

## VACINAÇÃO CONTRA A COQUELUCHE

J. P. DE CARVALHO LIMA

Diretor do Instituto Adolfo Lutz

MARIA ARANTES

Biologista do Instituto Adolfo Lutz

Milhares de crianças contraem, anualmente, a coqueluche e elevada porcentagem é vitimada pela moléstia ou pelas suas terríveis complicações, apesar de possuímos, hoje, arma segura e poderosa contra a tosse convulsa.

*Vacinas curativas.* — Desde que Bordet e Gengou<sup>1</sup> anunciaram, em 1906, a descoberta do micróbio causador da coqueluche, conseguindo, também, a sua cultura no laboratório, houve geral preocupação de se preparar, como se prepara para outras moléstias, uma vacina curativa usando a própria bactéria responsável: o *Hemophilus pertussis*.

O valor das vacinas bacterianas, curativas da coqueluche, sofreu enormes altos e baixos. Nós mesmos, pois o assunto nos preocupa desde a tese de doutoramento (Carvalho Lima<sup>2</sup>), preferimos em 1917, a *Antitossina de Kraus*, preparada com expectoração de doentes, a qualquer outra vacina feita com o germe causador da moléstia.

Essa preferência foi inteiramente modificada, desde que empregámos o processo de Chiewitz e Meyer<sup>3</sup>, em que o isolamento do germe é obtido fazendo-se o doente tossir diante da placa de meio de cultura, e conseguimos isolar, em São Paulo, numerosas raças de *Hemophilus pertussis*, que nos permitiram obter vacina dotada de alto poder curativo (Carvalho Lima<sup>4</sup>). Não nos preocupou, nessa época, verificar se a vacina teria, igualmente, valor preventivo. Outros, entretanto, visaram êsse lado da questão.

Madsen<sup>5</sup>, por exemplo, muito céptico, afirmou que a vacina curativa da coqueluche não daria resultado se a moléstia estivesse avançada e, adiantou mais, que não produzia efeitos profiláticos, embora notasse que a infecção era mais branda nos vacinados.

*Vacina preventiva.* — O cepticismo de Madsen, cujas experiências foram feitas nas Ilhas Faroé, contaminou inúmeros pesquisadores, mas não atingiu a Lowis W Sauer<sup>6</sup>, pediatra americano, que divisou nos resultados de Madsen, alguma cousa de aproveitável. E foi assim que idealizou uma vacina em que o germe da coqueluche, em vez de aquecido, é apenas atenuado, por um antisséptico.

Sauer<sup>7</sup> selecionou grupos de crianças, variando de 9 meses a alguns anos de idade e que não tinham tido coqueluche.

Os resultados foram mais que animadores. Entre 24 famílias, 31 crianças que não foram vacinadas contraíram a moléstia, ao passo que 29 outras, vacinadas, apesar de expostas ao contágio, escaparam inteiramente.

De 1928 a 1933, Sauer fêz, pacientemente, mais de 1.600 injeções, em cerca de 300 crianças. Não verificou reações locais ou gerais, de importância.

*Vacina Sauer.* — Preparada com 5-7 raças de *Hemophilus pertussis*, recentemente isoladas de casos novos de coqueluche, pelo processo de Chiewitz e Meyer. Cultura de 48 horas em meio de Bordet e Gengou com sangue humano fresco. Emulsão em solução fisiológica contendo 0,5% de ácido fênico. Nenhum aquecimento. Permanência, entretanto, de 8 dias na geladeira, findo o que, verificar a esterilidade e dosar a emulsão de modo a conter 10 bilhões de germes por cc..

Nas experiências de 4 anos, 1928-33, as 300 crianças receberam de 7 a 8 injeções de 1 cc., com intervalo de uma semana, ou sejam 70-80 bilhões de bactérias. Verificou que as injeções no *biceps* provocam apenas ligeiro eritema local, com endurecimento que desaparece ao cabo de poucos dias. Raramente febre.

Tôdas as crianças foram expostas ao contágio ou conviveram com doentes de coqueluche. Das 300 crianças, 8 tinham cohabitado com doentes e 127 haviam estado muito expostas ao contágio, mas, não contraíram coqueluche.

Em 1933, prosseguindo as experiências, Sauer verificou que as crianças não injetadas apanharam coqueluche e formulou a seguinte conclusão: *a vacina pertússica, na dose de 7 a 8 cc., contendo 10 bilhões de germes por cc., protege uma criança imune, se as injeções forem feitas pelo menos 4 meses antes do contágio.*

Apareceram imediatamente numerosos adeptos da vacina Sauer. Entre êles o casal de médicos Dr. Hugh Macdonald e esposa, que aplicaram a vacina em 2 dos seus 4 filhos. Depois, com

um vaporizador, espalharam germes da coqueluche nas narinas de todos êles; os 2 vacinados não contraíram a moléstia, enquanto que os outros tiveram coqueluche fortíssima.

Em maior escala foram as experiências de Pearl Kendrick e Grace Eldering<sup>8</sup>, dos laboratórios do Departamento de Saúde Pública do Estado de Michigan. Dividiram em dois grandes grupos as crianças de Grand Rapids *que não haviam tido coqueluche*. Vacinaram 5 mil crianças e outras tantas serviram de contrôlo, sem vacinação. Os casos de infecção foram reduzidos entre os vacinados.

Miller e Faber<sup>9</sup>, vacinaram 211 crianças com a vacina Sauer. Como contrôlo deixaram 182 crianças. Obtiveram, pelo menos na maioria dos vacinados, completa imunidade.

*Requisitos da vacina.* — Sauer<sup>10</sup> insiste muito sôbre a técnica de preparação da vacina e sôbre o meio de cultura a empregar.

O meio de Bordet e Gengou com 20% de sangue humano fresco e desfibrinado, além de constituir o meio ideal, é o meio que mais conserva a *Fase* patogênica do bacilo (*Fase I* de Leslie e Gardner<sup>11</sup>). Também recomenda o aproveitamento total da emulsão obtida raspando-se todo o crescimento dos tubos de cultura de 48 horas. Não é aconselhável colocar a solução fisiológica no próprio tubo de cultura, porque a quantidade de sangue do meio é às vezes suficiente para tingir levemente a emulsão. A centrifugação para remover o sangue enfraquece o poder antigênico da vacina.

*"Fases" do bacilo da coqueluche.* — Em 1910, Bordet e Sleswyck<sup>12</sup> provaram que não se pode obter sôro aglutinante para identificação de raças recentemente isoladas do *Hemophilus pertussis*, quando se usam raças velhas conservadas em ágar, pois, verificam-se mudanças sorológicas em virtude da adaptação do germe ao meio.

Assim os autores consideraram dois *estados* diferentes do germe dependentes do meio: o *estado I* característico das culturas em meio com sangue fresco; o *estado II*, próprio das culturas em ágar. O *estado II* reverteria prontamente ao *estado I* se o germe fôsse transferido do ágar para meio com sangue. Bordet<sup>13</sup> verificou, todavia, em culturas velhas, uma lenta alteração do *estado II* com tendência a se estabilizar nesse estado, mesmo em meios com sangue; durante êsse processo a toxidez do germe para a cobaia diminue ou desaparece.

Houve discordância por parte de Krumwiede Jr., Mishulow e Oldenbusch<sup>14</sup> que consideram os 2 *estados* como dois tipos de baci-

los: A e B. Esses tipos, porém, Kristensen<sup>15</sup> demonstrou serem sorològicamente idênticos.

Não podendo conciliar os pontos de vista d'esses autores, Leslie e Gardner iniciaram novas investigações sôbre a composição sorològica e variação das espécies. Analisaram 32 raças de *Hemophilus pertussis*, pela aglutinação, absorção das aglutininas e dosagem do poder aglutinogênico. Provaram que caíam todos em 4 grupos aglutinativos que chamaram *Fases* I, II, III e IV. As *fases* I e II corresponderiam à forma patogênica do germe (*smooth*); as *fases* III e IV, à forma não patogênica (*rough*). Em geral a cultura transforma as fases patogênicas em fases não patogênicas, mas a adição de sangue ao meio determina a reversão. Concluíram, por fim, que a *Fase* I é mais antigênica ou, talvez, a única antigênica para a imunização ativa de cobaia. Os germes recentemente isolados são da *Fase* I.

*Vacina precipitada.* — A coqueluche é moléstia de evolução lenta. Com lentidão, também, se forma a imunidade que será, então, duradoura. E' evidente que a própria vacina usada com fim profilático precisa produzir lentamente a imunidade; nesse caso é necessário um produto de absorção demorada.

Surgiu a idéia duma vacina precipitada pelo sulfato de alumínio e potássio, da mesma maneira que se usa hoje o toxóide precipitado na vacinação contra a difteria. Foram seus autores Harrison, Franklin e Bell<sup>16</sup>, do Laboratório Higiénico de Washington.

E' sabido que o toxóide diftérico aumenta, muitas vêzes, a sua eficiência antigênica, quando precipitado pelo sulfato de alumínio e potássio adsorvido pelo hidróxido de alumínio. Harrison<sup>17</sup> diz que esse aumento do poder imunizante é devido, provávelmente à lentidão com que o precipitado é absorvido. Lógico que se a vacina é também de absorção lenta e prolongada, as possibilidades de sucesso profilático serão superiores às da vacina comum, de absorção rápida.

Os autores partiram de 1 litro de vacina Sauer contendo 10 bilhões de germes por cc., precipitando-a por solução de sulfato de alumínio e potássio a 4%.

Empregaram essa vacina em 82 crianças em dose única de 1 cc., isto é, 10 bilhões de germes. Como contròle deixaram 109 crianças que não receberam vacina. Tôdas foram observadas durante 1 ano. Nos vacinados houve coqueluche em 12% e os casos verificados foram benignos. Ficaram um tanto desanimados com

os resultados, mas um dos colaboradores, Bell<sup>18</sup>, persistiu e preconizou depois de algumas experiências, o emprêgo de 2 doses de 10 bilhões, com intervalo de 4 semanas. Pôde concluir que a vacina confere real proteção contra a coqueluche.

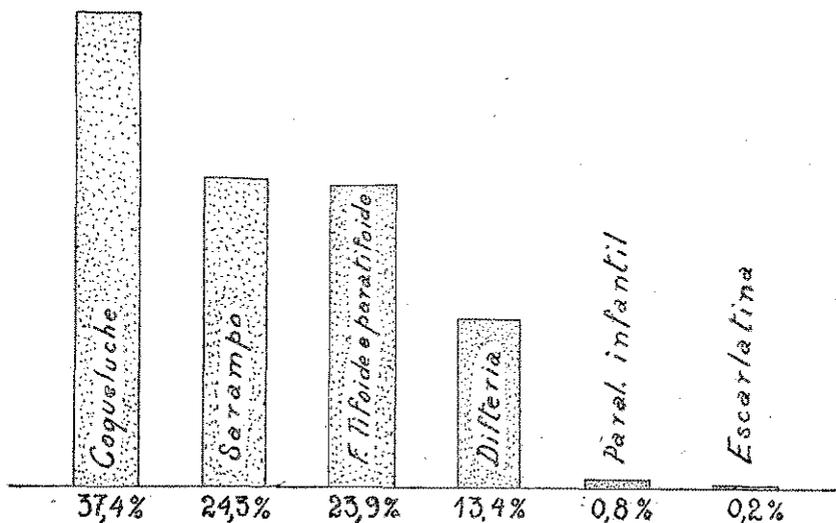
## OBSERVAÇÕES PESSOAIS

No Estado de São Paulo, as estatísticas sanitárias dos 5 últimos anos nos dão as seguintes cifras de mortes ocorridas:

Coqueluche .....	5.247	37,4%
Sarampo .....	3.426	24,3%
Febres tifoïdes e paratifoïdes .....	3.357	23,9%
Difteria .....	1.893	13,4%
Paralísia infantil .....	111	0,8%
Escarlatina .....	28	0,2%

---

14.062



Verificamos a coqueluche com obituário maior que o da febre tifoïde, escarlatina, sarampo, difteria e paralísia infantil.

Iniciámos em fins de 1941, o preparo da vacina pelo processo de Harrison, Franklin e Bell. Usámos raças recentemente isoladas

de *Hemophilus pertussis*, portanto na sua fase I, patogênica e algumas raças recebidas do Instituto Lister, de Londres e outras conservadas na coleção do Instituto Adolfo Lutz. Tôdas mantidas em meio com sangue de modo a conservarem a Fase I.

Um dos inconvenientes dos meios com sangue é tingir a vacina, quando se quer aproveitar todo o crescimento. Para só se retirar levemente o crescimento por meio da alça de platina, a produção da vacina é pequena, tornando-se muito trabalhosa a obtenção em maior escala. Porisso, mantemos as raças usadas em meio com sangue mas a sementeira final fazemos num meio que idealizámos partindo do meio de Sauton para tuberculose. Tomámos 100 cc. de ágar comum, juntámos 20 cc. de meio de Sauton e 10 cc. de sôro normal; nesse meio o crescimento é abundante e a vacina, perfeitamente clara. A vacina é, pois, preparada do crescimento de 48 horas em *ágar-Sauton-sôro normal*, obedecendo-se à seguinte técnica:

*Primeiro dia.* — Seleccionar as culturas. Fazer preparação corada pelo método de Gram. Semear 2 ou 3 tubos de 20x20, de ágar-sangue, e uma placa de ágar-sangue. Incubar 48 horas. Examinar a placa 24 e 48 horas, afim de se certificar de que não há contaminação.

*Terceiro dia.* — Examinar cuidadosamente, o crescimento de cada tubo e, se houver suspeita de contaminação, preparar lâmina corada pelo Gram. Passar sôbre a superfície do tubo de cultura um estilete com algodão estéril, dêsses usados para colheita de material de garganta. Semear frascos de Kolle contendo 100 cc. de meio *ágar-Sauton-sôro*, passando sôbre a superfície do meio o estilete carregado com material do tubo. Um tubo de ágar-sangue dá, em geral, para semear 2 frascos de Kolle. Incubar 48 horas.

*Quinto dia.* — Examinar os frascos, fazendo preparações pelo Gram. Desprezar os frascos contaminados ou suspeitos.

Colocar em cada frasco 25 cc. de solução fisiológica estéril, contendo 0,5% de ácido fênico. Com bastãozinho de vidro, um para cada frasco, desprender o crescimento da cultura tendo o cuidado de não quebrar a superfície do ágar. Despejar a emulsão assim obtida num frasco de Erlenmeyer esterilizado, com pérolas de vidro. Agitar, retirar amostra suficiente para a contagem dos germes e depois deixar na geladeira uma semana.

*Contagem.* — A vacina é estandardizada de modo a conter 10 bilhões de germes por cc.. Para isso, contar, comparativamente, pelo processo de Wright, o número de germes e de hemátias contido em igual volume de sangue e de emulsão, ou contar usando uma câmara para glóbulos sanguíneos.

*Prova de esterilidade.* — Ao fim de uma semana de geladeira, sem nenhum aquecimento, os bacilos da emulsão inicial não mais crescerão, mesmo semeados em meios adequados. Também não deverá haver contaminação. Far-se-á, então, a diluição de modo a conter 10 bilhões de germes por cc.. Aí está a *vacina Sauer*, que preferimos para o tratamento e não para a profilaxia.

*Vacina precipitada.* — Partindo da vacina Sauer, cuja técnica descrevemos, prepara-se então, a vacina profilática de Harrisson, Franklin e Bell.

1. Tomar 1 litro de vacina Sauer, contendo 10 bilhões de germes por cc. em suspensão em solução fisiológica contendo 0,5% de fenol.

2. Adicionar 20 cc. duma solução estéril a 10% de bicarbonato de sódio e 250 cc. de solução estéril a 4% de sulfato de alumínio e potássio. Ambas as soluções filtradas em vela Berkefeld.

3. Agitar fortemente. Há formação de pesado precipitado. Deixar 5 horas a 10°C..

4. Decantar o líquido que sobrenada e substituí-lo por solução estéril de cloreto de sódio a 0,85%.

5. Deixar uma noite a 10°C.. Decantar novamente e substituir o líquido que sobrenada por solução estéril de cloreto de sódio a 0,85%, contendo *Merthiolato* na proporção de 1:7.500. Completar o volume para 1 litro.

6. Verificar a esterilidade. Ampolar. Injetar, subcutaneamente, numa cobaia, 2 cc. correspondendo a 20 bilhões de germes.

*Aplicação.* — Iniciámos a aplicação da vacina injetando em nós mesmos, no biceps, a dose de 1 cc. = 10 bilhões. Não sentimos dor e não tivemos reação. No dia seguinte, vermelhidão que durou 48 horas e depois endurecimento que persistiu vários dias.

Não tivemos ainda oportunidade duma aplicação sistemática da vacina. Por circunstâncias alheias à nossa vontade, os Serviços de Medicina Infantil da Capital, aos quais fornecemos vacina, não

o fizeram também. Todavia, já vacinámos um bom número de crianças, tôdas com passado negativo para coqueluche; à princípio duas doses de 1 cc., com intervalo de quatro semanas. Mais tarde adotámos a vacinação em três doses. Algumas das crianças estão sob a nossa observação há cêrca de 1 ano e meio e embora tenham estado em contacto ou mesmo convivido com doentes de coqueluche, não apanharam a moléstia.

A mãe de uma das primeiras crianças vacinadas nos forneceu uma observação que vale a pena ser reproduzida, porque mostra o quadro da maioria das crianças que receberam a vacina:

M. H. P., 18 meses e  $\frac{1}{2}$  de idade.

Dia 10-1-42, 1.<sup>a</sup> dose, 1 cc. em injeção intramuscular, às 20,30 horas.

Os primeiros sintomas de reacção foram observados à noite. A criança dormiu desassossegada, notando-se elevação de temperatura.

Dia 11-1-42, reacção local mais ou menos intensa, com vermelhidão e sensação dolorosa ao tocar.

Temperatura: 9 horas — 38<sup>o</sup>,5  
 15 horas — 37<sup>o</sup>,5  
 21 horas — 37<sup>o</sup>,5.

Dia 12-1-42, reacção local leve, temperatura normal.

Quatro semanas depois tomou a 2.<sup>a</sup> dose e o mesmo quadro foi observado.

Em um caso, J. P., de 8 meses, e que observámos bem de perto, notámos náuseas ligeiras. A primeira dose foi feita à noite e reproduziu-se o quadro da observação anterior. A 2.<sup>a</sup> dose fêz-se de manhã e pareceu, a todos da casa, ser preferível. A criança, apesar de febril, distraiu-se durante o dia e à noite já dormiu bem.

*Idade para a vacinação.* — Sauer<sup>19</sup>, aconselha a vacinação do 7.<sup>o</sup> mês aos dois anos e meio, uma vez que a coqueluche nessa idade causa grande número de mortes, às vêzes em cifras superiores ao sarampo, à difteria e escarlatina. Quanto às crianças de idade inferior a 7 meses, Sauer afirma que nem tôdas têm o poder de formar anticorpos. Não concordamos muito com êsse ponto de vista. E depois, quem já viu uma criancinha de 2-3 meses num acesso de tosse convulsa, não hesitará em preferir a vacinação, mesmo nessa idade.

E assim pensando, Philip Cohen e Samuel J. Scadron<sup>20</sup>, de New York, em trabalho recente recomendam a vacinação, contra a coqueluche, das mães nos últimos meses de gravidez, com o fim de

transmitir, por via placentária, anticorpos protetores contra a coqueluche.

Partem da idéia já assinalada que nos dois primeiros anos de vida a coqueluche causa mais mortes que o sarampo, a difteria, a paralisia infantil, e a escarlatina. Mas contra estas últimas moléstias, as crianças nascem, em geral, com certa imunidade passiva, transmitida da progenitora pela placenta, o que não acontece com a coqueluche.

As experiências dos autores deram resultados satisfatórios, comprovados pela verificação de anticorpos, comparativamente no sangue da progenitora, antes e depois de vacinada, e em seguida no sangue do cordão umbilical e no sangue da criança. As vacinações foram praticadas no último trimestre, de modo a estar terminada 1 mês antes do parto. Chegaram a injetar um total de 150 bilhões de germes. As reações no adulto são sempre brandas e os autores verificaram que nenhuma influência as injeções causaram sobre a marcha do parto, assim como nem uma só vez observaram parto prematuro. Concluíram que as crianças nasceram imunizadas contra a coqueluche, prometendo nova comunicação depois duma observação cuidadosa de número elevado de crianças nessas condições, nas quais averiguariam, também, quanto tempo persistiam os anticorpos no organismo não só das crianças, como das próprias mães.

*A questão das doses.* — Tem sido muito discutida, últimamente, a questão da dosagem na vacinação pertússica. Vimos que a vacina Sauer é empregada na dose de 7-8 injeções de 1 cc., de modo a se inocular de 70 a 80 bilhões de germes. A vacina precipitada pelo sulfato de alumínio e potássio foi aconselhada em duas doses de 10 bilhões com intervalo de 4 semanas. Mas a tendência é se elevar a dose. E Kendrick<sup>21</sup>, por exemplo, já prefere a vacina precipitada em 3 doses de 10 bilhões, sendo as 2 primeiras com intervalo de uma semana, e a terceira injeção quatro semanas depois. Esta técnica é a que usámos ultimamente. Todavia, não podemos ainda dizer que seja a dose ótima ou se conviria se elevar ainda mais o número de bactérias inoculadas.

*Vacinação combinada.* — Não é novo o uso de diversos antígenos imunizantes injetados simultaneamente. Cada um estimulará a formação dos seus próprios anticorpos. O exemplo mais comum de antígenos mistos na imunização humana é a tríplice vacina tífica-paratífica A e B. E mais recentemente se introduziu o uso com-

binado dos toxóides diftérico e tetânico, com aparente sucesso. É lógico que se pensasse em combinar o toxóide diftérico com a vacina pertússica, ambos tratados pelo sulfato de alumínio e potássio, diminuindo com isso o número de injeções, com grande alívio para as crianças e para a própria família que sente, na maioria, um verdadeiro desassossêgo tóda vez que uma criança se submete a tais tratamentos. Kendrick<sup>22</sup> fêz uma experiência. Tomou 3 grupos de crianças. Num, usou a vacina precipitada padrão, noutro a vacina combinada diftérica-pertússica, tratada pelo sulfato de alumínio e potássio e o terceiro grupo deixou como contrôlo. Três injeções, sendo as 2 primeiras com intervalo de 1 semana e a terceira 4 semanas depois. As reações foram semelhantes às que se verificaram quando se usa a vacina pertússica precipitada sozinha ou o toxóide diftérico precipitado: vermelhidão, endurecimento, dôr passageira e, às vêzes, febre. Verificou pelos processos usuais o aparecimento de anticorpos pertússicos e diftéricos no sangue das crianças vacinadas e imunidade das mesmas contra a coqueluche.

*Conclusão.* — A vacinação preventiva contra a coqueluche atingiu a sua fase decisiva e ninguém mais, sanitaristas, clínicos e os próprios pais, deixarão de usá-la em tódas as crianças, sem serem acoimados de negligentes.

O seu uso sistemático será a barreira firme contra uma doença que, pelas complicações que acarreta, vitima, anualmente, mais crianças do que o sarampo, a difteria, a paralisia infantil, escarlatina e a febre tifoide.

A vacina preferível é a precipitada pelo sulfato de alumínio e potássio, segundo a técnica de Harrisson, Franklin e Bell.

A dose aconselhada é a de 30 bilhões de germes em 3 injeções, as 2 primeiras com intervalo de 1 semana e a terceira 4 semanas depois.

A vacinação das mães durante o último trimestre de gravidez, poderá ser usada.

Tudo indica que a vacina mista usada simultaneamente contra a coqueluche e a difteria entrará para a prática corrente e segura da profilaxia dessas moléstias.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — BORDET, J. e GENGOU, O. — 1906 — *Ann. Inst. Pasteur*, 20: 731.  
— 1907 — *Ann. Inst. Pasteur*, 21: 720.
- 2 — CARVALHO LIMA, J. P. — 1917 — Tese, Faculd. Med. Rio de Janeiro.
- 3 — CHIEWITZ, I. e MEYER, A. H. — 1916 — *Ann. Inst. Pasteur*, 30: 503.
- 4 — CARVALHO LIMA, J. P. — 1932 — *Ann. Paul. Med. Cir.*, 24: 95.
- 5 — MADSEN, T. — 1925 — *Boston M. e S. J.*, 192: 50.
- 6 — SAUER, L. W. — 1933 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 100: 239.
- 7 — SAUER, L. W. — 1933 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 101: 1449.
- 8 — KENDRICK, P. e ELDERING, G. — 1935 — *Am. Jour. Publ. Health*, 25: 147.  
— 1936 — *Am. Jour. Publ. Health*, 26: 8.
- 9 — MILLER JR., J. J. e FABER, H. K. — 1939 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 112: 1145.
- 10 — SAUER, L. W. — 1934 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 102: 1471.
- 11 — LESLIE, P. H. e GARDNER, A. D. — 1932 — *Jour. Hig.*, 31: 423.
- 12 — BORDET, J. e SLEESWYCK — 1910 — *Ann. Inst. Pasteur*, 24: 476.
- 13 — BORDET, J. — 1913 — *Cent. f. Bakt. u. Paras.*, 1 Abt., orig., 66: 276.
- 14 — KRUMWIEDE JR., C., MISHULOW, L. e OLDENBUSCH, C. — 1929 — *Jour. Inf. Dis.*, 32: 22.
- 15 — KRISTENSEN, M. — 1922 — *Com. Int. Ser. de L'Etat Danois*, 13: n.º 2.  
— 1927 — *C. R. Soc. Biol.*, 96: 365.
- 16 — HARRISSON, W. T. e FRANKLIN, J. P. e BELL, J. A. — 1938 — *Publ. Health Report*, 53: 793.
- 17 — HARRISSON, W. T. — 1935 — *Am. Jour. Publ. Health*, 25: 298.
- 18 — BELL, J. A. — 1941 — *Public Health Report*, 56: 1535.
- 19 — SAUER, L. W. — 1941 — *The Am. Jour. Path.*, 17: 643.
- 20 — COHEN, PH. e SCADRON, S. J. — 1943 — *Jour. Am. Med. Ass.*, 121: 656.
- 21 — KENDRICK, P. L. — 1942 — *Am. Jour. Pub. Health*, 32: 615.
- 22 — KENDRICK, P. L. — 1941 — *Jour. Bact.*, 42: 294.