

# CONTRIBUIÇÃO REGIONAL AO TESTE DE GALLI MAININI

## (Com o Bufo paracnemis Lutz)

J. SIMÕES JUNIOR  
Assistente de Fisiologia

O presente trabalho, síntese do que nos serviu de tese ao doutoramento, em nossa Faculdade (Maio de 1951), visa consolidar a adaptação do teste de Galli Mainini (31) ao nosso meio, investigando a capacidade reacional do Bufo paracnemis Lutz à gonadotrofina corionica. Entrosamos para isso o Laboratório de Fisiologia da Faculdade de Medicina da Universidade à Pro-Matre da Bahia, a cujos chefes Profs. A. Novis e Adeodato Filho, rendemos mais uma vez o nosso agradecimento.

I — No esbôço histórico realizado, estudamos com relativa extensão as origens e a evolução dos testes biológicos para o diagnóstico da gravidez. Analisamos vários dêles, em crítica sucinta catalogando-os pelos animais reativos utilizados: ratos, coelhos, cobaios, peixes e principalmente batráquios. Por isso, chegamos à conclusão de excelência do teste de Galli Mainini, que preenche qualidades essenciais ao objetivo visado: simples, rápido, precoce, constante, seguro, econômico e específico.

II — E' natural que nestas circunstâncias buscassemos expôr os fundamentos científicos do método, analisando a atuação da gonadotrofina corionica eliminada pela urina sobre o testículo do sapo, para a obtenção de espermatúria, que serve de ponto de reparo a positividade do teste.

III — Cumpria-nos porém, como ficou dito, investigar a adaptação do teste ao nosso meio, onde inexiste o Bufo

arenarum Hensel, animal reativo usado por Galli Mainini. Tivemos pois que estudar as várias espécies de batráquios já utilizadas em pesquisa semelhante, para dêles colher os informes necessários a consecução do que pretendíamos. Foram estudados de modo geral os Bufonideos, os Ranideos os Leptodactilideos e os Ceratofridideos. Estes últimos foram objeto de investigação particular, prejudicada apenas pela deficiência numérica de animais obtidos. Já o Bufo paracnemis Lutz, por preencher tôdas as qualidades exigidas, permitiu-nos um estudo mais detalhado, quando o analisamos sob aspectos, de sua biologia, de muito nos valendo os trabalhos de Adolpho Lutz (54) e Miranda Ribeiro (60).

IV — BUFO PARACNEMIS LUTZ — Da descrição geral que fizemos da espécie em foco, destacamos o estudo dos seus hábitos, caracteres morfológicos externos e internos, particularmente as glandulas paratoides e paracnemis, e algumas funções, das quais destacaríamos a sexual com suas características no abraço nupcial, pigmentação cutânea, canto do cio, ovulação etc. . . Com isto, visamos particularisar os meios de identificação da espécie e o dimorfismo sexual que apresenta, fatos estes de grande relevância na seleção dos animais em função do teste a ser realizado.

V — TECNICA — 1) *Material*: a) Animal — Utilizamos pois o sapo Bufo paracnemis Lutz, existente em abundância neste Estado, e cuja manipulação embora sem artifícios, mas se observados os devidos cuidados, não faz receiar a natural reação do animal expressa pela secreção de suas multiplas formações glandulares cutâneas. Foram mantidos em cativeiro com facilidade e apesar da sua grande resistência ao jejum, procuramos alimentá-los com pequenos pedaços de carne ou fígado crus introduzidos no esôfago, complementada por insetos que eram atraídos para o tanque-biotério por uma lâmpada de 40 velas, acesa durante a noite. Desta forma conseguimos mantê-los em bom estado de nutrição por períodos longos, sem prejuizo dos resultados obtidos. Empregamos de rotina, dois sapos para cada teste.

b) Urina — Se bem que variem, no particular as opiniões por uma questão de padronização escolhemos sempre urina de primeira micção injetando-os logo em seguida. A principio utilizando a recomendação de Galli Mainini, injetamos apenas 10 centímetros. Posteriormente após alguns insucessos concluimos pela necessidade de aumentar a quantidade para 20 e mesmo 30 centímetros cúbicos, em função do próprio volume corporal maior em media nos Bufo paracnemis do que nos Bufo arenarum que serviram às pesquisas originais. Isto fizemos sem que houvesse qualquer inconveniente para a vida do sapo. Nos casos de rotina, e por assim havermos concluído, dispensamos submeter a urina à processos por alguns autores aconselhados como filtração, concentração, tratamento por substâncias químicas, ajuste de pH, etc. . .

c) Aparelhagem — Valemo-nos apenas de 1 microscopio com aumento de 200 a 500 vezes, uma pipeta comum de 10 centímetros com ponta romba, laminas, laminulas, seringa de 20 a 50 centímetros, e agulhas 30 por 8.

2) *Metodo* — A técnica por nós adotada pouco diferiu da preconizada por Galli Mainini já suficientemente difundida para que a repetíssemos neste breve resumo. (31) Seguimos o seguinte plano: escolha do animal, pesagem, após contenção manual pipetagem de prova, e injeção no saco linfático lateral da quantidade de urina proporcional ao peso do sapo; colocação do animal em viveiro, onde lhe sejam propiciadas condições ótimas de temperatura, arejamento e humidade. A colheita da urina por uma pipetagem foi feita sistematicamente 3 horas após a injeção, sendo o material recolhido em lâmina recoberto por laminula, e levado ao microscópio para comprovação. A positividade afirmava-se quando constata-se presença de espermatozoides no campo não dando-se a leitura feição quantitativa, de vez que já se havia feita a pipetagem de prova. Quando negativa esta primeira leitura era feita então uma segunda 24 horas após a injeção.

VI — RESULTADOS — Sendo tôdas as urinas utilizadas no presente trabalho, provenientes de matriculadas no Serviço de ambulatório de Pro-Matre da Bahia, foi-nos fácil controlar os resultados obtidos confirmando-os ou infirmando-os pela evolução clínica de cada caso por nós acompanhado de perto. Assim foi-nos possível apresentar uma casuística onde figuram 672 testes distribuidos para melhor orientação da seguinte forma:

VII — CASUÍSTICA

Número total de Testes — 672

A — CASOS SUSPEITOS DE GRAVIDEZ — 486 ou 72,32% do total dos testes.

1 — *Resultados positivos confirmados posteriormente* — 405 ou 83,33% dos casos suspeitos, e assim distribuidos:

Amenorréa de dias . . . . .	18	—	4,44%
Amenorréa de 1 mês . . . . .	38	—	9,38%
Amenorréa de 2 meses . . . . .	89	—	22,24%
Amenorréa de 3 meses . . . . .	66	—	16,32%
Amenorréa de 4 meses . . . . .	47	—	11,60%
Amenorréa de 5 meses . . . . .	36	—	8,88%
Amenorréa de 6 meses . . . . .	29	—	7,16%
Amenorréa de 7 meses . . . . .	22	—	5,43%
Amenorréa de 8 meses . . . . .	23	—	5,67%
Amenorréa de 9 meses . . . . .	19	—	4,69%
Amenorréa de 10 meses . . . . .	1	—	0,24%
Gravidez ectópica . . . . .		—	0,98%
Gravidez molar . . . . .	3	—	0,74%

2 — *Resultados negativos* — 81 ou 16,66% do total de casos suspeitos.

a) — Concordantes — 68 ou 70,37% dos negativos.

b) — Discordantes — (FALSO NEGATIVOS) — 13 ou 17,28% do total de negativos ou ainda 1,93% do total de casos.



Dôr abdominal (hipogastrica) . . . . .	9
Cancer (em diversos graus) . . . . .	10
Vaginismo . . . . .	4
Dismenorréia . . . . .	6
Prolapso genital . . . . .	4
Síndrome adiposo genital . . . . .	1
Elefantíase dos grandes lábios . . . . .	1
Sem diagnóstico formado . . . . .	18

\* \* \*

Pelo acima exposto, observamos, que dos 672 testes anotados, somente 13 foram falso-negativos, dando portanto uma percentagem de 98,07% de segurança. Entre os falso-negativos, acreditamos que os 7 casos do 9.º mês, os 3 do 8.º, o do 7.º bem como o do 1.º mês deram tal resultado, devido a baixa concentração de gonadotrofina na urina. Estes resultados confirmam o fato já bastante conhecido de que a quantidade de hormônio diminua consideravelmente nos últimos meses. Quanto ao caso do 3.º mês só podemos atribuir o fracasso a algum fator ligados diretamente ao animal reativo.

Dentre os casos rotulados de suspeitos de gravidez (os da Pró-Matre eram pacientes matriculadas no serviço de Pré-Natal) observamos que estão subdivididos conforme o resultado do teste, dos quais queremos chamar atenção para aquele cujo resultado negativo foi concordante posteriormente. Destes, 29 eram pacientes matriculadas na Pró-Matre e foram transferidas para Ginecologia, as outras 28 restantes, pertenciam a nossa clínica privada sendo porém observadas o suficiente para confirmação do resultado obtido.

De referência agora aos casos ginecológicos, diremos que todos eles foram de pacientes matriculadas no serviço de Ambulatório da Pró-Matre, das quais 13 posteriormente foram transferidas para o serviço de Pré-Natal em vista de ter sido considerada a existência de gravidez em evolução.

## VIII — CONCLUSÕES

Os resultados obtidos, levam-nos a concluir que a reação de GALLI MAININI, é regionalmente de todos os testes Biológicos hormonais usados no diagnóstico precoce da gravidez o melhor, pois reúne tôdas aquelas qualidades requeridas para um teste ideal, isto é: Simplicidade, Economia, Rapidez, Especificidade, Sensibilidade, Segurança, Precocidade e Eficiência no Diagnóstico Diferencial.

1) — *Simplicidade* — Se nos dermos ao trabalho de verificar a técnica dêste teste em confronto com as usadas nos outros, especialmente os de ASCHEIM ZONDEK e FRIEDMAN (por serem os testes biológicos mais usados), não haverá dúvidas de que o teste de GALLI MAININI é mais simples de quantos se têm criado.

2) — *Economia* — O baixo custo do animal reativo, as modestas instalações necessárias para sua conservação, o baixo custo da sua alimentação, e a possibilidade de poder usá-lo várias vezes, representam motivos suficientes para que neste sentido se orientem as nossas preferências.

3) — *Rapidez* — com as anteriores constituem as mais importantes características do teste. Nenhuma reação biológica com uma alta percentagem de segurança, permite-nos obter resultados tão precocemente. Além disto, nos casos de maior urgência, ainda dispomos de meios que permitem a aceleração na obtenção dos resultados.

4) — *Especificidade* — Sem esta condição de segurança, o teste teria comprometido o seu valor, e por isto mesmo foi objeto de particular atenção do seu descobridor, e dos seus continuadores, bastando que se verifique a larga bibliografia existente sôbre o assunto.

Presentemente, porém, ROBINS e PARKER (72), nos Estados Unidos, e MOUSSATCHÉ e colaboradores (61), entre nós, puseram dúvidas sôbre a especificidade do teste, informando que à adrenalina e outras substâncias químicas, também produzem espermatogênese.

De início, queremos referir que os animais usados por ROBINS e PARKER, foram o *Xenopus laevis* Daudin, (batráquio da família Pipidae segundo Nobel, referido por I. MELLO (58), e a *Rana pipiens* (da família Ranidae).

Dos animais usados por MOUSSATCHÉ e colaboradores, encontramos na "Tabela n.º 1" do trabalho, referências a: 39 experimentos com *Leptodactylus ocellatus*, e 4 tentativas negativas com o *Bufo crucifer*.

Assim sendo, constataremos que os resultados positivos não fôram com sapos, nem muito menos da família Bufonidae, à qual pertencem não só o *arenarum* usado por MAININI, como o nosso *paracnemis*.

Ainda que todos pertençam à classe dos batráquios, o primeiro dêles, isto é o *Xenopus laevis* Daudin, é uma espécie que se encontra separada, constituindo uma das famílias da sub-ordem dos Aglossos (68), enquanto que os outros dois *Leptodactilideos* ainda que pertencendo à mesma sub-ordem que os *Bufonideos*, acham-se fundamentalmente separados destes, pois com outra família constituem uma sub-divisão desta sub-ordem, que recebe o nome do *Firmisternos* (68). Para concluir, diremos que as diferenças são tão fundamentais, que mesmo um leigo poderá fazer diferença entre um sapo e uma rã, não somente pelo seu aspecto como pelos seus habitat etc.

No fim mesmo do trabalho de MOUSSATCHÉ, lemos: "Concluimos, dos resultados acima, provocar a adrenalina na *Rã*, em doses minimas uma eliminação de espermatozoides". E mais adiante: "a diferença de comportamento do *Crucifer*, por nós constatada, bem como do *B. Arenarum*, e *B. Fowleri* constatada por outros autores, merece estudo especial". Conclusões estas que a nosso vêr não modificam em absoluto a aceitação da especificidade do teste com *bufonideos*".

Podemos verificar ainda que GALLI MAININI (31), HOUSSAY (43), e HUTZ (41), já haviam antes investigado a ação da adrenalina, empregando até mesmo doses elevadas sem contudo obter resposta. Além desta, muitas outras subs-



tâncias foram experimentadas sem determinar espermatogênese, conferindo portanto especificidade ao teste.

Finalmente, ao termos conhecimento do assunto, realizamos uma centena de experimentos, seguindo as mesmas técnicas e utilizando as mesmas doses dos autores citados, sem contudo obter espermatogênese.

Com a elevação das doses, apesar da grande resistência que têm estes batráquios à injeção de doses elevadas de adrenalina, chegamos a produzir a morte (4 miligramas ou mais), e não obtinhamos espermatogênese. Afastamos assim qualquer dúvida que pudessemos ter sobre a especificidade do teste de MAININI, utilizando-se Bufonídeos.

5) — *Sensibilidade* — Ainda que esta qualidade esteja relacionada diretamente com a quantidade de gonadotrofina contida na urina, não nos resta a menor dúvida de que é uma qualidade ponderável, quando se trata de mostrar as vantagens deste teste, pois a quantidade de gonadotrofina existente em cinco centímetros ou mesmo vinte centímetros cúbicos de urina é muito pequena para impressionar os animais reativos utilizados nos outros testes biológicos comumente empregados.

6) — *Segurança* — As percentagens de resultados certos, tanto negativos como positivos, obtidos por nós e por toda a enorme série de experimentadores que nos precederam, conferem-lhe uma absoluta segurança.

7) — *Precocidade* — Mesmo em casos de amenorréias as mais recentes, os resultados patentearam-se os mais promissores. Casos houve em que ainda não se havia verificado a amenorréia, e já o diagnóstico nos surpreendia com o seu resultado positivo, confirmado posteriormente.

8) — *Eficiência no Diagnóstico diferencial* — Torna-se um precioso auxiliar não só na elucidação de dúvidas em casos de tumores abdominais, como principalmente, pela sua presteza, no diagnóstico da prenhez ectópica. E no controle do evolucionar de uma gravidez molar prevenindo-nos do aparecimento do temível corioepitelioma.

O Bufo Paracnemis, LUTZ, por nós utilizado como animal reativo, demonstrou ser tão bom quanto o Bufo Arenarum, Hensel.

Regionalmente esta reação se nos afigura, pois, como sendo o teste ideal especialmente pela relativa facilidade que temos de conseguir e conservar os sapos, simplicidade da técnica, e segurança dos resultados.

Sendo, porém, a melhor, não devemos, contudo, dela esperar uma infalibilidade absoluta, pois, como teste biológico que é, oferece uma percentagem, ainda que mínima, de êrro.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALVES, ERNANI S.: — “Nova reação biologica para o diagnóstico precoce da gravidez”. — Anais Paulistas de Med. e Cirur., 1949, LVII, 177.
- 2 — BACH, I., SZMUK, I., ROBERT, L. KLINGER, B.: — “Pregnancy Tests with Rana esculenta”. — Lancet, 1949, 256, 124.
- \* 3 — BACH, I., SZMUK, I.: — “Male toads in Pregnancy Testes”. — Lancet, 1949, 257, 218.
- \* 4 — BEDOVA, J. M., PLAZA, F.: — “El macho de la Rana Esculenta en la valoración de las gonadotrofinas” — Rev. Espanola de Obst. Y Ginecol., 1949, 8, 173. (Excerpta Medica, 1950, 4, 59).
- 5 — BELTRÃO JUNIOR, F.: — “Diagnóstico Biológico da Gravidez Normal e Patológica”. Livraria Atheneu — Rio de Janeiro, 1942.
- 6 — BHADURI, J. L., BARDHAN, N. B.: — “Male Frogs as toads as Test animals for early pregnancy and certain Related Conditions”. — Science, 1949, 109, 517.
- \* 7 — BICKENBACH, W., PAUL, H.: — “Eine Schwangerschaftsreaktion Mit Einheimischen maennlichen Wasserfroeschen (Rana esculenta L.) — “Klinische Wochenschrift, 1950, 28, 79-80.
- 8 — BIENIARZ, J. — “The Male Frog (Rana esculente) Pregnancy Test and its Clinical Application”. — Lancet, 1950, 258, 299. E La Semana Medica, 1950, 2937, 702.
- 9 — BLANCHARD, O., BRETTO, B.: — “Experiencia con la reacción de Galli Mainini”. Anales de La Clínica Ginecológica y Cirugía Abdominal del Hospital Ramos Mejia, (Sala 8) 1946-47, 1, 176.
- \* 10 — BOCOBO, F. C., LAWAS, L., ARAGON, G. T., SILVA, J.: — “Use of Male Philippine Rana Vitrigera Wiegmann in diagnosis of pregnancy”. — Philip. Med. Assoc. Journ., 1949, 25, 259.
- 11 — BRODY, H.: — “The use of the Male Leopard Frog (Rana Pipiens) as a Pregnancy Test Animal”. — Amer. J. Obst. And Gynecol., 1949, 57, 581.
- 12 — BURGOS, M. H.: — “Estudio histológico del Testículo del sapo hipofisoprivo. — Rev. Soc. Argent. Biol., 1949, 25, 206.
- 13 — CALATRONI, C., RUIZ, V., y Di. PAOLA, G.: — “Endocrinología sexual Feminina”. — Editorial. “El Ateneo” — Buenos Aires, 1947.

- 14 — CARINI, A., CUBONI, E.: — “Emprego dos machos da “Rana Esculenta” para diagnostico Precoce da gravidez”. — Arquivos de Biologia, 1949, n. 291, 73.
- 15 — CASTRO BARBOSA, N. de: — “Reação de Galli Mainini”. — Rev. Bras. de Med. 1950, n. 7, 489.
- 16 — CASTRO BARBOSA, N. de: — “Contribuição ao Estudo da Reação de Galli Mainini”. — Rev. Bras. de Med. 1948, n. 6.410.
- 17 — CASTRO BARBOSA, N.: — “Reação de Galli Mainini — Deficiencia de hormonio corial”. — Rev. Bras. Med. 1950, 7, 489.
- 18 — CASTRO BARBOSA, N. de: — “Reação de Galli Mainini( casos clinicos)” Rev. Bras. de Med. 1949, n. 10, 703.
- 19 — CIRNE, O.: — “Um estudo de conjunto sôbre testes para diagnostico da gravidez”. An. Bras. de Gine. 1939, VII, 137.
- 20 — CLAUDERG, O. — “Las hormonas sexuales femininas” Editorial Labôr S. A. 1935.
- \* 21 — DE ROBERTIS, E.: — “Ovulacion del sapo Bufo arenarum Hensel” — Rev. Soc. Argent. Biol. — 1947, 23, 207.
- 22 — DE ROBERTIS, E., BURGOS, M. H., y BREVTER, E.: — Acion de la Hipofisis sôbre la celula de Sertoli y el processo de expulsion de los espermatozoides en lon Anfibios”. — Rev. Soc. Arg. Biolo. 1945, 21, 369.
- 23 — FRANKEL, WALTER K.: — “A Obstetricia atravez dos tempos”. — Actas Ciba, 1935, n. 8.
- \* 24 — FRASSINETTI, A., LANZA, B.: — “Um novo Test Biologico perla diagnosi precoce di Gravidanza; il maschio di Rana esculenta L”. — La Settimana Medica, 1948, 36, 372.
- 25 — FERRARI, R. A., PASTORI, A. A., LEDESMA, D. A.: — “Nuestra experiencia con la reaccion de Galli Mainini”. — Obstetricia y Ginecologia Latino-Americanas, 1947, 5, 562.
- 26 — FIGUEROA CASAS, P., BELIZAN, L., STAFFIERI, J. J.: — “La reaccion de Galli Mainini en el diagnostico precoz y diferencial del embarazo”. El Dia Medico, 1947, 19, 1313. Rev. Assoc. Med. Argent., 1947, 61, 596.
- \* 27 — FRAZER, J. E. D., WOHLZOGEN, F. X.: — “Male Toads in Pregnancy Tests”. — Lancet, 1949, 257, 306.
- 28 — GALLI MAININI, C.: — “Reacción dagnostica del embarazo en la que se usa sapo macho como animal reativo”. La Semana Medica, 1947, 54, 337.
- 29 — GALLI MAININI, C.: — “Reacción diagnostica del embarazo y acción de las gonadotrofinas en el sapo macho”. — La Semana Medica, 1947, 54, 447.

CONTRIBUIÇÃO REGIONAL AO TESTE DE GALLI MAININI

- 30 — GALLI MAININI, C.: — “Reacción diagnóstica del embarazo con el sapo macho”. (Resumen de la desertación). — *Obstetricia y Ginecología Latino-Americanas*, 1947, 5, 555.
- 31 — GALLI MAININI, C.: — “El diagnostico del embarazo com batracios machos”. Edittorial Impaglione Arténica, Buenos Aires, 1948.
- 32 — GALLI MAININI, C. — “Determinacion cuantitativa de la Gonadotropina corionica urinaria en el sapo macho”. *Rev. Soc. Argent. Biol.* 1949, 25, 159.
- 33 — GALLI MAININI, C.: — “Influencia de la temparetura, luz, estacion y dosis en la respuesta del sapo macho”. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1949, 25, 159.
- 34 — GANDOLFO HERRERA, R., SAURI, J.: — “Valor atual de las reacciones gravidicas para el diagnostico de embarazo”. *Obstet. y Ginecol. Latino-Americanas*, 1947, 5, 568.
- 35 — GONZALEZ TORRES, D. M. — “A Bufo-reação no diagnóstico da gravidez, ou reação de Galli Mainini com o sapo”. *Arquivos de Biologia*, 1949, 33, 47. *Rev. do L.P.B.*, 1949, 290, 47.
- 36 — GORI, R. M.: — “Pruebas efetuadas durante la estacion invernial con la reaccion de Galli Mainini”. *Anales del Inst. Maternidad y Asistencia Sicla. “Prof. U. Fernandez”*. — 1947, 9, 156.
- \* 37 — GVARESCHI, G., e GAZZANO, A.: — “Ricerca sulla reazione de Galli Mainini per la disgnosis de gravidanza su macchie di sangue”. — *Min. Ginec.*, 1949, Novembro. Vol., n. 2, pg. 67).
- \* 38 — HAINES, M., FERREIRA, H. P.: — “Pregnancy Test using a European Male Toad”. — *Nature*, 1949, 164, 668.
- 39 — HEREDIA, J. L.: — “Nuestra experiencia con la reaccion de Galli Mainini”. — *El dia Medico* 1948, 56, 2139.
- \* 40 — HINGLAIS, H. AND HINGLAIS, M.: — “Rana and Bufo test of pregnancy”. — *Presse Medicale*, 1950, 58, 95. *Jour. Amer. Med. Assoc.*, 1950, 143, 1121.
- 41 — HOUSSAY, B. A., LASCANO GONZALEZ, J. M.: — “Relaciones entre la hipofisis y el Testiculo en el sapo”. — *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1929, 5, 77.
- 42 — HOUSSAY, B. A.: — “Ovulacion del sapo Bufo Arenarum, Hensel”. *Rev. Soc. Arg. Biol.*, 1947, 23: 114, 176, 186, 239, 275.
- 43 — HOUSSAY, B. A., e COLABORADORES: — “Fisiologia Humana”. — *El Ateneo*, Buenos Aires, 1946, 1950.
- 44 — HOUSSAY, B. A.: — “Expulsion de espermatozoides por acción hipofisaria en el sapo”. *Rev. Soc. Argent. Biol.*, 1947, 23, 114.

- \* 45 — HOUSSAY, B. A.: — “Sensibilidad comparada de la coneja y del sapo macho a la gonadotropina corionica”. *Rev. Soc. Argent. Biol.* 1949, 25, 22.
- \* 46 — HUGHES, M. N. — “Male-toad pregnancy test”. — *Lancet*, 1949, 257, 599.
- 47 — HUTZ, A.: — “Estudo da reação biologica de Galli Mainini. (Sua aplicação no diagnostico precoce da gravidez)”. Tese, Fac. Med. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil, 1947.
- 48 — INCLAN SANDOVAL, A., GARCIA, O., COLINA J., BARRIOS, R.: — “Diagnóstico precoz del embarazo en tres horas, usando como animal reativo el macho de la Rana Catesbeina”. *Medica, Cuba*, 1948, 7, 62, *Rev. Cubana Labor Clin.*, 1948, 2, 191.
- 49 — JAVEWARDENE L. G.: — “Male-toad test for pregnancy”. *Lancet*, 1950, 258, 184.
- 50 — KLOPPER A., FRANK, H.: — “The use of the English male toads in pregnancy tests”. — *Lancet*, 1949, 257, 9.
- 51 — LAPORTE, J., GENOVER, E.: — “The male-toad test for pregnancy”. — *Lancet*. 1949, 256, 42.
- 52 — LIMA, O. R., PEREIRA, O. G.: — “Diagnostico biologico da gravidez utilizando o Bufo Marinus Macho”. *Anais Brasileiros de Ginecol.*, 1947, 24, 245.
- 53 — LOBO, F. B. — “Ensaio sôbre uma nova reacção para o diagnóstico precoce da gravidez”. *An. Bras. Gyn.*, 1936, 1, 337.
- 54 — LUTZ, A.: — “Notas sôbre especies brasileiras do genero Bufo”. *Museo do Instituto Oswaldo Cruz*, 1934, Tomo XXVIII: III.
- \* 55 — MANGER, J.: — “Investigations on the problem of sex diagnosis from the urine of pregnancy women”. — *Deutsche Med. Wochscht*, 1933, 59, 885. *Year Book of Obstetrics and Gynecology*, 1933, *Sur. Gynec. and Obst.*, 19, 1, 51.
- \* 56 — MARACHY, F. A., GIANETTO, J. C.: — “Diagnostico del embarazo, Adaptacion de la Reaccion de Galli Mainini al sapo Vulgar Francés — *La Presse Medicale*, 12-8-1950 pg. 892 e Suplemento de *La Sem. Med.*, 1951, 2974, 8.
- 57 — MAYER, H. E., GORI, L., FLORES, J. R. — “Contribucion a la reacion de Galli Mainini utilizando el Bufo paracnemis Lutz”. *Univ. Nac. Litoral, Fac. Agricultura, Ganadeira e Ind. Afines. Comission de Publicaciones y Extension Universitária*, 1948.
- 58 — MELLO, M. I.: — “Diagnostico precoce da gravidez pela reação de Mainini em alguns anfibios brasileiros. *O Hospital*, 1948, 33, 57.
- 59 — MERCHANTE, F. R.: — “Contribución al diagnóstico del embarazo por la reacion de Galli Mainini”. — *Obst. y Ginecol. Latino-Americanas*, 1947, 5, 546.

- 60 — MIRANDA RIBEIRO, A. — "Gymnobatrachios (Anura) Brasileiros" Archivos do Museu Nacional — Rio de Janeiro, 1926 — Vol. XXVII.
- 61 — MOUSSATCHÉ, H., FUCHEZ, J. e ALVARES PEREIRA, N.: — "Sôbre a reação de Galli Mainini positiva pela injeção de adrenalina". — Ciencia e Cultura, 1950, 2, 115.
- 62 — NG CHUNG HIN, A., WEBB, J. L.: — "Male-toad pergnancy test". Lancet 1949, 257, 539.
- 63 — PERRIER, E. — "Traité de Zoologie, Fasc. VII — Les Batraciens" Masson et Cie., Editeurs, Paris, 1925.
- 64 — PINTO, R. M., SUER BOERO, H. J. — "Contribución al estudio de la reacción de Galli Mainini". Obst. y Ginecol. Latino-Americanas, 1947, 5, 556.
- 65 — PINTO, R. M., SUER BOERO, H. J. — "Consideraciones sôbre la reaccion de Galli Mainini". — La Prensa Med. Arg., 1948, 35, e La Sem. Med. (Anuario Julio-1947 — Janeiro 1948, 71.
- 66 — PEREZ, M. L. — "Compendio de Clinica Obstetrica". Lopez y Etchegoyen, S. R. L., Buenos Aires, 1949.
- 67 — PEREIRA, A. — "A reação de Galli Mainini no diagnostico biológico da gravidez". An. Paulistas Med. Cirur., 1949, 57, 143.
- 68 — PETSCH, W. — "Zoologia". — A Encardenadora S. A.". — Rio de Janeiro, 1936.
- \* 69 — POU DE SANTIAGO, A. — "Uma nueva reacción biológica para el diagnóstico precoz de la gestación. La reaccion de Galli Mainini". — Arch. Uruguayos Med. Cirurgia y Especialidades, 1947, 30, 457, (Biological Abstracts, 1949, 23, 757).
- \* 70 — RAMIREZ OLIVELLA, J. — "Los batraquios en el diagnostico del embarazo". — Ginec. y Obst. de Mexico, Março-Junho, 1949, Vol. IV, Ano IV, n. 2-3, pag. 80.
- 71 — ROBBINS, S. L., PARKER, F. (Jr.). — "The reliability of the male North American frog (*Rana pipiens*) in the diagnosis of pregnancy". Endocrinology, 1948, 42, 237.
- \* 72 — ROBBINS, S. L., and PARKER, F. (Jr.) "The reaction of male frogs to Epinephrine" Endocrinology 1949, 44, 384.
- 73 — ROBBINS, S. L., and PARKER, F. (Jr.). — "The use of the male North American Frog. (*Rana pipiens*) in the diagnosis of pregnancy". Endocrinology, 1948, 42, 237.
- 74 — RODRIGUES LOPES, M.: — "Nuestra experiencia con los metodos biológicos para el diagnóstico de la gravidez." Obstetr. y Ginecol. Latino Americanas, 1947, 5, 572.

- 75 — RUDA VEGA, J. R., RUDA VEGA, M. C. L. de MUSCATELLO, J. — “Contribucion al estudio de la reaccion de Galli Mainini”. *El Dia Médico*, 1949, 17, 719.
- 76 — SALA S. L., DONATO, V. M.: — “Nuestras observaciones de valores anormales en las reacciones biológicas del embarazo”. *Obst. y Gine. Latino Americanas*, 1947, 5, 575.
- 77 — SALA, S. L., JACHESKY, L. COLETTA, C. A. — “Reaccion de Galli Mainini; contribucion casuistica”. — *Obst. y Ginecol. Latino-Americanas*, 1947, 5. 561.
- 78 — SALLES, A. DE A., CENZO, M. A. de, e BAIOCCHI, O.: — “O teste de Palli Mainini com o “Bufo Marinus”. Seu emprêgo na Clinica em Conjunto com o Teste de Frank”. — *Med. Cirurg. Farm.*, 1949, 160, 445.
- 79 — SERTÁ, S. L.: — “O diagnostico biologico da Gravidez”. Editorial Labor do Brasil S. A., 1944.
- 80 — VASCONCELLOS, E. C., LEÃO, A.: — “Utilização do sapo “Bufo marinus” no diagnostico biologico da gravidez (Nota previa). — *Rev. Brasileira de Biol.* 1948, 8, 61, *Resenha Clin. Cient.*, 1949, 7, 178.
- 81 — VOTTA, ROBERTO A.: — “Gonadotropina Corionica”. — “El Ateneo” — Buenos Aires — 1946.

\* Estes trabalhos não foram consultados no original.