamente ao seu primitivo estado.

Muitas vezes as artrites são acompanhadas da queda dos pelos.

Os fenomenos que aparecem logo apóz a inoculação cedem em geral muito rapidamente, e a não ser que assumam proporções assustadoras, nada se deve fazer para combatel-os. Quando, porém, a dispnéa for muito intensa e o estado vertijinozo que em geral a acompanha, fôr grande, deve-se fazer o animal caminhar, e, até si possivel for, correr, com o que tudo cederá. Si apezar disso, o estado do cavallo não melhorar, serão lançados baldes de agua fria sobre a cabeça do animal; si com isso ainda não fôr obtido o resultado desejado e continuarem os sintomas alarmantes e que o animal venha a cair, ficando prostrado, a fricção de todo o torax com escovas grossas, derramando-se alcool sobre as partes fricionadas fará em breve reanimar o animal, cujo estado melhorará pouco a pouco, até o desaparecimento completo de todos esses sintomas.

As manifestações tardias não reclamam intervenção alguma, cessando com o repouzo e o tempo. Dellas só tem importancia as artrites. Deve-se tomar cuidado extraordinario, com a nova inoculação que se tiver de fazer no animal que as tenha apresentado. Só deverá ser feita depois que o mesmo estiver completamente restabelecido, tendo readquirido o pezo primitivo. A dóze de inoculação não deve ser aumentada, e sim egual á que já tiver sido injetada. Assim procedendo, muito provavelmente, nada sofrerá com a inoculação.

No preparo do sôro anti-pestozo é de grande importancia o sequestro do animal durante o tempo em que perdura na circulação o germen da peste inoculado. E isto se torna principalmente questão capital nos paizes tropicaes, como o nosso, em que ha grande numero de insetos sugadores.

dant plusieurs jours. Le poids de l'animal diminue aussi sensiblement, puisqu'il mange peu. Il reste presque toujours immobile, la tête basse, refusant toute nourriture. Mais, dès que la température s'abaisse et que le processus articulaire inflammatoire commence à diminuer l'appétit revient, l'état de l'animal s'améliore et il recouvre bientôt sa vigueur première.

Les phénomènes qu'on observe aussitôt après l'inoculation, disparaissent en général très vite, et sauf les cas où ils prennent un caractère sérieux, on ne doit rien faire pour les combattre. Si cependant la dyspnée est très intense et l'état vertigineux, qui l'accompagne la plupart du temps, est vif, il faut faire marcher l'animal; le faire même courir, si possible, et les symptômes cederont. Si malgré tout, l'état de l'animal ne se modifie pas, on lui jettera de l'eau sur la tête; si ce traitement ne produit pas d'effet, que les symptômes alarmants continuent à se manifester et que l'animal vienne à tomber et reste couché sur le sol, on le ranimera en lui frictionnant le thorax avec de grosses brosses et en versant de l'alcool sur les parties frictionnées. Il se remettra peu à peu, jusqu'à la disparition totale de tous ces symptômes.

Les manifestations qui ne se produisent qu'au bout d'un certain temps n'exigent aucune intervention. Le temps et le repos se chargent de les faire cesser. Seules les arthrites ont, alors une assez grande importance, et il faut prendre bien garde à la nouvelle inoculation faite à l'animal qui en est attaqué. Elle ne devra être faite qu'après son complet rétablissement, lorsqu'il aura acquis son poids primitif. La dose à inoculer ne devra pas être augmentée; elle sera identique à la précédente. En agissant ainsi, l'animal n'aura très probablement rien à craindre de l'inoculation.

Dans la préparation du sérum antipesteux, il convient — et c'est là un point capital — d'isoler l'animal tous le temps que le germe de la peste inoculé circule en son corps. C'est là une chose de très grande importance, surtout dans les pays tropicaux, come le notre, où il existe un grand nombre d'insectes suceurs.



Com o fim de determinar o prazo em que devia permanecer isolado o animal apoz a inoculação, fizemos, auxiliado pelo nosso companheiro de trabalho Antonio Cardoso Fontes, uma serie de experiencias com o fim de verificar durante quanto tempo se mantinham vivos no sangue do cavallo os bacilos da peste inoculados.

Nas nossas experiencias uzámos sempre da seguinte tecnica: inoculado o cavallo eram retirados, ao fim do tempo desejado, da veia jugular oposta áquella em que fora feita a inoculação, certa quantidade de sangue que era immediatamente semeada em caldo. O sangue era colhido directamente da veia, sendo esta puncionada pela agulha, montada em seringa comum, atravessando-se todas as camadas superpostas á veia. A rejião puncionada era previamente raspada á navalha, desinfetada com solução de sublimado a  $\frac{1}{1000}$ , lavada em seguida com alcool absoluto e depois com eter.

Com estes cuidados, ou obtinhamos constantemente culturas puras, ou o meio se conservava esteril. Recolhamos, geralmente, 5 cc. de sangue que eram semeiados em 100 cc. de caldo simples, mas nas colheitas feitas 24 horas depois da inoculação eram recolhidos 20 cc. de sangue os quais eram semeados em 500 cc. de caldo.

Estes estudos foram feitos em cavalos que já estavam imunizados ou em via de imunização.

Os seguintes quadros dão em minucia os resultados obtidos:

Afin de déterminer le temps pendant lequel l'animal doit être isolé, après l'inoculation, nous avons fait, avec l'aide de notre confrère Antonio Cardoso Fontes, une série d'experiences en vue de vérifier pendant combien de temps les bacilles de la peste inoculés se conservent vivants dans le sang du cheval. Dans nos expériences, nous avons toujours procédé comme suit: Une fois le cheval inoculé et au bout du temps nécessaire, nous prelevions de la veine jugulaire opposée à celle où l'inoculation avait été faite, une certaine quantité de sang qui était aussitôtensemencé dans du bouillon. Le sang était directement recueilli de la veine que l'on ponctionnait au moyen d'une aiguille montée sur une seringue ordinaire, qui traversait toutes les couches de tissus situés au dessus de la veine. La région ponctionnée était d'abord rasée, puis désinfectée avec une solution de sublimé à  $\frac{1}{1000}$  et lavée avec de l'acool pur et, ensuite, de l'éther.

Avec ces précautions, nous obtenions régulièrement des cultures pures ou bien le milieu se conservait stérile. Nous recueillions en général 5 cc. de sang que nous semions ensuite dans 100 cc. de bouillon simple; mais si le sang était prélevé dans les 24 heures qui suivaient l'opération, nous en obtenions 20 cc., que nous semions dans 500 cc. de bouillon.

Ces expériences ont été faites sur des chevaux qui étaient déjà immunisés ou en voie d'immunisation.

Les tableaux suivants donnent une idée détaillée des résultats obtenus:



## Cheval 1

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
1 cc	f	5 cc	1	100 cc	...	+
2 cc	f	5 cc	5	100 cc	...	+
8 cc	f	5 cc	6	100 cc	...	+
»	»	»	7	»	...	+
»	»	20 cc	27	500 cc	...	-
12 cc	f	5 cc	14	100 cc	...	+
»	»	»	15	»	...	+
»	»	»	16	»	...	+
16 cc	f	5 cc	22	100 cc	...	+
»	»	»	24	»	...	+
»	»	»	26	»	...	+
4 cc	F	5 cc	8	100 cc	39 <sup>o</sup> .7	+
»	»	»	10	»	39 <sup>o</sup> .9	+
»	»	»	12	»	39 <sup>o</sup> .9	+
5 cc	F	5 cc	17	100 cc	39 <sup>o</sup> .8	+
»	»	»	19	»	39 <sup>o</sup> .4	+
»	»	»	21	»	39 <sup>o</sup> .6	+
» !	»	20 cc	24	500 cc	39 <sup>o</sup> .6	+
8 cc	F	5 cc	17	100 cc	37 <sup>o</sup> .8	+
»	»	»	19	»	37 <sup>o</sup> .4	+
»	»	20 cc	21	500 cc	37 <sup>o</sup> .8	-
»	»	»	24	»	38 <sup>o</sup> .2	-
8 cc	F	5 cc	20	100 cc	39 <sup>o</sup> .5	-
»	»	»	22	»	38 <sup>o</sup> .5	-
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>o</sup> .8	+

## Legende :

F - germes de forte virulence.    + il y a eu de culture.    S - sang.  
 f - germes de faible virulence.    - il n'y a pas eu de culture.    H - heures.

## Cheval 2

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
16 cc	F	20 cc	24	500 cc	38.5	+



## Cheval 5

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
12 cc	F	5 cc	18	100 cc	. . .	+
»	»	»	21	»	. . .	+
»	»	20 cc	24	500 cc	. . .	—
12 cc	F	5 cc	20	100 cc	40 <sup>0</sup> .0	+
»	»	»	22	»	40 <sup>0</sup> .2	+
»	»	20 cc	24	500 cc	40 <sup>0</sup> .0	+
»	»	»	26	»	40 <sup>0</sup> .0	+
16 cc	F	5 cc	20	100 cc	38 <sup>0</sup> .2	+
»	»	»	22	»	38 <sup>0</sup> .2	+
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>0</sup> .4	+
16 cc	F	5 cc	17	100 cc	39 <sup>0</sup> .2	+
»	»	»	19	»	38 <sup>0</sup> .4	+
»	»	»	21	»	38 <sup>0</sup> .2	—
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>0</sup> .5	+

## Cheval 8

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Resultat	Temp.	Resultat
14 cc	F	5 cc	17	100 cc	39 <sup>0</sup> .6	+
»	»	»	19	»	38 <sup>0</sup> .6	+
»	»	»	21	»	38 <sup>0</sup> .0	+
»	»	20 cc	24	500 cc	39 <sup>0</sup> .2	—
16 cc	F	5 cc	15	100 cc	39 <sup>0</sup> .4	—
»	»	»	17	»	38 <sup>0</sup> .9	—
»	»	»	19	»	39 <sup>0</sup> .2	—
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>0</sup> .4	—

## Cheval 9

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
16 cc	F	5 cc	14	100 cc	. . .	—
»	»	»	16	»	. . .	—
»	»	»	18	»	. . .	—
»	»	»	20	»	. . .	—
8 cc	F	5 cc	7	100 cc	40 <sup>0</sup> .2	+
»	»	»	10	»	40 <sup>0</sup> .0	—
10 cc	F	5 cc	7	100 cc	40 <sup>0</sup> .2	+
»	»	»	8	»	40 <sup>0</sup> .0	+
»	»	»	9	»	39 <sup>0</sup> .9	+
»	»	20 cc	24	500 cc	40 <sup>0</sup> .6	+
16 cc	F	5 cc	18	100 cc	38 <sup>0</sup> .2	—
»	»	»	20	»	38 <sup>0</sup> .0	—
»	»	20 cc	22	500 cc	39 <sup>0</sup> .0	—



### Cheval 11

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
16 cc	f	5 cc	20	100 cc	...	—
»	»	»	22	»	...	—
»	»	20 cc	24	500 cc	...	—
16 cc	f	5 cc	9	100 cc	...	+
»	»	»	11	»	...	+
»	»	»	13	»	...	+

### Cheval 12

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
4 cc	f	5 cc	1	100 cc	...	+
»	»	»	2	»	...	+
12 cc	f	5 cc	3	100 cc	...	+
»	»	»	4	»	...	+
16 cc	f	5 cc	10	100 cc	...	+
»	»	»	11	»	...	+
»	»	»	12	»	...	+
4 cc	F	5 cc	10	100 cc	...	+
»	»	»	12	»	...	+
»	»	»	14	»	...	+
»	»	»	16	»	...	+
8 cc	F	5 cc	15	100 cc	38 <sup>0.5</sup>	—
»	»	»	17	»	38 <sup>0.0</sup>	—
»	»	»	19	»	38 <sup>0.0</sup>	—
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>0.1</sup>	—
12 cc	F	5 cc	17	100 cc	37 <sup>0.6</sup>	—
»	»	»	19	»	37 <sup>0.6</sup>	—
»	»	20 cc	24	500 cc	37 <sup>0.6</sup>	—
12 cc	F	5 cc	18	100 cc	39 <sup>0.2</sup>	+
»	»	»	20	»	39 <sup>0.0</sup>	+
»	»	20 cc	24	500 cc	39 <sup>0.2</sup>	+
»	»	»	48	»	40 <sup>0.2</sup>	+



## Cheval 14

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. après	Bouillon	Temp.	Resultat
1 cc	f	5 cc	15	100 cc	...	+
»	»	»	30	»	...	+
»	»	»	45	»	...	+
»	»	»	1	»	...	+
2 cc	f	5 cc	2	100 cc	...	+
»	»	»	4	»	...	+
»	»	»	6	»	...	+
»	»	»	8	»	...	+
4 cc	f	5 cc	8	100 cc	...	+
»	»	»	10	»	...	+
»	»	»	12	»	...	-
»	»	»	14	»	...	-
8 cc	f	5 cc	10	100 cc	...	+
»	»	»	12	»	...	+
»	»	»	14	»	...	-
»	»	»	16	»	...	-
10 cc	f	5 cc	15	100 cc	40 <sup>o</sup> .2	+
»	»	»	17	»	40 <sup>o</sup> .2	+
»	»	»	19	»	40 <sup>o</sup> .2	-
»	»	»	21	»	40 <sup>o</sup> .6	-

## Cheval 14

Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récueilli	H. apr�s	Bouillon	Temp.	Resultat
12 cc	f	5 cc	17	100 cc	39 <sup>o</sup> .8	-
»	»	»	19	»	39 <sup>o</sup> .0	-
»	»	»	21	»	39 <sup>o</sup> .6	-
»	»	20 cc	24	500 cc	40 <sup>o</sup> .0	-
16 cc	f	5 cc	18	100 cc	39 <sup>o</sup> .9	-
»	»	»	20	»	39 <sup>o</sup> .4	-
»	»	»	22	»	40 <sup>o</sup> .2	-
»	»	20 cc	24	500 cc	40 <sup>o</sup> .2	+
4cc	F	5 cc	6	100 cc	40 <sup>o</sup> .0	-
»	»	»	8	»	39 <sup>o</sup> .0	-
»	»	»	10	»	38 <sup>o</sup> .4	-
»	»	20 cc	24	500 cc	37 <sup>o</sup> .8	-
4 cc	F	5 cc	5	100 cc	40 <sup>o</sup> .2	+
»	»	»	7	»	39 <sup>o</sup> .6	+
»	»	»	9	»	39 <sup>o</sup> .2	+
»	»	20 cc	24	500 cc	38 <sup>o</sup> .5	-
8 cc	F	5 cc	16	100 cc	39 <sup>o</sup> .6	+
»	»	»	18	»	38 <sup>o</sup> .8	+
»	»	20 cc	20	500 cc	40 <sup>o</sup> .0	+



## Resultat desensemencements effectués 24 hs. après l'inoculation

Chéval	Emulsion $\frac{1}{16}$	Virulence	S. récolti	Bouillon	Temp.	Résultat	RESUMÉ
14	4 cc	F	20 cc	500 cc	37°8	—	<i>Jusqu'à 10 cc</i>
14	»	»	»	»	38°5	—	T. au d. normale { cult. . . . 3 steril. . . . 0
1	5 cc	F	20 cc	500 cc	39°6	+	
1	8 cc	»	»	»	38°2	—	T. normale . . . { cult. . . . 0 steril. . . . 4
1	»	»	»	»	38°8	+	
1	»	f	5 cc	100 cc	. . .	—	
12	8 cc	F	5 cc	100 cc	38°1	—	<i>De 10 à 16 cc</i>
9	10 cc	F	20 cc	500 cc	40°6	+	T. au d. normale { cult. . . . 3 steril. . . . 0
5	12 cc	F	5 cc	100 cc	. . .	—	
5	»	»	»	»	40°0	+	T. normale . . . { cult. . . . 0 steril. . . . 1
12	12 cc	F	20 cc	500 cc	37°6	—	
12	»	»	»	»	39°2	+	
14	12 cc	f	20 cc	500 cc	40°0	—	<i>De 16 cc</i>
8	14 cc	F	20 cc	500 cc	36°2	—	T. au d. normale { cult. . . . 1 steril. . . . 0
2	16 cc	F	20 cc	500 cc	38°5	+	
5	16 cc	F	20 cc	500 cc	38°4	+	T. normale . . . { cult. . . . 3 steril. . . . 1
5	»	»	»	»	38°5	+	
8	16 cc	F	20 cc	500 cc	38°4	—	
11	16 cc	f	20 cc	500 cc	. . .	—	
14	16 cc	f	20 cc	500 cc	40°2	+	

### Legende:

F - germes de forte virulence.      — il n'y a pas eu de culture.      S - sang.  
 f - germes de faible virulence.      + il y a eu de culture.

O caldo que servia para a sementeira era contido em matrizes de fundo chato, de modo que o sangue semeado se depositava em camada delgada sobre o fundo. Quando havia desenvolvimento de cultura, as colonias apresentavam-se de dois modos: ou apareciam como pontos brancos, em fundo vermelho, constituído pelo sangue, e que iam aumentando pouco a pouco, tendo em torno uma zona enegrecida, ou ficavam suspensas no meio da massa líquida. Nestes condições, as colonias ficavam suspensas, como pontos brancos arredondados.

As colonias eram sempre transplantadas para gelose. Dellas eram feitos dois preparadões, corando-se um pela tionina e outro pelo metodo de Gram. Com a cultura obtida eram inoculados ratos e cobaias. Eram assim identificados os germes obtidos nas culturas.

Os bacilos obtidos nas culturas conservavam a mesma virulencia que os inoculados.

Dos nossos estudos tiramos as seguintes conclusões:

Le bouillon qui servait à l'ensemencement était contenu dans des fioles à fond plat, de sorte que le sang semé se déposait au fond, en couche mince. Lorsqu'il y avait un développement de culture, les colonies se présentaient sous deux aspects: tantôt elles apparaissaient comme un point blanc sur le fond rouge du sang; ce point augmentait peu à peu avec, tout autour, une région noirâtre, tantôt elles restaient suspendues au sein de la masse liquide. En se dernier cas, elles apparaissaient comme des points blancs arrondis.

Les colonies étaient toujours repiquées dans de la gélose. On en faisait deux préparations, en en colorant une avec de la thionine et l'autre par la méthode de Gram. La culture obtenue servait à inoculer des rats et des cobayes. On identifiait ainsi les germes obtenus dans les cultures.

Les bacilles obtenus dans les cultures conservaient la même virulencia que les bacilles inoculés.



Em relação á permanencia do bacilo da peste no sangue do cavalo inoculado é indifferente o fator dóze, pois que, muitas vezes, apesar da inoculação de pequena quantidade os germens perzistem vivos durante muito tempo, emquanto que, apoz a inoculação de dózes maiores dezaparecem em prazo relativamente curto.

A persistencia durante 24 horas é muito comum.

A temperatura do animal não dá indicação exata da existencia ou não de bacilos da peste no sangue.

Animais cuja temperatura era normal 24 horas depois da inoculação, ainda apresentavam em 20 cc. de sangue germens cultivaveis.

Animais cuja temperatura ainda era elevada 24 horas depois da inoculação, não mais apresentavam em 20 cc. de sangue germens cultivaveis.

Na maioria das vezes, porém, desde que a temperatura esteja normal não ha mais germens cultivaveis.

E' pequeno o prazo de 24 horas para que seja retirado do izolamento em que se acha o cavalo que tiver sido inoculado com bacilos da peste.

Passadas 48 horas depois da inoculação, desde que a temperatura do cavalo seja normal, não ha mais bacilos da peste vivos no sangue do animal inoculado.

Nos études nous ont amenés aux conclusions suivantes:

Au point de vue de la permanence du bacille de la peste dans le sang du cheval inoculé, le facteur dose est indifférent, car, souvent, malgré l'inoculation d'une faible quantité, les germes restent longtemps en vie, au lieu que, après l'inoculation de doses plus fortes, ils disparaissaient dans un délai relativement court.

La persistance pendant 24 heures est très commune.

La température de l'animal ne révèle pas exactement s'il existe ou non des bacilles de la peste.

Des animaux dont la température était normale 24 heures après l'inoculation présentaient encore, dans 20cc. de sang, des germes cultivables.

Des animaux dont la température était encore haute 24 heures après l'inoculation ne présentaient plus, dans 20 cc. de sang de germes cultivables.

Toutefois, dans la plupart des cas, dès que la température était normale, il n'y avait plus de germes cultivables.

Le délai de 24 heures est court pour retirer de l'isolement un cheval qui aura été inoculé avec des bacilles de la peste.

48 heures après l'inoculation, dès que la température du cheval est normale, il n'y a plus de bacilles de la peste dans le sang de l'animal inoculé.