

Soro antidizenterico. Metodos de dozajem

PELO

Dr. Arthur Moses.

Ueber Dysenterieserum und seine Wertbestimmung

VON

Dr. Arthur Moses.

Datam de 1903 os primeiros ensaios de soroterapia antidizenterica, que com os estudos de ROSENTHAL, TODD, KRAUS e DOERR sobre a toxina do bacilo de SHIGA-KRUSE tomaram rumo diverso daquelle que lhes tinham imprimido os pioneiros deste capitulo.

Se, por um lado, não ha mais quem hesite em afirmar o efeito curativo do soro, são ainda questões debatidas no capitulo da imunidade dizenterica o processo de melhor produção de toxina, a tecnica para preparo do soro, o metodo de dozajem e a escolha do animal mais sensivel.

Ocupar-nos-emos no prezente trabalho dessas diferentes questões, salientando fatos colhidos na pratica do preparo do imunisoro. Cinco escantilhões de bacilo do tipo SHIGA, proveniente um do Instituto de Hijiene de Berlim, outro do Instituto Pasteur de Paris e trez por nós izolados

Die ersten Versuche einer Serotherapie bei der Dysenterie datieren von 1903 ; doch nahm sie in Folge der Studien von ROSENTHAL, TODD, KRAUS und DOERR über das Toxin des SHIGA-KRUSESchen Bazillus eine, von der durch die Pioniere gegebenen abweichende, Richtung.

Wenn auch auf der einen Seite Niemand zögert, die heilende Wirkung des Serums zuzugeben, so finden sich auf der anderen im Kapitel der Immunisierung bei der Dysenterie noch zahlreiche strittige Punkte, wie die beste Methode für die Gewinnung des Toxines, die Technik der Serumherstellung, die Art der Wertbestimmung und die Wahl der meist empfindlichen Tiere.

In der vorliegenden Arbeit werde ich mich mit diesen Fragen beschäftigen und die, von mir bei Herstellung eines Immunserums festgestellten, Tatsachen hervorheben. Bei meinen Arbeiten wurden fünf Stämme des SHIGAschen Typus verwandt, von denen einer aus dem hygienischen Institute in Berlin, ein anderer aus dem Ins-

no hospício de alienados serviram aos nossos trabalhos. M, M₁ e M₂ designarão respectivamente os tres ultimos germens.

Entre o caldo MARTIN pouco alcalino recomendado por TODD e ROSENTHAL, (1903, 1904) o caldo DEAN com quantidade dupla de carne e peptona e o caldo alcalinizado com 0,3 % de carbonato de sodio cristalizado, com ou sem adiconamento de 20 gramas de carbonato de calcio por litro, opinamos pelo ultimo pela regularidade com que obtinhamos toxina de valor quazi constante. Nem sempre pudemos verificar que corriam paralelas a atividade da toxina e a produção da pele no caldo de cultura; assim é que o escantilhão do Instituto Pasteur produzindo, embora, espessa pele no caldo DEAN, fornecia toxina mais ativa no caldo DOERR em que era quazi nula a formação de pele.

Cultura de trez semanas mantidas a 37° em caldo DOERR preparado com dupla quantidade de carne e peptona sempre nos forneceu toxina ativa.

Do bacilo M. obtivemos, passageiramente, a melhor toxina, matando com 0,01cc. coelhos de 1 kilo de pezo. Apoz pequeno numero de transplantações, atenuou-se notavelmente a propriedade toxigena de modo que a excluimos inteiramente da imunização.

Fraca toxina produziam os bacilos M₁ e M₂ necessitando 1 cc. para matar com regularidade coelhos do pezo mencionado.

De valor egual e constante era a toxina produzida pelo germen do Instituto Pasteur, que, embora antigo no laboratorio, tendo sofrido transplantações multipas matava coelhos quando inoculados com 0,05cc.

Todas as dozajens de toxina foram feitas em coelhos de 1 kilo inoculados na veia safena.

Facil se torna a inoculação nesta veia quando com algodão embebido em

titut Pasteur in Paris und die drei übrigen, von mir isolierten, aus der hiesigen Irrenanstalt stammten. Die letzten drei Stämme bezeichne ich mit M, M₁ und M₂.

Bei der Wahl zwischen der wenig alkalischen Bouillon MARTIN, wie sie von TODD und ROSENTHAL (1903, 1904) empfohlen wurde, der Bouillon nach DEAN mit doppelter Menge von Fleisch und der gewöhnlichen mit 0,3 % Natriumkarbonat alkalisch gemachten, mit oder ohne Zusatz von 20 Gramm Kalziumkarbonat per Liter, entschied ich zu Gunsten der letzteren, mit der ich regelmässig Toxin von nahezu gleichem Werte erhielt. Dass die Aktivität des letzteren der Membranbildung in der Kultur entspräche, konnte ich nicht immer konstatieren; so gab der Stamm aus dem Institut Pasteur, obgleich er im DEANSchen Medium eine dicke Haut bildete, doch in demjenigen von DOERR, bei äusserst geringer Membranbildung, ein wirksameres Toxin.

Die in letzterem mit der doppelten Menge von Fleisch und Pepton angesetzten und drei Wochen bei 37° gehaltenen Kulturen gaben mir immer ein wirksames Toxin.

Vom Bazillus M. erhielt ich während kurzer Zeit das beste Toxin, von welchem 0,01 ccm. Kaninchen von ein Kilo Gewicht töteten; doch nahm die Toxizität nach einer geringen Zahl von Uebertragungen so bedeutend ab, dass ich diesen Stamm bei der Immunisierung ganz ausschloss. Die Bazillen M₁ und M₂ lieferten ein schwaches Toxin, so dass 1 ccm. nötig waren, um Kaninchen desselben Gewichtes zu töten.

Der Stamm aus dem Institut Pasteur, obwohl schon lange im Laboratorium gehalten und vielfach übergeimpft, produzierte konstant ein gleichwertiges Toxin, welches die Kaninchen in der Dosis von 0,05 ccm. tötete. Die Dosierung des Toxines wurde immer an Kaninchen von 1 Kilo Gewicht durch Einspritzung in die Vena saphena erprobt. Man macht dieselbe ohne Schwierigkeit, wenn man nach

xilol se molha o ponto previamente epilado em que ella passa.

Ao contrario de DOPTER, (1903) SHIGA e KOLLE, HELLER e DE MESTRAL (1908) que recomendam para estudo da toxina dizenterica o camondongo, preferimos sempre o coelho como o fazem KRAUS (1906), DOERR (1906—1907) e SCHOTTELIUS (1908). A escolha do animal de experiencia foi motivada pela rezistencia, que opunham alguns camondongos á toxina.

Damos em seguida algumas dozajens de toxinas provenientes de escantilhões diversos em que se observa que camondongos havia que rezistiam a dozes de toxina sensivelmente mais altas que a reclamada para matar coelhos.

Escantilhão do Instituto Pasteur de Paris :

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de toxina	† em 1½ dia.
»	2.	0,25	»	† » 2 dias.
»	3.	0,1	»	{ Paralizia total em 1½ dia, † » 2 dias.
»	4.	0,05	»	† » 1½ dia.
»	5.	0,025	»	{ Paralizia em 3 dias. † em 4 dias.
»	6.	0,01	»	sobrevive.

Escantilhão M.

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de toxina	{ Paralizia e † em 3 dias.
»	2.	0,25	»	{ Paralizia e † em 2½ dias.
»	3.	0,1	»	† » 1½ dia.
»	4.	0,05	»	† » 1½ »
»	5.	0,01	»	† » 1½ »
»	6.	0,005	»	sobrevive.

Escantilhão do Instituto de hijiene de Berlim :

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de toxina	† em 1½ dia.
»	2.	0,25	»	† » 1 »
»	3.	0,1	»	† » 1 »
»	4.	0,05	»	† » 1 »
»	5.	0,025	»	sobrevive.

Entfernung der Haare die Haut über derselben mittelst eines in Xylol getränkten Wattebausches benetzt.

Im Gegensatz zu DOPTER (1903), SHIGA und KOLLE, HELLER und DE MESTRAL (1908), welche für das Studium des Dysenterietoxins die Maus empfehlen, ziehe ich mit KRAUS (1906), DOERR (1906-1907) und SCHOTTELIUS (1908) immer das Kaninchen vor. Die Wahl des Tieres wird durch die Resistenz begründet, welche manche Mäuse dem Toxine gegenüber zeigen.

Ich gebe hier einige Dosierungsversuche, welche mit Toxinen verschiedener Stämme angestellt wurden; man sieht daraus, wie manche Mäuse Toxindosen widerstanden, welche die zur Tötung von Kaninchen nötigen deutlich übertrafen.

Stamm aus dem Institut Pasteur in Paris.

Kaninchen	1.	0,5 ^{ccm}	Toxin	† nach 1½ Tagen
»	2.	0,25	»	† » 2 »
»	3.	0,1	»	{ nach 1½ Tagen all-gemeine Lähmung nach 2 Tagen
»	4.	0,05	»	† » 1½ »
»	5.	0,025	»	{ » 3 » all-gemeine Lähmung † nach 4 Tagen
»	6.	0,01	»	Ueberlebt.

Stamm M.

Kaninchen	1.	0,5 ^{ccm}	Toxin	{ Lähmung und Tod nach 3 Tagen.
»	2.	0,25	»	{ Lähmung und Tod nach 2½ Tagen.
»	3.	0,1	»	† » 1½ »
»	4.	0,05	»	† » 1½ »
»	5.	0,01	»	† » 1½ »
»	6.	0,005	»	Ueberlebt.

Stamm aus dem hygienischen Institute in Berlin.

Kaninchen	1.	0,5 ^{ccm}	Toxin	† nach 1½ Tagen.
»	2.	0,25	»	† » 1 Tag.
»	3.	0,1	»	† » 1 »
»	4.	0,05	»	† » 1 »
»	5.	0,025	»	Ueberlebt.

Escantilhão M₁ :

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de toxina	{ Paralia em 1½ dia
				† em 2½ dias.
»	2.	0,75	» »	sobrevive.

Escantilhão M₂ :

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de toxina	{ Paralia em 1½ dia
				† em 2 dias.
»	2.	0,75	» »	sobrevive.

Escantilhões do Instituto Pasteur :

Camondongo	1.	1,0 ^{cc}	de toxina	† em 4 dias.
»	2.	0,75	» »	† » 4 »
»	3.	0,5	» »	sobrevive.
»	4.	0,25	» »	»
»	5.	0,1	» »	»

Pelos numeros 39, 41, 42, 43 e 45 indicaremos os cavalos imunizados. Os cavalos 42 e 45 receberam inoculações intravenozas de emulsões de germens vivos e mortos cultivados durante 24 horas em agar; no cavalo 41 inoculámos por via subcutanea dozes crecentes de toxina partindo de 0,5cc até 500 cc. ; nos cavalos 39 e 43 inoculámos por via intravenoza emulsões de germens vivos e mortos, e por via subcutanea dozes crecentes de toxina.

Variações individuais não permitem em alguns animais continuar a imunização. Serve de exemplo o cavalo 42 que, devido a intensa reacção geral e forte perda de pezo, pouco adiantou a nossos estudos.

A reacção local foi intensa quer para inoculações de germens quer para as de toxina. Frequentemente observámos infiltrações contendo um liquido serozo esteril e fragmentos de tecido necrozado.

As toxinas provocaram perdas maiores de pezo que as culturas. Estas ultimas produziam quando inoculadas em alta doze (5 tubos de cultura em agar) reacção imediata mais intensa. Assistimos, por

Stamm M₁.

Kaninchen	1.	1,0 ^{ccm}	Toxin	{ nach 1½ Tagen
				Lähmung;
				† nach 2½ Tagen.
»	2.	0,75	»	Ueberlebt.

Stamm M₂.

Kaninchen	1.	1,0 ^{ccm}	Toxin	{ nach 1½ Tagen
				Lähmung;
				† nach 2 Tagen.
»	2.	0,75	»	Ueberlebt.

Stamm aus dem Institut Pasteur :

Maus	1.	1,0 ^{ccm}	Toxin	† nach vier Tagen.
»	2.	0,75	»	† » » »
»	3.	0,5	»	Ueberlebt.
»	4.	0,25	»	»
»	5.	0,1	»	»

Mit den Nummern 39, 41, 42, 43 und 45 bezeichne ich immunisierte Pferde. 42 und 45 erhielten intravenöse Einspritzungen von lebenden oder abgetöteten Bazillenemulsionen von 24stündigen Agarkulturen; 41 erhielt subcutan steigende Toxindosen von 0,5 bis 500 ccm. ; 39 und 43 erhielten intravenös Emulsionen von lebenden und toten Bazillen und subcutan steigende Toxinmengen.

Individuelle Eigenschaften verhindern bei einigen Tieren das Fortsetzen der Immunisierung, wie dies z. B. bei Pferd 42 der Fall war, welches sich in Folge intensiver Reaktion und starken Gewichtsverlustes für meine Studien wenig brauchbar zeigte.

Die lokale Reaktion war eine intensive, sei es, dass lebende Bazillen oder nur Toxine eingeführt wurden. Oft beobachtete ich Infiltrationen, welche in einer sterilen serösen Flüssigkeit nekrotische Gewebsfragmente enthielten.

Die Toxine bewirkten stärkere Gewichtsverluste, als die Kulturen, welche dagegen in hoher Dose (fünf Agarkulturen) eine stärkere unmittelbare Reaktion hervorriefen. Ich beobachtete manchmal nach der Einspritzung ein Hinstürzen des Pfer-

vezes, apoz a inoculação, á queda subitanea do cavalo, que se levantava em seguida ao prolongado atrito de fortes escovas molhadas com alcool na rejão espinhal.

Nos soros obtidos por tecnica diversa fizemos comparativamente o ensaio dos diversos processos de dozajem a que se tem recorrido: pesquisa de bacteriolizinas, aglutininas, opsoninas, anticorpos fixadores complemento, neutralização da toxina *in vitro* e efeito curativo.

SHIGA e KRUSE, julgando trabalhar com soro de propriedade bactericida dozavam pela bacteriolize *in vivo* e *in vitro* o soro que preparavam em cavalo.

Com os estudos sobre toxina ficou definitivamente abandonado este metodo de dozajem, porquanto o alto poder bacteriolitico nem sempre traduz forte ação curativa do soro.

O fenomeno de PFEIFFER estudado em cobaias foi negativo com qualquer dos soros empregados. Do resultado irregular rejistrado em outra serie de cobaias, em que tomámos por indice a morte do animal conforme recomenda LENTZ (1909) concluimos por abandonar inteiramente este metodo de dozajem.

Mais regular é a destruição do germen *in vitro*.

De cavalo normal obtinhamos o complemento e de cavalo imunizado o amboceptor necessarios aos trabalhos. Empregámos sempre a mesma quantidade de germens 1/2.500.000 duma alça de platina cuja capacidade é de 5mg. Em 2 cc. de solução fiziolojica dissociavamos o conteudo em bacilo dizenterico de 2 alças, procurando obter emulsão homojenea; tinhamos assim a diluição A.

Preparavamos a diluição B. juntando a 5 cc. de solução fiziolojica o conteudo em solução A de duas alças. A diluição C era obtida adicionando a 5 cc. de solução

des, welches sich später nach längeren Friktionen der Rückmarkgegend mit in Alkohol getränkten Bürsten wieder erhob.

Bei, durch verschiedene Technik erhaltenen, Serumproben machte ich vergleichsweise Versuche mit den verschiedenen gebrächlichen Dosierungsmethoden: Bestimmung der Bakteriolyse, Agglutinine, Opsonine, komplementablenkende Antikörper, Neutralisation des Toxines *in vitro* und Heilwirkungen.

SHIGA und KRUSE, welche mit baktericidem Serum zu arbeiten glaubten, dosierten das erzielte Pferdeserum durch Bakteriolyse *in vivo* und *in vitro*.

Nach den Studien über das Toxin wurde diese Dosierungsmethode definitiv verlassen, da ein hoher bakteriolytischer Wert nicht immer einer starken Heilwirkung des Serums entspricht.

Der PFEIFFERSche Versuch gab beim Meerschweinchen ein negatives Resultat, welche Serumprobe auch verwendet wurde. In Folge der unregelmässigen Resultate bei einer anderen Reihe von Meerschweinchen, in welcher ich nach der Empfehlung von LENTZ (1909) den Tod des Tieres zum Massstab nahm, entschloss ich mich, diese Dosierungsmethode vollständig zu verlassen.

Die Abtötung der Bazillen *in vitro* giebt ein regelmässigeres Resultat.

Von einem normalen Pferde gewann ich das Komplement und von einem immunisierten den Amboceptor, deren ich für meine Arbeiten bedurfte. Ich verwandte stets dieselbe Bazillenzahl, den 2500000ten Teil einer Platinöse mit einer Kapazität von 5 mg. Indem ich zwei Oesen Dysenteriebazillen in 2 ccm. physiologischer Kochsalzlösung verteilte, bis eine homogene Emulsion entstand, erhielt ich die Verdünnung A.

Die Verdünnung B stellte ich her, indem ich zu 5 ccm. physiologischer Lösung zwei Oesen der Lösung A zusetzte. Lösung C erhielt ich, indem ich zwei Oesen der Lösung B mit 5 ccm. physiologischer Lösung mischte. Von dieser Lösung C

fisiologica o conteudo em diluição B de duas alças. Cada 0,1 da diluição C representa 1/2.500.000 de alça. Em tubos de ensaio arrolhados com algodão e esterilizados adicionámos 0,1 de soro normal de cavalo, quantidades decrescentes de imunisoro inativado e 0,1 da diluição C e com uma mixtura de caldo peptonado e solução fisiologica em partes eguais, equalavamos o conteudo dos tubos. Apoz forte agitação eram os tubos colocados durante 3 horas na estufa regulada a 37°.

Findo este prazo, o conteudo dos tubos era semeado por suspensão em agar fundido com que faziamos placas, que ficavam na estufa 24 horas.

Faziamos na mesma ocasião uma serie de placas em que verificavamos as bacteriolizinas do soro normal de cavalo, a ação do imunisoro inativado sobre o bacilo dizenterico, a quantidade de germens semeados em cada placa e a esterilidade dos soros.

Contavamos as colonias diretamente, quando em pequeno numero e pelo metodo de NEISSER, quando a germinação era copioza.

O resultado desses ensaios pode avaliar-se pelos quadros seguintes :

Soro inativado do cavalo 45	Soro normal de cavalo	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
0,1 ^{cc}	0,3 ^{cc}	1/2.500.000	3.600
0,05	»	de alça	2.400
0,01	»	de uma cultura	630
0,005	»	de 24 horas	690
0,0025	»	em agar	580
0,001	»		520
0,0005	»		720
0,0001	»		800
—	»	»	3.559
0,1	—	»	3.758
—	—	»	3.750
0,1	—	—	0
—	0,3	—	0

Testemunhas

entspricht 0,1 ccm. dem 2500000ten Teil einer Oese. In sterilen und mit Watte verschlossenen Probirröhrchen setzte ich zu 0,1 ccm. normalen Pferdeserums abnehmende Quantitäten von inaktiviertem Immunserum und 0,1 der Lösung C und brachte den Inhalt der Röhrchen mit gleichen Teilen von physiologischer Lösung und peptonhaltiger Bouillon auf entsprechende Mengen. Nach starkem Umschütteln wurden die Röhrchen auf drei Stunden in den auf 37° regulierten Brutschrank gebracht.

Nach Ablauf dieser Zeit wurde der Inhalt der Röhren mit geschmolzenem Agar vermischt und dieser in Schälchen ausgegossen, welche 24 Stunden im Brutschrank blieben. Es wurde gleichzeitig eine Serie von Plattenkulturen hergestellt, durch welche ich die Bakteriolyse des normalen Pferdeserums, die Einwirkung des inaktivierten Immunserums auf den Dysenteriebazillus, die Anzahl der in jeder Schale ausgesäten Keime und die Sterilität der Sera kontrollierte.

Waren die Kolonien in geringer Zahl, so wurden sie direkt gezählt traten sie sehr zahlreich auf, so kam die Methode von NEISSER zur Verwendung.

Die Resultate dieser Versuche lassen sich aus den Tabellen 1, 2 und 3 ersehen.

Inaktiviertes Serum von Pferd 45.	Norm. Pferdeserum.	Dysenteriebazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
0,1 ^{ccm}	0,3 ^{ccm}	1	3.600
0,05	»	2.500.000	2.400
0,01	»		630
0,005	»	Oese einer	690
0,0025	»	24 st.	580
0,001	»	Agar-kultur	520
0,0005	»		720
0,0001	»		800
—	»	»	3.559
0,1	—	»	3.758
—	—	»	3.750
0,1	—	—	0
—	0,3	—	0

Kontrollversuche

Soro inativado do cavalo 43	Soro de cavalo normal	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
0,5 cc	0,3 cc	1/2.500.000	2.600
0,1	»	de alça	850
0,05	»	de uma cultura	700
0,01	»	de 24 horas em agar	520
0,005	»		500
0,0025	»		530
0,001	»		510
0,0005	»		480
0,0001	»		410
—	»	»	2.730
0,1	—	»	3.725
—	—	»	3.720
0,1	—	—	0
—	0,3	—	0

Soro inativado do cavalo 41	Soro de cavalo normal	Bacilo da dizenteria	Numero de colonias em cada placa
0,5 cc	0,3 cc	1/2.500.000	1.600
0,3	»	de alça	640
0,1	»	de uma cultura	450
0,05	»	de 24 horas em agar	2.000
0,01	»		2.520
0,005	»		3.000
0,0025	»		3.800
0,001	»		3.700
0,0005	»		3.750
0,0001	»		3.900
—	»	»	3.600
0,1	—	»	3.800
—	—	»	4.000
0,1	—	—	—
—	0,3	—	—

São os soros microbianos que tem mais alto titulo de aglutinação, sendo bem fraco o poder aglutinante dos soros antitoxicos e mixtos. Verificámos como KOLLE, HELLER e DE MESTRAL que a inoculação de germens vivos é mais eficaz do que a de germens destruidos pelo calor. Melhor que o cavalo, presta-se o coelho á obtenção de soro antidizenterico de alto poder aglutinante.

Inativado Serum von Pferde 43.	Norm. Pferdeserum.	Dysenteriebazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
0,5 cem	0,3 cem	1	2.600
0,1	»	2.500.000	850
0,05	»		700
0,01	»	Oese einer 24 st. Agar-kultur	520
0,005	»		500
0,0025	»		530
0,001	»		510
0,0005	»		480
0,0001	»		410
—	»	»	2.730
0,1	—	»	3.725
—	—	»	3.720
0,1	—	—	0
—	0,3	—	0

Inativado Serum von Pferde 41.	Norm. Pferdeserum.	Dysenteriebazillen.	Zahl der Kolonien auf jeder Platte.
0,5 cem	0,3 cem	1	1.600
0,3	»	2.500.000	640
0,1	»		450
0,05	»	Oese einer 24 st. Agar-kultur	2.000
0,01	»		2.520
0,005	»		3.000
0,0025	»		3.800
0,001	»		3.700
0,0005	»		3.750
0,0001	»		3.900
—	»	»	3.600
0,1	—	»	3.800
—	—	»	4.000
0,1	—	—	0
—	0,3	—	0

Den grössten Agglutinationswert findet man beim antibazillären Serum, während bei den antitoxischen und gemischten das Agglutinationsvermögen nur gering ist. In Uebereinstimmung mit KOLLE, HELLER und DE MESTRAL beobachtete ich, dass die Einführung lebender Bazillen wirksamer ist, als diejenige von durch Hitze abgetöteten Kulturen. Besser als das Pferd eignet sich das Kaninchen zur Erzielung eines antidysenterischen Serums von hohem Agglutinationswert.

SORO	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Cavalo 39.....	++	++	++	++	+	±	0	0
» 41.....	++	++	+	±	0	0	0	0
» 48.....	++	++	+	+	±	0	0	0
» 45.....	++	++	++	++	++	++	+	±

SERUM	1/40	1/80	1/160	1/320	1/640	1/1280	1/2560	1/5120
Pferd 39	++	++	++	++	+	±	0	0
» 41	++	++	+	±	0	0	0	0
» 48	++	++	+	+	±	0	0	0
» 45	++	++	++	++	++	++	+	±

RUFFER e WILLMORE, (1908) HAENDEL (1908) e AUCHÉ (1908) verificaram as opsoninas do imunisoro para bacilos da dizenteria, sendo que só tira conclusões dessa pesquisa para o efeito curativo do soro, o ultimo dos pesquisadores mencionados.

Seguimos em nossas pesquisas a tecnica de WRIGHT, empregando leucócitos

RUFFER und WILLMORE (1908), HAENDEL (1908) und AUCHÉ (1908) stellten die Opsonine im Immunserum gegen Dysenteriebazillen fest, aber nur der letzte dieser Forscher zieht aus dieser Untersuchung Schlüsse auf den Heileffekt des Serums.

Bei meiner Untersuchung folgte ich der Technik von WRIGHT, indem ich Pferdeleukozyten, welche durch Centrifu-

de cavalo obtidos por centrifugação e lavagem de globulos com citrato de sodio a 1,5 % em solução fisiologica a 0,9 % e culturas de 20 horas em agar. Em thermostatado apropriado a estudos opsonicos regulado a 37° colocavamos durante quinze minutos os tubos capilares, contendo partes iguais de leucócitos, soro e emulsão de germens.

Pela tionina fenicada de BORREL e pelo liquido de GIEMSA córavamos as laminas a examinar.

Da contagem dos germens fagocitados por 100 leucócitos em presença do soro normal e dos diversos imunisoros, tirámos a media para cada leucócito.

SORO	Numero de germens fagocitados por cada leucócito
Cavalo normal.....	4.66
» 39.....	12.75
» 41.....	8.15
» 43.....	15
» 45.....	13

Rejistramos no quadro seguinte o indice opsonico dos diversos soros.

SORO	Indice opsonico
Cavalo 39.....	2.73
» 41.....	1.74
» 43.....	3.24
» 45... ..	2.78

Fixação de complemento foi o assunto em seguida abordado Não concordamos com KOLLE, HELLER e DE MESTRAL, (1908) que assinalam a inferioridade dos extratos sobre as culturas.

gierung und Waschung mit einer 1,5%igen Lösung von Natriumcitrát in 0,9%iger physiologischer Lösung erhalten wurden mit zostündigen Agarkulturen angewandt. Die Capillarpipetten, welche gleiche Teile Leukozyten, Serum und Bazillenemulsion enthielten, wurden für 15 Minuten in einen, für opsonische Studien geeigneten und auf 37° regulierten, Thermostaten gebracht. Die Objektträgerpräparate wurden vor der Untersuchung mit Karbolthionin nach BORREL und mit GIEMSA-scher Lösung gefärbt.

Aus der Zählung der von 100 Leukozyten phagozytierten Bazillen, in Gegenwart des normalen Serums und verschiedener Immunsera, erhielt ich das Mittel für jeden Leukozyten.

SERUM	Zahl der von jedem Leukozyten phagocytirten Bazillen
Norm. Pferd.....	4,66
Pferd 39.....	12,75
» 41.....	8,15
» 43.....	15
» 45.....	13

In nachfolgender Tabelle verzeichne ich den *Index opsonicus* der verschiedenen Sera :

SERUM	Index opsonicus
Pferd 39.....	2,73
» 41.....	1,74
» 43.....	3,24
» 45.....	2,78

Die Komplementablenkung war das nächste Thema, welches ich studierte. Hier kann ich mit KOLLE, HELLER und DE MESTRAL (1908), welche die Inferiorität der Extrakte gegenüber den Kulturen

A estes recorremos pela facilidade de preparo e bom resultado colhido em trabalho anterior.

A emulsão de uma cultura de 24 horas em agar em 10 cc. de solução fisiologica serviu-nos de antígeno em todos os ensaios.

hervorheben, nicht übereinstimmen. Ich bediente mich der letzteren, wegen der leichten Herstellung und der guten Resultate, welche ich bei einer früheren Arbeit erzielte.

Als Antigen diente mir bei allen Versuchen eine 24stündige Agarkultur in 10 ccm. physiologischer Kochsalzlösung.

2 horas a 37°

1 hora a 37°								
Emulsão de germens	Imunisoro inativado	Soro de cobaia 1/10	Soro de coelho-carneiro 1/1000	Globulos de carneiro 5%	Resultado			
					Cavalo 39	Cavalo 41	Cavalo 43	Cavalo 45
0,01 cc	0,3 cc	1 cc	1 cc	1 cc	—	+	—	—
»	0,1	»	»	»	—	+	—	—
»	0,05	»	»	»	—	+	—	—
»	0,01	»	»	»	+	+++	++	+
»	0,005	»	»	»	+	+++	+++	++
»	0,001	»	»	»	+++	+++	+++	+++
0,02 cc	—	»	»	»	+++	+++	+++	+++
—	0,1	»	»	»	+++	+++	+++	+++.

2 Stunden bei 37°

1 Stunde a 37°								
Bazillen-emulsion	Inaktiviertes Immunserum	Meerschweinchen-serum 1/10	Kaninchen-hammelblut-serum 1/1000	Hammel-blutkörperchen 5%	Resultat			
					Pferd 39	Pferd 41	Pferd 43	Pferd 45
0,01 cem	0,3 cem	1 cem	1 cem	1 cem	—	+	—	—
»	0,1	»	»	»	—	+	—	—
»	0,05	»	»	»	—	+	—	—
»	0,01	»	»	»	+	+++	++	+
»	0,005	»	»	»	+	+++	+++	++
»	0,001	»	»	»	+++	+++	+++	+++
0,02 cem	—	»	»	»	+++	+++	+++	+++
—	0,1	»	»	»	+++	+++	+++	+++

Diverjimos ainda do Instituto de Berne nos resultados dos soros antitoxicos, que são, segundo nossas pesquisas, bem pobres em anticorpos de BORDET. Substituímos por toxina as culturas, aproveitando a ocasião de verificar a interessante concepção de NICOLLE e POZERSKI sobre toxinolizinas.

Realmente era assim maior a quantidade de complemento fixado, mas a especificidade da reação não rezistia aos resultados assinalados com o caldo, empregado para preparo da toxina, filtrado em vela CHAMBERLAND.

Auch in Beziehung auf die antitoxischen Sera kann ich mit dem Institute von Bern nicht übereinstimmen, da sie nach meinen Untersuchungen recht arm an Antikörpern von BORDET sind. Ich ersetze die Kulturen durch Toxine und benutzte die Gelegenheit, um die interessante Auffassung von NICOLLE und POZERSKI in Betreff der Toxinolysine zu kontrollieren.

In der Tat war auf dieser Weise die Menge des abgelenkten Toxines eine grössere, aber die Spezifität der Reaktion bestätigte sich nicht, wenn Bouillon, wie sie zur Herstellung des Toxines diente, durch eine CHAMBERLAND'sche Kerze filtriert wurde.

2 horas a 37°

1 hora a 37°						
Toxina dizenterica	Soro anti-dizenterico	Caldo DOERR	Soro de cobaia 1/10	Soro de coelho carneiro 1/1000	Globulos de carneiro 5%	Resultado
0,02	0,3	—	1 cc	1 cc	1 cc	—
»	0,2	—	»	»	»	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	0,001	—	»	»	»	+++
0,04	—	—	»	»	»	+++
—	0,1	—	»	»	»	+++
—	0,3	0,02	»	»	»	—
—	0,2	»	»	»	»	—
—	0,1	»	»	»	»	—
—	0,05	»	»	»	»	++
—	0,01	»	»	»	»	+++
—	0,005	»	»	»	»	+++
—	0,001	»	»	»	»	+++
—	—	0,04	»	»	»	+++

2 Stunden bei 37°

1 Stunde bei 37°						
Dysenterie-toxin	Serum-gegen-Dysenterie	Bouillon DOERR	Meer-schweinchen-serum 1/10	Kaninchen-Hammelblut-serum 1/1000	Hammel-blutkörperchen 5 %	Resultat
0,02	0,3	—	1 ccm	1 ccm	1 ccm	—
»	0,2	—	»	»	»	—
»	0,1	—	»	»	»	—
»	0,05	—	»	»	»	+
»	0,01	—	»	»	»	++
»	0,005	—	»	»	»	+++
»	0,001	—	»	»	»	++++
0,04	—	—	»	»	»	++++
—	0,1	—	»	»	»	++++
—	0,3	0,02	»	»	»	—
—	0,2	»	»	»	»	—
—	0,1	»	»	»	»	—
—	0,05	»	»	»	»	++
—	0,01	»	»	»	»	+++
—	0,005	»	»	»	»	++++
—	0,001	»	»	»	»	++++
—	—	0,04	»	»	»	++++

Confirmam estes resultados ensaios identicos feitos com toxina e antitoxina difterica.

A falta de soro puramente bacteriolitico sem propriedade antitoxica determinou o definitivo abandono das bacteriolizinas como metodo de dozajem aconselhado por SHIGA e KRUSE em trabalhos de 1901 e 1903.

No Instituto soroterapico de Viena KRAUS e DOERR fizeram estudos sistematicos sobre neutralização *in vitro* e poder curativo e preventivo do soro, fazendo inoculações de antitoxina em tempos variaveis apoz a da toxina. Destas experiencias, realizadas todas em coelhos concluem que nenhuma relação existe entre o poder neutralizante e a ação terapeutica e preventiva do soro.

Diesen Resultaten dienen ähnliche, mit Diphtherietoxin angestellte, Versuche zur Bestätigung.

Die Unmöglichkeit, ein rein bakteriolytisches Serum (ohne antitoxische Eigenschaften) zu erhalten, liess mich die von SHIGA und KRUSE in ihren Arbeiten von 1901 und 1903 empfohlenen Bakteriolyse für die Wertbestimmung definitiv verlassen.

KRAUS und DOERR machten im serotherapeutischen Institut in Wien systematische Studien über Neutralisation *in vitro* und praeventive, sowie kurative Wirkung des Serums, indem sie Antitoxin in verschiedenen Intervallen nach dem Toxin einverleibten. Aus diesen, an Kaninchen angestellten, Versuchen schliessen sie, dass zwischen der neutralisierenden Wirkung einerseits, der praeventiven und kurativen Eigenschaft andererseits, bei dem Serum keine konstante Beziehung besteht.

KOLLE e HELLER (1908) pensam explicar esta propozição paradoxal, contraria ao que se verifica dos estudos de EHRLICH sobre antitoxina difterica e de DOENITZ sobre antitoxina tetanica, pela extrema sensibilidade do coelho á toxina. Para confirmar os trabalhos de KRAUS e DOERR, (1905-1906) pensam os trabalhadores do instituto de Berne, que seria necessario experimentar com grande serie de animais, eliminando assim a sensibilidade individual dos coelhos.

Durante o periodo de imunização dozámos varias vezes em coelhos o soro, experimentando, ora a neutralização *in vitro* durante 15 minutos em banho maria regulado a 37°, ora a inoculação separada de toxina e soro, fazendo preceder ora este ora aquelle de modo a conhecer a ação preventiva e curativa.

Reproduzimos no prezente trabalho os quadros de dozajens realizadas em Janeiro e Junho deste ano, ocasião em que considerámos imunizados os cavalos. Delles facilmente se depreende que não houve grande disparidade nos resultados das neutralizações *in vitro* e da ação curativa do soro.

Para evitar a introdução na pratica de outro metodo de dozajem exigimos sempre que 0,1 cc. de soro tenha efeito curativo sobre coelhos previamente inoculados com quatro vezes a doze minima mortal de toxina.

Cavalo 43. Toxina 0,2 ^{cc} =4 vezes a doze min. mortal				
Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	† em 8 dias
»	3.	0,5	» »	† em 7 dias
»	4.	0,25	» »	† em 7 dias
»	5.	0,1	» »	† em 11 dias
»	6.	0,2	Toxina	† em 1 dia
»	7.	0,05	» »	† em 1 dia

Neutralização em banho-maria regulado a 37°, durante 15 minutos.

Diesen paradoxen Schluss, der im Gegensatz zu den Folgerungen steht, welche aus den Beobachtungen von EHRLICH über Diphtherie- und DOENITZ über Tetanus-Antitoxin hervorgehen, glauben KOLLE und HELLER (1908) durch die äusserst grosse Empfindlichkeit des Kaninchens für das Toxin zu erklären. Die Autoren des Berner Institutes sind der Meinung, dass zur Bestätigung der Arbeiten von KRAUS und DOERR (1905-1906) man mit einer grossen Zahl von Tieren experimentiren müsste, um auf diese Weise die individuelle Sensibilität zu eliminieren.

Während der Immunisationsperiode habe ich mehrmals beim Kaninchen den Wert des Serums bestimmt, indem ich entweder die Neutralisation *in vitro*, in einem Wasserbad von 37° während 15 Minuten, oder separate Einführung von Toxin und Serum erprobte, wobei bald das eine, bald das andere Verfahren vorauszuging, um so die praeventive und kurative Wirkung kennen zu lernen.

Ich gebe hier die Tabellen der, zuerst im Januar und dann im Juni dieses Jahres gemachten, Bestimmungen wieder; letztere entsprechen den Zeitpunkt, an welchem, meines Erachtens, die Immunisierung der Pferde erreicht war.

Um in die Praxis keine andere Bestimmungsmethode einzuführen, hielt ich daran fest, dass 0,1 ccm. Serum eine Heilwirkung an Kaninchen zeige, welche vorher das Vierfache einer tödlichen Minimaldosis erhalten hatten.

Pferd 43. Toxin 0,2 ^{ccm} =vier tödliche Minimaldosen				
Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	† nach 8 Tagen
»	3.	0,5	»	† » 7 »
»	4.	0,25	»	† » 7 »
»	5.	0,1	»	† » 11 »
»	6.	0,2	Toxin	† » 1 »
»	7.	0,05	»	† » 1 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbade von 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43.	Toxina 0,2 ^{cc} =4 vezes a doze min.	mortal
Coelho 1.	1,0 ^{cc} de soro	† em 12 dias
» 2.	0,75 » »	† em 7 dias
» 3.	0,5 » »	† em 7 dias
» 4.	0,25 » »	† em 11 dias
» 5.	0,1 » »	† em 10 dias
» 6.	0,2 » toxina	† em 2 dias
» 7.	0,05 » »	† em 2 dias

Toxina e soro foram mixturados por ocasião da inoculação.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43.	Toxina 0,2 ^{cc} =4 vezes a doze min.	mortal
Coelho 1.	1,0 ^{cc} de soro	† em 12 dias
» 2.	0,75 » »	† em 9 dias
» 3.	0,5 » »	† em 10 dias
» 4.	0,25 » »	† em 10 dias
» 5.	0,1 » »	sobrevive
» 6.	0,2 » toxina	† em 3 dias
» 7.	0,05 » »	† em 3 dias

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes. Precedeu a inoculação de soro.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43.	Toxina 0,2 ^{cc} =4 vezes a doze min.	mortal
Coelho 1.	1,0 ^{cc} de soro	† em 8 dias
» 2.	0,75 » »	† em 3 dias
» 3.	0,5 » »	† em 4 dias
» 4.	0,25 » »	† em 8 dias
» 5.	0,1 » »	† em 9 dias

A inoculação da toxina precedeu a do soro.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 41.	Toxina 0,2 ^{cc} =4 vezes a doze min.	mortal
Coelho 1.	1,0 ^{cc} de soro	† em 8 dias
» 2.	0,75 » »	† em 7 dias
» 3.	0,5 » »	† em 6 dias
» 4.	0,25 » »	† em 6 dias
» 5.	0,1 » »	† em 15 dias
» 6.	0,2 » toxina	† em 2 dias
» 7.	0,05 » »	† em 2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Januar 1910)

Pferd 43.	Toxin 0,2 ^{ccm} =vier tödliche Minimaldosen
Kaninchen 1.	1,0 Serum † nach 12 Tagen
» 2.	0,75 » † » 7 »
» 3.	0,5 » † » 7 »
» 4.	0,25 » † » 11 »
» 5.	0,1 » † » 10 »
» 6.	0,2 Toxin † » 2 »
» 7.	0,05 » † » 2 »

Toxin und Serum im Moment der Einspritzung vermischt.

(Januar 1910)

Pferd 43.	Toxin 0,2 ^{ccm} =vier tödliche Minimaldosen
Kaninchen 1.	1,0 Serum † nach 12 Tagen
» 2.	0,75 » † » 9 »
» 3.	0,5 » † » 10 »
» 4.	0,25 » † » 10 »
» 5.	0,1 » Ueberlebt
» 6.	0,2 Toxin † nach 3 Tagen
» 7.	0,05 » † » 3 »

Toxin und Serum werden in verschiedene Venen eingeführt und zwar letzteres zuerst.

(Januar 1910)

Pferd 43.	Toxin 0,2 ^{ccm} =vier tödliche Minimaldosen
Kaninchen 1.	1,0 Serum † nach 8 Tagen
» 2.	0,75 » † » 3 »
» 3.	0,5 » † » 4 »
» 4.	0,25 » † » 8 »
» 5.	0,1 » † » 9 »

Die Einspritzung des Toxines ging derjenigen des Serums voraus.

(Januar 1910)

Pferd 41.	Toxin 0,2 ^{ccm} =vier tödliche Minimaldosen
Kaninchen 1.	1,0 Serum † nach 8 Tagen
» 2.	0,75 » † » 7 »
» 3.	0,5 » † » 6 »
» 4.	0,25 » † » 6 »
» 5.	0,1 » † » 15 »
» 6.	0,2 Toxin † » 2 »
» 7.	0,05 » † » 2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de soro	† em 8 dias
»	2.	0,3	» »	† em 10 dias
»	3.	0,2	» »	† em 9 dias
»	4.	0,1	» »	† em 8 dias

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 45. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de soro	† em 3 dias
»	2.	0,75	» »	† em 2 dias
»	3.	0,5	» »	† em 3 dias
»	4.	0,25	» »	† em 3 dias
»	5.	0,05	» »	† em 2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Janeiro de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	»
»	3.	0,5	» »	»
»	4.	0,25	» »	»
»	5.	0,1	» »	»
»	6.	0,05	» »	»
»	7.	0,005	» »	»
»	8.	0,001	» »	† em 7 dias
»	9.	0,2	» toxina	† em 2 dias

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Junho de 1910)

Cavalo 43. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,3	» »	»
»	3.	0,2	» »	»
»	4.	0,1	» »	»

Inoculação de toxina na veia safena da perna direita e do soro em identica veia do lado esquerdo.

(Januar 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	† nach 8 Tagen
»	2.	0,3	»	† » 10 »
»	3.	0,2	»	† » 9 »
»	4.	0,1	»	† » 8 »

Toxin und Serum in verschiedene Venen eingespritzt.

(Januar 1910)

Pferd 45. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	† nach 3 Tagen
»	2.	0,75	»	† » 2 »
»	3.	0,5	»	† » 3 »
»	4.	0,25	»	† » 3 »
»	5.	0,05	»	† » 2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Januar 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	»
»	3.	0,5	»	»
»	4.	0,25	»	»
»	5.	0,1	»	»
»	6.	0,05	»	»
»	7.	0,005	»	»
»	8.	0,001	»	† nach 7 Tagen
»	9.	0,2	Toxin	† » 2 »

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Juni 1910)

Pferd 43. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,3	»	»
»	3.	0,2	»	»
»	4.	0,1	»	»

Toxin in die rechte, Serum in die linke vena saphena eingeführt.

(Junho de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	»
»	3.	0,5	» »	»
»	4.	0,25	» »	† em 7 dias
»	5.	0,1	» »	sobrevive
»	6.	0,05	» »	»
»	7.	0,005	» »	»
»	8.	0,001	» »	»
»	9.	0,2	» toxina	† em 36 horas

Neutralização, durante 15 minutos, em banho-maria regulado a 37°.

(Junho de 1910)

Cavalo 41. Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	0,5 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,3	» »	»
»	3.	0,2	» »	»
»	4.	0,1	» »	»

Toxina e soro foram inoculados em veias diferentes.

(Junho de 1910)

Cavalo 45: Toxina 0,2^{cc} = 4 vezes a doze min. mortal

Coelho	1.	1,0 ^{cc}	de soro	sobrevive
»	2.	0,75	» »	† em 8 dias
»	3.	0,5	» »	† em 8 dias
»	4.	0,3	» »	† em 1 dia
»	5.	0,2	» »	† em 2 dias
»	6.	0,1	» »	† em 4 dias

Faltam-nos ainda conhecimentos sobre a ação terapeutica do soro. Em trabalho proximo pretendemos voltar ao assunto.

Manguinhos, Agosto 1910.

(Juni 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	»
»	3.	0,5	»	»
»	4.	0,25	»	† nach 7 Tagen
»	5.	0,1	»	Ueberlebt
»	6.	0,05	»	»
»	7.	0,005	»	»
»	8.	0,001	»	»
»	9.	0,2	Toxin	† nach 36 Stunden

Neutralisation während 15 Minuten im Wasserbad von 37°.

(Juni 1910)

Pferd 41. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	0,5	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,3	»	»
»	3.	0,2	»	»
»	4.	0,1	»	»

Toxin und Serum in verschiedene Venen eingespritzt.

(Juni 1910)

Pferd 45. Toxin 0,2^{ccm} = vier tödliche Minimaldosen

Kaninchen	1.	1,0	Serum	Ueberlebt
»	2.	0,75	»	† nach 8 Tagen
»	3.	0,5	»	† » 8 »
»	4.	0,3	»	† » 1 »
»	5.	0,2	»	† » 2 »
»	6.	0,1	»	† » 4 »

Es fehlen noch die therapeutischen Resultate bei Dysenteriekranken, auf welche ich in der nächsten Arbeit einzugehen beabsichtige.

Manguinhos, August 1910.

BIBLIOGRAFIA.

- AUCHÉ, B. 1908 Pouvoir opsonique du sérum antidysentérique de M. M. VAILLARD et DOPTER et du sérum antidysentérique polyvalent de MM. COYNE—AUCHÉ à l'égard des bacilles dysentériques du type FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16.
Pg. 833—835.
- COYNE, G. ET
AUCHÉ, B. 1908 Action du sérum antidysentérique polyvalent sur les cobayes inoculés dans la cavité péritonéale avec des cultures du bacille dysentérique de FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16.
Pg. 829—831.
- COYNE, G. ET
AUCHÉ, B. 1908 Action comparée du sérum de MM. VAILLARD et DOPTER et du sérum antidysentérique polyvalent sur les cobayes inoculés dans la cavité péritonéale avec des cultures du bacille dysentérique de FLEXNER.
Compt. rend. d. l. Soc. de Biol. T. LXIV. N. 16.
Pg. 831—833.
- DOERR, R. 1906 Das Dysenterietoxin.
Wien. Klin. Wochenschr. N. 41. Pg. 1.218—1.220.
- DOERR, R. 1907 Das Dysenterietoxin. Jena.
- DOERR, R. 1908 Dysenterieantitoxin.
In Handbuch der Technik und Methodik der Immunitätsforschung, herausgegeben von R. Kraus und C. Levaditi.
- HAENDEL 1908 Zur Differenzierung der Ruhrbakterien mittelst der Agglutination, der Komplementablenkung und der bakteriotropen Immunserumwirkung.
Arb. aus dem Kais. Gesundh. Bd. 28, Heft 2,
Pg. 358—376.
- KOLLE, HELLER UND
DE MESTRAL 1908 Untersuchungen über Dysenterietoxine, das Dysenterieserum und seine Wertbestimmung.
Arbeiten aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern etc. Erstes Heft.
Pg. 1—50.
- KRAUS, R. UND
DOERR, R. 1905 Ueber Dysenterieantitoxin.
Wien. klin. Wochenschr. N. 7. Pg. 158—159.
- KRAUS, R. UND
DOERR, R. 1905 Ueber experimentelle Therapie der Dysenterie.
Wien. klin. Wochenschr. N. 42. Pg. 1.077—1.079.
- KRAUS, R. UND
DOERR, R. 1906 Das Dysenterieserum.
Wien. klin. Wochenschr. N. 30. Pg. 929—931.
- KRUSE 1903 Die Blutserumtherapie bei der Dysenterie.
Deutsche Med. Wochenschr. N. 1. Pg. 68 e N. 3.
Pg. 49—51.
- LENTZ 1909 In Handbuch der pathogenen Mikroorganismen herausg. von Prof. Dr. W. Kolle und Prof. Dr. A. Wassermann.
Zweiter Ergänzungsband. Drittes Heft. Pg. 391—454.
- NICOLLE ET POZERSKI ... 1908 Une conception générale des anticorps et de leurs effets.
Ann. de l'Inst. Pasteur. Jan. Pg. 26.
- ROSENTHAL, L. 1904 Das Dysenterietoxin (auf natürlichem Wege gewonnen).
Deutsche Med. Wochenschr. N. 7. Pg. 235 e N. 19.
Pg. 691—694.
- RUFFER, MARC ARMAND,
AND WILLMORE, J.
GRAHAM 1908 The production of immunity against dysentery toxin.
Brit. Med. Journ. Pg. 1.176.

- SCHOTTELIUS, ERNST. ... 1908 Ueber das Toxin und das Antitoxin der Dysenteriebazillen.
Med. Klinik. N. 32. Pg. 1.238—1.244.
- SHIGA, K. 1901 Studien über die epidemische Dysenterie in Japan unter besonderer Berücksichtigung des Bacillus dysenteriae.
Deutsche Med. Wochenschr. N. 43. Pg. 741—744,
N. 44. Pg. 765—768 e N. 45. Pg. 783—786.
- SHIGA, K. 1902 Weitere Studien über den Dysenteriebacillus.
Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionsk. Bd. XLI.
Pg. 355—368.
- TODD, CHARLES 1903 Med. Journ. 5 Dec.
- TODD, CHARLES 1904 On a dysentery toxin and antitoxin.
Journal of Hygiene. Vol. IV. Oct. N. 4. Pg. 480—494.
- VAILLARD ET DOPTER ... 1903 La dysenterie épidémique.
Annales de l'Inst. Pasteur. Juillet. Pg. 462—491.
- VAILLARD ET DOPTER ... 1906 Le sérum antidysentérique.
Ann. de l'Inst. Pasteur. Mai. Pg. 321—352.

