Dr. Darcy Candiota Xavier

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA

Reação de Wassermann no sôro de leite humano

(Contribuição para o seu estudo)

THESE INAUGURAL

Approvada com distincção

COMMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Raymundo Vianna
Prof. Dias Campos (Presidente)
Prof. Raul Moreira

1918

DO GLOBO - Barcellos, Bertaso & C. - Porto Alegre
ta Maria, Cruz Alta e Uruguayana

ED
S125
3r
918

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

THESE

apresentada em 2 de Dezembro de 1918 á

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

e defendida em 11 de Janeiro de 1919

pelo

Dr. Darcy Candiota Xavier

Natural do Rio Grande do Sul,
nascido a 20 de Outubro de 1897, filho legitimo de Feliciano I. Xavier
e de Dª Jovelina C. Xavier

(Approvada com distincção)

DISSERTAÇÃO:

Reação de Wassermann no sôro de leite humano

(Contribuição para o seu estudo)

Cadeira de Pathologia Geral

Trabalho do Instituto Oswaldo Cruz de Porto-Alegre

1918

Oficinas Gráficas da LIVRARIA DO GLOBO — Porto Alegre

Filiaes: Santa Maria, Cruz Alta e Uruguayana

Bib.Fac.Med.UFRGS

T-1022

Faculdade de Medicina de Porto Alegre

Director: Prof. Sarmento Leite
Vice-director: Prof. Serapião Mariante
Secretario: Prof. Dias Campos

CORPO DOCENTE

Cadeiras	Professores
Physica medica	Ney Cabral (interino)
Chimica medica	C. Fischer
Historia natural medica	Sarmento Barata
Histologia	Marques Pereira
Anatomia descriptiva	Moysés Menezes
Physiologia	Sarmento Leite
Microbiologia	Fabio Barros
Clinica propedeutica medica	Pereira Filho (int.º)
Clinica propedeutica cirurgica	Plinio Gama (interino)
Pathologia geral	G. Blessmann (subst.º)
Anatomia e physiologia pathologicas	Mario Totta
Pharmacologia e arte de formular	Gonçalves Vianna
Pathologia cirurgica	Paula Esteves (int.º)
Clinica cirurgica	Diogo Ferraz
Clinica dermatologica e syphiligraphica	Frederico Falk
Clinica ophtalmologica	Arthur Franco
Clinica medica	Ulysses Nonohay
Anatomia medico-cirurgica e operações	Victor de Britto
Therapeutica	Thomaz Mariante (int.º)
Pathologia medica	Aurelio Py
Clinica pediatrica medica, hygiene infantil	Octavio de Souza
Clinica pediatrica cirurgica e orthopedica	Arthur Franco (int.º)
Clinica oto-rhino-laryngologica	Dias Campos
Hygiene	Alberto de Souza
Medicina legal	Gonçalves Carneiro
Clinica obstetrica	Nogueira Flores
Clinica gynecologica	Julio Velho (interino)
Clinica neurologica	Velho Py
Clinica psychiatrica	Annes Dias
Pathologia e therapeutica dentarias	Freire Figueiredo
Clinica de prothese	S. Mariante
Clinica estomatologica	Luiz Guedes (interino)
	Luiz Guedes
	Cirne Lima
	F. Trindade
	J. Paranhos

Substitutos

5.ª secção	Fróes da Fonseca
7.ª "	Freitas de Castro
10.ª "	Martim Gomes
12.ª "	Guerra Blessmann
15.ª "	Raul Moreira
Em disponibilidade	Mario Bittencourt

Professor jubilado

Carvalho de Freitas.

Professores honorarios

Carlos Barboza e Olinto de Olveira.

NOTA — A Faculdade não aprova nem reprova as opiniões emittidas nas theses pelos seus autores.

DE MEDICINA
UFRGS-HCPA
Chamada;
K32
1918
Tombo; 394
18.11.92
Obra;

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

MED 05300564
T
WS125 X3r 1918

[000324987] Xavier, Darcy Candiota. Reação de Wassermann no sôro de leite humano : contribuição para o seu estudo. Porto Alegre : Globo, 1918. 61 p.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

PREMISSAS

Senhores professores

Querer-vos encarecer o valor da reação de Wassermann seria superfluo, o uso quotidiano que della fazeis é o melhor expoente do alto conceito em que a tendes.

Aliás o diagnostico serologico da syphilis é bem merecedor de vossa attenção.

O quanto com elle foram enriquecidos nossos conhecimentos que antes dos estudos de Wassermann se resumiam apenas ás lesões lueticas superficiaes e algumas visceraes, a transformação completa soffrida por alguns capitulos da pathologia, vós melhor que o autor destas linhas o sabeis.

Hoje já não é só medico que a ella recorre, o proprio leigo muitas vezes exige seu «exame de sangue» com o fim de saber se é ou não um syphilitico.

Se bem que a concordancia quanto ao seu valor pareça estabelecida, outrotanto não se dá no que diz respeito a sua intrepretação.

Assim para uns, reação positiva é o indicio certo de syphilis, a negativa significando isenção absoluta.

Outros, collocando-se no extremo opposto porque a julgaram falha em tal ou tal caso, não a consideram digna de sua confiança e como que um embuste scientifico.

Ambos esquecem-se de que a reação de Wassermann não é senão um symptoma, symptoma, porém, como diz Leredde, que por si só é uma affirmação.

Toda a questão nestas apreciações erroneas está na ignorancia da parte de alguns dos methodos empregados em serologia.

A. R. W. é sensibilissima e innumeras são as causas de erro capazes de levar a um resultado falso.

Umas dependentes do proprio doente, outras do laboratorio.

Entre as primeiras estão as varias molestias e estados capazes de levar a fixações não especificas que aliás com os aperfeiçoamentos de technica bem raras e faceis de distinguir se tornaram ; o uso do alcool, produzindo reações negativas falsas, etc.

Todas estas causas sómente o medico pelo exame acurado de seu paciente poderá evitar.

As devidas ao laboratorio são aquellas provenientes de uma imperfeição do processo em uso, de uma informação deficiente dada por este ao clinico.

São vulgares os resultados contradictorios fornecidos para um mesmo sôro por serologistas abalizados.

Não é que a R. W. seja falha, não é que ella seja mal praticada ; é a diversidade dos methodos empregados, uns mais outros menos precisos, a variabilidade dos antigenos que produzem essa confusão capaz de levar áquelles que não estão a par destas questões a um maior ou menor descredito.

O medico não póde prescindir do serologista, nem este d'aquelle.

Entre os dois deve haver antes uma relação intima e se o experimentador necessita da opinião do clinico sobre o sangue que lhe confia ao exame, para avaliar as qualidades especificas de seu antigeno, por outro lado elle tem o dever de informar qual a especie desse antigeno bem como do methodo que emprega.

A qualidade do antigeno é em verdade o factor maximo destas discordancias e bem o vereis demonstrado no caso de L. Keyes que vos vamos relatar.

Tendo examinado 40 pacientes de um hospital de tuberculosos em que a reação de Wassermann tinha sido positiva, 30 apresentavam signaes certos ou provaveis de syphilis e 10 clinicamente nenhuma suspeita podiam trazer sobre a molestia.

O sangue destes 10 sendo novamente examinado, o laboratorio em que se tinha feito o exame anterior (com um antigeno alcoolico) novamente os deu por positivos; um outro empregando 2 antigenos differentes, obteve para um antigeno cholesterinizado, 4 positivos e 6 negativos e com um antigeno lipoide, um positivo, um duvidoso e 8 negativos.

Doutra parte a diversidade dos methodos em uso é capaz de levar a identicos resultados, o maior ou menor rigor na titulagem e ajustamento dos constituintes sendo por si só já o sufficiente para fazer variar o gráo de hemolyse.

São principalmente as reações positivas fracas, as devidas a casos de syphilis latentes e tratadas, aquellas nas quaes mais vezes se observa o que acabámos de referir.

Por essas razões deve o serologista informar ao clinico qual o methodo e antigeno usados a par do resultado da reação, pois só a este será possivel avaliar o seu valor.

Eis o motivo, senhores professores, porque no presente estudo começamos por vos expôr os dois processos empregados.

Não temos em vista senão estudar a pratica da reação de Wassermann no sôro de leite, a cujo respeito foi apresentado pelo Sr. C. Marçal, da Maternidade das Laranjeiras do Rio de Janeiro, interessante trabalho ao Congresso Medico Paulista. (Annaes do Cong. Med. Paul. 1918 — Vol IV Pg. 289).

A importancia que teria o uso do sôro lacteo em vez do sanguineo, admiravelmente defendida pelo autor do trabalho a que alludimos, não nos cabe repetir aqui, vós bem a comprehendeis.

A puncção venosa nem sempre sendo facil, as mais das vezes repugnando ao paciente quer por sua pusillanimidade quer por ser em verdade um pouco dolorosa, faria dar-se sempre que possivel a predileção ao uso do leite.

Antes, porém, de terminar estas considerações sejanos permittido externar nossa gratidão ao Dr. Carlos Geyer pelo precioso auxilio que nos prestou na parte experimental ; ao Prof. Dr. Guerra Blessmann, fornecendo-nos excellentes dados bibliographicos ; nosso collega Joaquim Rache Vitello e a todos mais que nos quizeram prestar sua ajuda.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

CAPITULO I

Processos utilisados

Nesta parte de nosso modesto trabalho destinado á relação dos processos empregados, cedemos a palavra ao Sr. C. Marçal, transcrevendo o que a respeito se encontra nos referidos annaes.

METHODO ADOPTADO POR C. MARÇAL

O processo que usamos foi o methodo allemão que habitualmente empregamos no Laboratorio da Maternidade das Laranjeiras e no Laboratorio Bacteriologico da Directoria Geral da Saude Publica. Empregamos sempre na reação um antigeno que preparamos com figado de feto syphilitico; este antigeno o preparamos e dosamos nos citados laboratorios. Preferimos este antigeno ao de coração de boi com cholesterina por termos obtido com elle resultados mais satisfactorios.

Sómente empregamos o nosso antigeno depois que pela sua titulação sabemos não impedir a hemolyse até lá, que é o limite de um bom antigeno.

A Reação de Wassermann segundo o methodo que usamos: processo allemão

A reacção de Wassermann é feita em 2 tempos: o 1º passa-se em 1 hora; o 2º em 2 horas sendo ambos ao B. M. á temperatura de 37°.

Sempre que fazemos a reação, sejam quantas forem, collocamos em o nosso supporte, além dos tubos de reação (que são 5), mais 4, que serão os testemunhos geraes de toda a reacção; são elles:

o 1º testemunho do antigeno
2º » » complemento
3º » » sôro-hemolytico
4º » da agua physiologica

Para fazermos a reação, tomamos para cada uma 5 tubos e nos servimos deste 5.º tubo para testemunho do sôro que examinamos.

Technica da reação

Tomamos para cada reação 5 tubos e indifferentemente ao numero das reações, tomamos sempre mais 4 que são os testemunhos geraes.

Collocamos em ordem os nossos tubos e começamos a distribuir:

1º —O antigeno usando de uma pipeta de 1 cc. graduada em decimos de cc.

A distribuição é feita do seguinte modo:

No 1º tubo	0,2
« 2º tubo	0,2
« 3º tubo	0,1
« 4º tubo	0,1

No 5º tubo, que é o testemunho do sôro que examinamos, não collocamos antigeno.

Levamos agora a nossa pipeta ao 1º tubo dos testemunhos geraes; que é o testemunho do antigeno e nelle collocamos 0,4 de antigeno. Feita a distribuição do antigeno, passamos á distribuição do sôro que examinamos usando de uma pipeta para cada sôro. No nosso caso o sôro que distribuimos é o *sôro do leite.*

Esta distribuição é feita na seguinte dosagem, usando-se de uma pipeta de 1 cc. graduada em decimos de cc.

no	1.º	tubo	collocamos	0,2	de	sôro
»	2.º	»	»	0,1	»	»
»	3.º	»	»	0,2	»	»
»	4.º	»	»	0,1	»	»
»	5.º	»	»	0,4	»	»

BIBLIOTHECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

Este 5º tubo será o testemunho do sôro que examinamos.

O sôro do leite é empregado na reação sem que préviamente tenha sido inactivado, porquanto sabemos ser elle desprovido de complemento.

Seguidamente passamos a distribuir em todos os tubos da reação e nos dois primeiros testemunhos geraes, 1 cc. de complemento de cobaya diluido ao decimo, isto é:

1 cc. de complemento (sôro sanguineo de cobaya) mais 9 cc. de agua physiologica a 8,5 por litro.

O 2º tubo dos testemunhos geraes ficará sendo então o testemunho do complemento.

Feito isto levamos os nossos tubos ao B. M. á temperatura de 37º e esperamos 1 hora.

E' este o primeiro tempo da reação.

Passado este tempo, distribuimos em todos os tubos da reação e nos tres primeiros testemunhos geraes, 1 cc. de sôro hemolytico diluido de accordo com o titulo obtido em sua dosagem.

O 3º tubo dos testemunhos geraes ficará então sendo o testemunho do sôro hemolytico.

Seguidamente distribuimos em todos os tubos, sem excepção 1 cc. cubico de globulos de carneiro diluido a 5°/₀

O ultimo tubo dos testemunhos geraes constituirá então o testemunho da agua physiologica. Finalmente para que tenhamos em todos os tubos um volume egual, que será de 3,4 em cada um egualamos todos com agua physiologica do seguinte modo:

NA REAÇÃO:

No 1.º tubo	----------	0
« 2.º «	----------	0,1 de agua phys.
« 3.º «	----------	0,1 » » »
« 4.º «	----------	0,2 » » »
« 5.º «	----------	0

NOS TESTEMUNHOS GERAES:

No 1.º o do antigeno	----------	0
« 2.º o « complemento	----------	0,4
« 3.º o « sôro hemolytico	----------	1,4
« 4.º o da agua physiologica	----------	2,4

Levamos agora os nossos tubos novamente ao B. M. a 37° e esperamos 2 horas.

Este é o segundo tempo da reação.

Terminado este tempo temos prompta a nossa reação e passamos então a fazer a leitura dos seus resultados.

Primeiramente lemos os 4 testemunhos que se devem apresentar do seguinte modo:

o 1.º o do antigeno ---------- e o 2.º o do complemento -------	Hemolysados
o 3.º o do sôro hemolytico ------ e o 4.º o da agua physiologica---	Não hemolysados

Passamos depois ao 5º tubo de cada reação, isto é, ao testemunho do sôro que examinamos e o devemos encontrar sempre hemolysado.

Uma vez feitas todas estas observações passamos a lêr a reação nos quatro tubos que restam a cada reação.

RESULTADO:

Ha hemolyse ..... Reação negativa
Não ha hemolyse ..... Reação positiva

consideramos para ligeira hemolyse a reação fracamente positiva.

Segue-se um quadro synoptico resumindo a technica da reação.

REAÇÃO DE WASSERMANN

REAÇÃO

Numero dos tubos	Antigeno	Sôro suspeito	Complemento		Sôro hemolytico	Globulos a 5%	Agua phisiologica		Leitura
1	0,2	0,2	1cc	B. M. a 37º 1 hora	1cc	1cc	—	B. M. a 37º 2 horas	?
2	0,2	0,1	1cc		1cc	1cc	0,1		?
3	0,1	0,2	1cc		1cc	1cc	0,1		?
4	0,1	0,1	1cc		1cc	1cc	0,2		?
5	—	0,4	1cc		1cc	1cc	—		Hemolysa
TESTEMMNHOS GERAES									
T.A. 1	0,4	—	1cc	B. M. a 37º 1 hora	1cc	1cc	—	B. M. a 37º 2 horas	Hemolysa
T.C. 2	—	—	1cc		1cc	1cc	0,4		Hemolysa
T.S.H.3	—	—	—		1cc	1cc	1,4		Não hemolysa
TH²0.4	—	—	—		—	1cc	2,4		Não hemolysa

(Para maior uniformidade tomamos a liberdade de substituir o eschema de reação apresentado pelo autor, pelo quadro acima.)

1º T. A. Testemunho do antigeno.
2º T. C. Testemunho do complemento.
3º T. S. H. Testemunho do sôro hemolytico.
4º T. H^2 O. Testemunho da agua physiologica.

PARTE PRATICA POR NO'S FEITA NO LABORATORIO DA MATERNIDADE DAS LARANJEIRAS DOS RESULTADOS A QUE CHEGAMOS

Colhemos o leite em um vaso esterilisado, o centrifugamos afim de obter o sôro e com elle fizemos a reação de Wassermann.

A dosagem que empregamos para o soro do leite é a mesma do soro sanguineo, isto é, 0, 2, 0, 1, 0, 2, 0, 1, 0, 4.

O 5º tubo da reacção ficará então sendo o testemunho do *sôro do leite* que analysamos. Dispensamos a inactivação do *sôro do leite* para a reação, porque, como já ficou dito, elle não possue complemento. Esta dispensa nos é vantajosa, porquanto poupamos o tempo exigido para esta operação, que, como sabemos, é de meia hora em estufa á temperatura de 56º

Nas primeiras observações que fizemos notamos com prazer que a reação se manifesta perfeitamente bem no *soro do leite*; porém, ainda não nos satisfizemos, porquanto observamos que as gorduras existentes neste soro separavam-se e iam occupar a parte superior da camada liquida do tubo, mascarando assim de um certo modo a reação.

Procuramos então aperfeiçoar as nossas observações, investigando varios processos para retirar por completo estas substancias gordurosas.

Tomamos então novamente o leite, centrifugamos afim de separar parte da substancia gordurosa e usando de uma pipeta cuidadosamente recolhemos o soro centrifugado.

Procuramos delle retirar por completo toda a materia gorda, escolhendo para isto um dissolvente especial:

Ensaiamos o chloroformio, o alcool amylico, o ether sulfurico e outros mais; porém, notamos que elles não podiam ser empregados, porquanto gosavam de propriedades hemolyticas para os globulos de carneiro. Nestas condições, portanto, abandonamos por completo estes solventes; continuamos em novos ensaios e finalmente chegamos ao encontro de um solvente que perfeitamente nos

satisfazia. Este solvente é o ether de petroleo, unico que póde ser empregado porque não tem nenhuma acção sobre os globulos de carneiro.

Usando então do ether de petroleo para a retirada das materias gordas, procedemos do modo seguinte:

Technica:

Em uma ampoula de vidro provido de uma torneira; collocamos o sôro do leite, já centrifugado, addicionamos ether de petroleo e agitamos.

As gorduras dissolvem-se no ether de petroleo e vão occupar a parte superior da camada liquida, deixando depositar o sôro completamente livre das substancias gordas.

Usando deste processo obtemos um sôro limpido, por completo desprovido de gordura e com elle podemos sem receio fazer a reação de Wassermann.

Foi assim procedendo separadamente com cada sôro que o obtivemos para empregar na reação.

O NOSSO METHODO. TECHNICA DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ

O processo por nós utilizado é o de Wassermann, sem nenhuma modificação essencial, apenas acompanhando-o de certas precauções tendentes a augmentar sua correcção e sensibilidade e que julgamos indispensaveis.

Iniciaremos sua exposição, indicando como obtemos os diversos elementos que constam da reação e as próvas a que os submettemos antes de serem postos em uso.

ANTIGENO

Um figado de féto, cujo cadaver não apresente alterações de putrefacção é retirado tão asepticamente quanto possivel.

Desembaraçado de todas as partes estranhas ao seu parenchyma, recortamol-o em pequenos pedaços que vão ser lavados com agua distillada á temperatura do laboratorio até esta permanecer descorada. Distribuindo-os então em placas de Petri, vamos leval-os á um seccador pelo

vacuo. No fim de 24-48 horas está geralmente o tecido perfeitamente secco; passamos ahi a tritural-o em um gral, obtendo por esse modo um pó fino, de côr parda escura, cheiro especial que após sua pesagem é suspenso em alcool absoluto na proporção de 1 : 30 ou 1 : 40. Essa suspensão é agitada mechanicamente durante algumas horas e em seguida deixada em repouso por um lapso de tempo variavel.

O alcool permanecendo limpido, toma uma côr amarello-dourada. Decantamos então uma pequena parte e, fazendo uma diluição a 1 : 10 em serum physiologico (sol. Na Cl a 9°/₀) procuramos verificar a actividade do extracto. Se por esta prova julgamol-o apto a poder servir em nossas reações decantamos o resto, se não deixamol-o em contacto por mais algum tempo, repetindo periodicamente nossos experimentos.

Uma vez dado por findo este periodo, próvas mais completas e rigorosas vão ser feitas pelas quaes ficaremos conhecedores das propriedades de nosso novo antigeno.

Com R. Geyer e G. Riedel (Arch. Bras. Med. n.° 1 1912) reconhecemos como « condicções caracteristicas de um estracto utilizavel, as seguintes:

I Deve ser pouco hemotoxico, i. é. a dose quadrupla ou quintupla da maior dose usavel não deve alterar sinão ligeiramente os globulos de carneiro (traços de hemolise toxica).

II Deve ter uma zona de reação ampla, i. é. a dose tripla, no minimo, da menor dose que ainda dá resultados positivos com sôros especificos, deve permittir franca hemolise com outros sôros patologicos.

Esta regra é da maior importancia pois será necessario usar nas reações uma dóse vizinha do limite superior, determinado com pelo menos vinte sôros patologicos não lueticos. Si usassemos dóses muito fracas grande numero de sôros lueticos pobres em substancias de reação dariam resultado negativo.

E' indispensavel, todavia, que essa dóse maxima não attinja senão metade daquella dóse maxima que ainda permite a hemolise na testemunha.

III O poder inhibitorio autonomo dos estratos variando com os diversos complementos (caveas diversas ou já punccionadas) é indispensavel a verificação previa do mesmo.

Essa precaução é tanto mais necessaria quanto ela se dá independentemente do titulo hemolitico. (Alexander, Stern, etc.)

Serão recusados os estratos ou o complemento, quando houver notavel exagero da inhibição autonoma da hemolise.»

Sobre este ultimo ponto retornaremos ao expor o modo porque praticamos a reação.

Começamos pesquizando o valor impediente ou anticomplementar do extracto em estudo, bem como a existencia ou não do poder hemotoxico.

Para isso usamos de dóses crescentes desde 0,1 até 1 cc. com um systema hemolytico perfeitamente titulado, repetindo varias vezes a prova. O quadro seguinte fará melhor comprehender.

EXTRACTO II (1:30 × 1:10) PROVA 1ª

Extracto dil. 1:10	Complemento dil. 1:6	Serum artificial		Sôro hemolytico	Globulos de carneiro		15 min.	30 min.	60 min.
0,1	0,4	1cc	1 hora em thermostato a 37°	1cc	1cc	—	0	0	0
0,2	0,4	0,9		1cc	1cc	—	0	0	0
0,3	0,4	0,8		1cc	1cc	—	0	0	0
0,4	0,4	0,7		1cc	1cc	—	0	0	0
0,5	0,4	0,6		1cc	1cc	—	.0.	0	0
0,6	0,4	0,5		1cc	1cc	—	*0*	0	0
0,7	0,4	0,4		1cc	1cc	—	+0+	0	0
0,8	0,4	0,3		1cc	1cc	—	o̅|o̅	+0+	.0.
0,9	0,4	0,2		1cc	1cc	Dóses hemotoxicas	-|-	.0.	0
1cc	0,4	0,1		1cc	1cc		0+0	0	0

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE

Se julgamos insufficiente esta prova quanto a caracterização das propriedades hemotoxicas, fazemos uma outra sem o systema hemolytico; mesmo é facto conhecido as variações por ellas soffridas com a addição de um serum sanguineo qualquer.

Sabendo variarem as qualidades do antigeno conforme o modo porque é feita sua diluição no serum, costumamos juntar o extracto por pequenas gottas á solução salina, fazendo lentamente a mistura. Desse modo conseguimos como o demonstraram Sachs e Rondoni, obter emulsões finas e estaveis de titulo mais elevado do que pela rapida addição da agua physiologica ao extracto e vice-versa. Ottenberg, reconhecendo a vantagem deste methodo e baseado em sua experiencia affirma ter, porém, o inconveniente de trazer um augmento do poder anticomplementar do antigeno de modo que seu valor não se modifica.

Nós temos observado que este augmento é minimo, podendo a causa de erro ser facilmente evitada pela prova de extracto que sempre fazemos antes de iniciar nossas reações.

Outrotanto não se dá quando junta-se ao extracto gotta a gotta a solução salina, agitando-se para misturar; neste caso obtem-se uma emulsão turva com poder autoinhibitorio muito accentuado.

Uma vez, porém, conhecida a dose minima com que o novo antigeno impede por si só a hemolyse, vamos tomando por media uma dose 2 1/2 a 3 vezes menor e as vizinhas, experimental-o com sôros normaes e lueticos dando reações francas.

Assim procedendo chegamos ao conhecimento de sua amplitude de acção. (A dose minima com que dá impedimento absoluto nos sôros positivos e a maxima em que permitte hemolyse completa para os normaes.)

Em um de nossos antigenos ultimamente preparados a dose de 0,05 com os sôros luetivos dava inhibição per-

feita, emquanto que mesmo com 0,6 a hemolyse era total nos normaes.

Desprovido absolutamente de poder hemotoxico a não ser em quantidades extremamente elevadas, com um poder anticomplementar relativamente pequeno, tratava-se de um excellente extracto.

Ahi não terminam, porém, as provas a que deve ser submettido o antigeno em exame.

Experimentamol-o ainda com sôros pathologicos não lueticos afim de evitar fixações não especificas e sôros de syphilis latentes e tratadas, dando reações fracas; não precisamos dizer que estes experimentos são acompanhados de testemunhas comparativas com um extracto já conhecido.

Resta-nos ainda dizer que esse titulo, 1 : 10, da diluição nem sempre o conservamos, porém, adaptando sua concentração ás propriedades particulares de cada extracto muitas vezes usamos diluições mais fortes ou mais fracas logo após a 1.ª prova.

Emfim conhecidas por todas estas experiencias prévias as qualidades de nosso antigeno, se julgamol-o com uma zona de reação sufficientemente ampla para nas doses habituaes não nos levar a fixações falsas, damol-o como apto para ser posto em uso.

Isto no emtanto não impede que repitamos de cada vez uma prova com o systema hemolytico do dia.

Guardamos a solução alcoolica no frigorifico, della retirando pequenas porções a medida que se tornam necessarias.

A emulsão quando bem feita e addicionada de 0,25°/o de ac. phenico, do mesmo modo conserva-se bem, permanecendo seu titulo mais ou menos constante.

SÔRO HEMOLYTICO

O amboceptor por nós utilizado como no processo original, é o sôro de coelho anticarneiro que obtemos por 2 processos: um lento, outro rapido.

No primeiro injectamos por via intraperitoneal no coelho 5 cc. de globulos lavados e centrifugados (não de sangue), diluidos em seu volume de agua physiologica, por 5 vezes de 5 em 5 dias.

Passados 5 dias da ultima injecção, fazemos uma puncção do coração, retirando pequena quantidade de sangue para experimentar a actividade do sôro.

Se esta nos satisfaz, nova puncção de 10-20 cc. dará quantidade de amboceptor sufficiente para o trabalho de muitos mezes.

Se não continuamos ainda por algum tempo as injecções de globulos.

No segundo methodo rapido costumamos injectar 2 cc. do centrifugado de globulos lavados, diluidos do mesmo modo em seu volume de serum artificial, por 4-6 vezes de 2 em 2 dias.

Geralmente ao fim da quarta injecção o titulo já é sufficientemente elevado para poder-se aproveitar o sôro

As diluições em que utilizamos amboceptores assim obtidos oscillam entre 1:2.500 e 1:6.000, além disso conseguimos evitar o sacrificio do animal que é em seguida abandonado.

Quanto á sua conservação é perfeita no frigorifico em sol. a 1:50, tendo-se juntado 0,25% de acido phenico. (Sol. a 1% de ac. phenico em agua physiologica).

Naturalmente procedemos sempre com a maxima asepsia, o proprio serum physiologico tendo sido filtrado sob o vacuo e esterilizado por 1/2 hora a 120° em autoclave.

Nossos amboceptores tem-se conservado algumas vezes sem se alterar e com titulo praticamente constante até por mais de dois annos.

Uma vez, porém, preparado o amboceptor por um dos methodos indicados, vamos fazer sua titulagem exacta, i. é., determinar a dose hemolysante minima.

Para tal, usamos 0,1 cc. dum sôro de cobaia reconhecido previamente como de actividade media, repetindo a

prova com varios sôros alexicos e usando diluições crescentes de hemolysina.

E' o que representamos no quadro seguinte:

TIT. AMB. DIL. 1:50 × 1:250

Amboceptor	Diluição		15 min.	30 min.	45 min.
0,5	1:500	—	0	0	0
0,25	1:1000	—	*0*	0	0
0,125	1:2000	Complemento 0, 6 Dil. 1:6)...	+0+	0	0
0,10	1:2500	Globulos carneiro 1 cc.....	0+0	.0.	0
0,08	1:3050	Volume total 3,5 cc.	ō|ō	*0*	.0.
0,06	1:4075	—	⁚|⁚	+0+	*0*
0,05	1:5000	—	⁚|⁚	+0+	+0+

Conhecida a dose hemolysante minima, a quantidade optima será de 2 a 2 1/2 unidades, adaptando a diluição de modo a utilizar nas reações 1 cc. de amboceptor.

COMPLEMENTO

Empregamos o sôro fresco de cavea obtido por puncção do coração e diluido a 1 : 6 afim de não termos que usar de grandes quantidades, favorecendo assim sua distribuição nos tubos com grande economia de tempo e de trabalho. Com a diluição classica de 1 : 10, a pipeta de 1 cc. graduada em decimos num caso de fraca actividade apenas dará para um tubo, ao passo que com a nossa podemos distribuil-o em dois.

GLOBULOS DE CARNEIRO

Obtido o sangue por puncção da veia jugular e impedida sua coagulação pela agitação com perolas de vidro, são os globos varias vezes lavados com agua physiologica.

FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE BIBLIOTECA

Variando como é sabido a riqueza globular do sangue dos diversos carneiros o que viria trazer modificações demasiadamente sensiveis ao titulo do complemento, costumamos fazer a suspensão não com a massa total de sangue, porém, com os globulos centrifugados até á constancia de volume.

Esta suspensão é a 5 %.

AGUA PHYSIOLOGICA E SÔRO SUSPEITO

Nosso serum physiologico é a solução de chloreto de sodio a 9 por mil, esterilizada e devidamente experimentada.

Quanto aos sôros suspeitos procuramos sempre que possivel utilizal-os nas primeiras 24 — 48 hóras após a colheita. Evitamos desse módo o uso de serums em que possiveis modificações se tenham dado. Leredde e Rubinstein, preconizando mesmo este habito, escrevem as seguintes palavras: «Il est très facile de changer l'état colloidal des serums, d'amener des modifications très profondes dans leur état chimique.... La conservation des sérums, même chauffés modifie la précipitabilité de leurs globulines em même temps que leur réaction chimique.»

Estas modificações para os sôros devidamente conservados, não são no emtanto tão accentuadas que venham perturbar a marcha da reação nas doses habituaes de 0,05 — 0,2.

Isto dentro de um prazo mais ou menos limitado; nossos sôros testemunhas, datando geralmente de 96 hóras e mesmo mais, conservam perfeitamente os caractéres apresentados no exame anterior.

Ao terminar esta parte geral julgamos desnecessario dizer que sempre procedemos com a maior asepsia ; nosso material de vidro é todo lavado sem auxilio de acidos nem alcalis, soffrendo uma lavagem com ether antes de ser esterilizado pelo calor secco.

PRATICA DA REAÇÃO

De qualquer pesquizador é bem conhecida a extrema variabilidade do valor complementar nos diversos sôros de cobaia. Ora, sendo o complemento um dos constituintes essenciaes, estas variações nos levarão a interpretações erroneas se delle usarmos uma quantidade ad libitum. Sua titulagem se impõe e é a primeira medida que tomamos antes de iniciar nossas reações.

Usando de 1 cc da suspensão a 5 % de globulos, a dose optima de amboceptor verificada pelas titulagens que acima mencionamos, mais doses crescentes da diluição 1:6 do sôro de cavea, o todo regulado em 3,5cc. pela addição de serum artificial vamos observar qual a dose de complemento necessaria para dar hemolyse completa em 1/2 hora á temperatura de 37°:

TIT. COMPL. DIL. 1 : 6

Complemento		10 min.	15 min.	20 min.	30 min.
0,15	Amboceptor (1+15) 1 cc Globulos carneiro 1 cc.. Volume total 3,5 cc....	+	o|o	+0+	.0.
0,2		o|o	0+0	0	0
0,25		o|o	+0+	0	0
0,5		+0+	0	0	0
0,6		*0*	0	0	0

Nas reações usaremos do triplo dessa dose, evitado o erro de titulagem que principalmente nos sôros ricos em alexina, com a multiplicação póde attingir facilmente a uma unidade grosseira, sendo causa de erro não desprezivel.

Mais praticamente fallando, a dose de complemento a usar se avizinha de 2 vezes e meia á obtida pela titulagem.

Em seguida procuramos adaptar a quantidade de antigeno que deve ser usada ao systema hemolytico do dia, para isso fazendo uma prova de extracto.

Collocamos numa serie de tubos quantidades crescentes de antigeno, a dose optima de complemento e serum artificial para regular o volume em 1,5cc. Após uma hóra de incubação na estufa secca a 37º addicionamos o sôro hemolytico e os globulos, anotando como nas reações a marcha de hemolyse até o fim de meia hóra. Será considerada dose boa para o uso uma 2 vezes menor do que aquella que não mostrou poder auto-inhibitorio nesse prazo.

Devemos dizer que pequenas alterações poderão ser feitas nesta apreciação com o fim de obter melhor adaptação.

Preferimos nos utilizar de dóses altas de antigeno, naturalmente não sendo por si só impedientes, com um systema hemolytico forte e tri-complementado para garantir as reações positivas fracas.

Um sôro pobre em anticorpos especificos com uma dose pequena de antigeno, apezar de serem usadas quantidades menores de alexina dará uma falsa reação negativa. Ora, sabe-se, que — no engate dos anticorpos com os antigenos, como o diz R. Geyer, uma das substancias diminuindo, póde, ainda obter-se o mesmo anterior effeito si augmentarmos as outras, exactamente como podemos dissolver a mesma quantidade de hematias, diminuindo o sôro de cavea, compensando-o pelo augmento das hemolisinas.»

Num sôro em que houvesse abundancia de anticorpos, poder-se-ia obter a fixação total do complemento com dóses relativamente pequenas de extracto, porém, seria uma falta querer chegar ao mesmo resultado com os demais.

Eis a razão porque damos preferencia ás doses elevadas.

Não nos seja feita a observação de por esse modo irmos obter reações positivas com sôros pathologicos não lueticos, pois pelas provas primordiaes de nosso extracto já sabemos em que zona de acção isso se dá e teremos a precaução de nos conservar fóra della.

Deixamos de illustrar estas considerações com um quadro demonstrativo por já o termos dado anteriormente quando tratamos da preparação do antigeno.

Além das vantagens já citadas a prova habitual do antigeno se impõe pelo facto de se tornar muitas vezes subitamente hemolytico um extracto que primitivamente era considerado bom, facto este que nós mesmos tivemos occasião de observar.

Sómente após estas titulagens começamos a fazer nossas reações.

Usamos doses crescentes de sôro, guardando fixas as de antigeno e complemento por julgarmos desse modo poder melhor apreciar o gráo da reação, isto é, avaliar a riqueza do sôro em anticorpos.

Distribuimos em todos os nossos tubos em primeiro logar o complemento, em seguida o sôro, logo após o antigeno, completando o volume de 1,5 com serum physiologico.

Tendo agitado cuidadosamente todos os tubos, servindo-nos de um dedo para cada reação e começando sempre pelo testemunha, vamos levar as estantes á estufa regulada a 37° por uma hora.

As doses de sôro usadas vão desde 0,025 ou 0,05 a 0,2, sendo um ultimo tubo conservado como testemunha do sôro com a dose maxima usada.

Terminado esse primeiro periodo de incubação accrescentamos o systema hemolytico, globulos e amboceptor, verificando o progresso da reação de 5 em 5 minutos até aos 20 e considerando como termo final a meia hora, para cujo prazo haviamos titulado todos os nossos systemas.

E' feita então a leitura final.

Acompanhando as reações sempre repetimos um sôro especifico fortemente impediente, um normal e outro de reação transitoria já examinados que deverão fornecer os mesmos resultados, funccionando como testemunhos geraes.

Com todas estas precauções julgamos poder obter resultados senão absolutamente perfeitos, ao menos tão approximados quanto possivel d'aquelles que seriam fornecidos pelo mesmo methodo ou outro qualquer dotados de refinamentos de technica não applicaveis na pratica corrente.

De facto, trabalhando com um antigeno devidamente experimentado, de qualidades perfeitamente conhecidas e com dóses por si só não anti-complementares adoptadas a um systema hemolytico rigorosamente titulado, só nos restam por causos de erro mais communs, um poder auto-inhibitorio muito elevado do sôro que examinamos o que raramente se dá ou sua riqueza em hemolysinas naturaes.

Estas mesmo se denunciariam ; a primeira, trazendo uma turvação no tubo testemunha, a segunda, por uma hemolyse demasiado rapida e se dando em sentido inverso, isto é apresentando-se tanto mais nitida quanto maiores as doses de sôro usadas.

Nosso habito de verificar o decurso da reação mostra aqui uma de suas grandes vantagens.

Se as hemolysinas são muito abundantes, retiramol-as por um dos processos habituaes, repetindo o exame do sôro na sessão seguinte.

Descripto assim summariamente nosso methodo de praticar a reação de Wassermann, pode-se comprehender ser uma technica simples, pratica e sensivel.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

CAPITULO II

Algumas considerações sobre os dois methodos descriptos

Não poucas vezes se tem dito da reação de Wassermann ser facil a theoria e difficil a pratica. Basta, com effeito, lançarmos um rapido olhar para o grande numero de processos em uso, já não fallando daquelles que por deficientes foram abandonados, para nos convencermos da veracidade desta asserção. Hoje, para bem dizer, cada serologista tem um methodo todo seu, baseado neste ou n'aquelles moldes, porém, com pequenas variantes que podem chegar a dar-lhe uma feição inteiramente particular. Levemos em conta unicamente os que por modelo tomam o methodo original de Wassermann e ahi mesmo já na especie do antigeno, já em sua titulagem, já na regularização do systema hemolytico encontraremos differenças de magna importancia. Se quizermos recorrer aos demais, então as divergencias ainda mais se accentuam e depararemos com technicas que da reação primitiva tendo perdido todo o aspecto, della apenas conservam o nome.

Sirva de exemplo ás considerações que óra fazemos o fim que teve uma reunião de serologistas das melhores instituições de New York, tendo por objecto uniformizar a technica da reação, e procurar dar-lhe ao mesmo tempo a maxima exactidão. Após varias sessões em que importantes resultados chegaram a ser colhidos, dissolveu-se a conferencia em virtude da variabilidade de opiniões, não conseguindo os delegados chegarem a um accordo.

Esta confusão, porém, que apparentemente reina, longe de depôr contra o credito que merece o diagnostico serologico da syphilis, antes vem augmental-o, mostrando

o empenho com que se procura corrigir as imperfeições do methodo original.

Não fallamos aqui das chamadas simplificações que só em certas e determinadas condições devem ser tomadas em consideração.

Emfim não é nosso proposito fazer um estudo geral dessas modificações, unicamente temos em vista a pratica da R. W. no sôro de leite.

A esse respeito no capitulo anterior tivemos occasião de expor os dois methodos empregados entre os quaes desde logo podem-se notar differenças sensiveis.

E' justo pois, que expliquemos por quaes motivos deixamos de nos utilizar da technica preconizada pelo Sr. Marçal.

Em sua relação, cumpre-nos antes de tudo assignalar a falta de precisão com que foram descriptos certos pontos de importancia e sobre os quaes de passagem chamaremos a attenção.

D'outra parte não podemos concordar com alguns detalhes de technica do que vamos fazer agóra uma rapida resenha.

Com este fim iniciamos nossas considerações, dizendo algumas palavras sobre o

SYSTEMA HEMOLYTICO

No capitulo anterior tivemos occasião de citar as variações do poder alexico dos sôros de cobaia. Estas variações se notam não sómente de um animal para outro, porém, no mesmo especimen conforme as condições em que se acha. Assim no sôro de uma cavea já tendo soffrido algumas puncções, o titulo do complemento geralmente é baixo. Ottenberg, referindo-se a esta variabilidade, exprime-se do segninte modo: «The strength of the complement in guinea-pig serum is the most variable factor wich enters into the Wassermann reaction».

Se assim não fôra, sabendo-se fixo o titulo do amboceptor, facil seria determinar quantidades definidas para todos os elementos de que se compõe a reação.

O complemento, porém, varia, é extremamente variavel mesmo e um ajustamento das quantidades dos componentes do systema hemolytico se impõe toda vez que usamos de um sôro complementar novo.

Isto é, essa regularização deve ser feita cada vez que se executa a reação, pois, o poder alexico do sôro de cavea altera-se quando se tenta conserval-o.

Após 72 horas, teve occasião de entre nós observar o Prof. Dr. Guerra Blessmann, conforme relata em seu trabalho inaugural, o titulo dos sôros de cavea diminuirem de 1 para 1/2, e numa semana mesmo 1/4 e até 1/6 em alguns delles.

E', pois, de praxe e assim costumamos proceder, utilizar sôros obtidos no mesmo dia.

Se concordam, porém, os diversos autores na necessidade deste ajustamento, o modo porque o praticam diverge.

Assim uns com Wassermann, Bruck, Citron, Stern Sachs e outros, usam uma dose fixa de alexina a ella adaptando a de amboceptor; outros, entre os quaes Thomsen, Boas, Mc Intosh e Fildes, Sormani, Thomas e Ivy, Leredde fazem variar a dose de complemento de accordo com sua actividade e ainda alguns optam pela modificação da quantidade de globulos de carneiro como no processo de Hetch e Weinberg.

O Sr. Marçal prefere o primeiro destes methodos conforme se entende pelo facto de usar 0,1 de sôro de cavea «com 1 cc de sôro hemolytico diluido de accordo com o titulo obtido em sua dosagem».

Nós pelo contrario julgamos mais correcto conservar fixa a quantidade de amboceptor já que seu titulo é de natureza constante, modificando a dose do complemento do dia de accordo com sua energia.

Verdade seja que adaptação da dóse do sôro hemolytico a uma fixa de complemento tem a vantagem de trazer ao experimentador grande economia de tempo.

De facto, podem ser preparados todos os tubos das reações para a primeira incubação já que o amboceptor sómente na segunda vae ser addicionado e, emquanto ella se procede, ha tempo sufficiente para fazer sua titulagem.

Porém, se por um lado consegue-se esta vantagem não desprezivel, por outro a sensibilidade da reação será grandemente compromettida.

Póde-se é verdade por um e outro methodo obter o mesmo effeito hemolytico total, mas engana-se aquelle que julgar que, guardando fixa a dose de complemento e fazendo variar a de amboceptor, utilizará nas reações uma dose conveniente do primeiro.

Elle é o verdadeiro indice e por seu maior ou menor desvio é que vamos nos inteirar do gráo de positividade do serum examinado.

Quem utiliza o methodo de Wassermann apenas tem em conta o effeito hemolytico total, não podendo com segurança prever como se comportará a dose de complemento usada nas proprias reações.

Procurando tornar mais claro o que acabamos de dizer, vamos apresentar o seguinte classico exemplo:

Tomemos um serum positivo que contenha exactamente a quantidade de anticorpos necessarios para fixar em presença de um dado antigeno todo o complemento existente em 0,1 cc dum sôro de cavea e assim obteremos um impedimento completo da hemolyse.

Repitamos agóra a mesma próva, nas mesmas condições, com o mesmo serum, o mesmo antigeno, porém, com uma dose dupla de complemento, tendo titulado para ella o amboceptor e delle usado 2 unidades.

Nem por isso maior quantidade de complemento será fixada e metade delle restando livre será o sufficiente para

com a dose de hemolysinas utilizada dar uma falsa reação negativa.

Assim por este processo resultados erroneos serão obtidos toda vez que houver deficiencia ou excesso de alexina.

Estas considerações não são absolutamente theoricas; Ottenberg experimentalmente comprovou o que acabamos de asseverar, mostrando que quando se usa um complemento ultrapassando a actividade media, é mais possivel obter-se resultados positivos com maiores diluições ou sejam menores doses de um sôro luetico, usando uma dupla dose hemolysante de complemento determinada com duas unidades de amboceptor, elle mesmo previamente titulado com complementos medios, do que com uma dose hemolysante dupla de amboceptor avaliada pelo complemento do dia. Kromayer e Trinchese por sua vez affirmam que qualquer serum positivo dará uma reação negativa toda vez que uma dose sufficientemente elevada de complemento fôr usada, porém, com dóses ordinarias de alexina uma vez feita a fixação será impossivel produzir hemolyse mesmo pela addição de dóses enormes de amboceptor.

Em sua these inaugural, Guerra Blessmann, chamando a attenção sobre a importancia da titulagem do complemento, cita um caso nestas condições occorrido em nosso laboratorio.

Praticava-se nesse tempo a reação de Wassermann, pelo methodo original e um sôro de individuo em plena syphilis secundaria forneceu uma reação negativa, ao passo que pelo methodo de Flemming de accordo com a clinica era francamente positiva.

Pesquizada a causa de erro, foi achada no excesso do complemento da dóse usual de 0,1.

Referimo-nos até aqui ás reações positivas e negativas francas, quanto ás fracas nem é necesario dellas fallar o methodo que criticamos põe-nas a perder na sua mór darte.

No processo usado pelo Sr. Marçal como no de Wassermann, julgamos serem usadas ao lado da dóse 0,1 do complemento, 2 unidades de amboceptor e uma dóse de antigeno por si só não inhibitoria.

Por esse procedimento procura estabelecer uma zona de segurança, permittindo prevenir resultados positivos falsos devido a substancias anticomplementares não especificas.

Esta zona de segurança é no emtanto demasiado vasta no caso em que o poder complementar do sôro de cavea passe a media normal e mesmo nessa media ou pouco abaixo della um grande excesso de complemento, geralmente mais de uma unidade, é desleixado.

Kromayer e Trinchese em 1912, Margarete Stern em 1914 sufficientemente demonstraram que uma dóse arbitraria de complemento sendo usada com quantidades decrescentes de amboceptor, a menor dóse deste que dá hemolyse completa, do mesmo modo a permittirá com uma dóse menor de alexina.

Este facto que nós mesmos tivemos occasião de observar, é eschematizado por Ottenberg da maneira que se segue :

Determina-se primeiro a unidade de amboceptor.

I Complemento 1 : 10, 1 cc.
Amboceptor (1 : 200) .. 0,15—0,2—0,24—0,28--00
Leitura após 30 minutos C ? C. C. C.

A lettra C. significando hemolyse completa.

A unidade de amboceptor estava pois, entre 0,15 e 0,2 da diluição 1 : 200 e foi avaliada em 0,18 cc. Faz-se agóra uma titulagem do mesmo complemento com 2 destas unidades de amboceptor, seja 0,36 cc.

I I Amboceptor 0,36 cc. (2 unidades).
Complemento 1: 10 ---------- 0,25 -- 0,3 — 0,35
C. C.

Vê-se que com as duas unidades de amboceptor a mesma quantidade de complemento que dava hemolyse completa era 0,3 cc. da diluição 1 :10 o que se pòde chamar a unidade de complemento para duas unidades de amboceptor.

Em seguida com duas unidades de complemento sejam 0,6 cc. da diluição 1 : 10 faz-se nova titulagem, comparando-a á primeira destas 3 e vê-se que a unidade de amboceptor obtida com 0,6 cc. de complemento é praticamente identica á obtida com 1 cc. da diluição 1 : 10.

III Complemento 1 : 10, 0,6 cc. (2 unidades.)				
Amboceptor (1 : 200) ..	0,15 —	0,2 —	0,24	0,28
Leitura após 30 minutos	C?	C.	C.	C.

0,6 representa, pois, com uma dóse relativamente fraca de antigeno 0,1 — 0,2 uma zona de segurança bastante ampla para evitar resultados positivos não especificos.

A dóse de 1 cc. da diluição 1 : 10 abrange como se vê para mais de 3 unidades e em relação á dóse de antigeno um excesso de complemento é posto em uso.

A maioria dos autores tendem hoje a utilizar pequenas quantidades de complemento, sendo a isso levados não por considerações theoricas, porém, pela experiencia pratica de que ellas são mais seguras e dão melhores resultados.

Fallamos aqui em geral, a dóse exacta a usar dependendo do criterio de cada um.

Nós mesmos em vez de duas unidades de complemento usamos 3 ou mais ou menos 2 1/2, conforme a avaliação de occasião com o fim de evitar erros de titulagem, porém, compensamos esse pequeno augmento com uma dóse maior de antigeno.

Assim, como a demonstram R. Geyer e G. Riedel, conseguimos maior nitidez nos sôros positivos fracos, i. é. chegamos a verificar turvações em casos que passariam desapercebidos nos systemas bicomplementados.

Não precizamos repetir aqui o facto conhecido de que um sôro rico em anti-corpos dará resultados positivos com dóses fracas de antigeno e vice-versa.

Se augmentamos as dóses desse sôro fraco, teremos que nos haver com hemolysinas naturaes e accrescimo de substancias anti-complementares; é pois muito mais racional usar doses fortes de extracto adaptadas a um systema tricomplementado.

Modernamente costumam alguns autores na titulagem de seu complemento fazerem próvas em presença de uma dóse de extracto e de um sôro ou mistura de sôros normaes, tendo por fim eliminar a causa de erro de seu poder inhibitorio autonomo.

Varios processos têm sido dados dos quaes talvez o mais perfeito é o de Thomas e Ivy.

Nelle os autores praticam uma verdadeira reação com uma mistura de serums normaes e uma dóse arbitraria de antigeno. Chegam assim a obter uma media destes poderes inhibitorios, deixando após livre nas reações apenas uma unidade de complemento exactamente dosada.

Alguns outros, entre os quaes podemos citar os de Maslakowitz e Liebermann, Browning e Mc. Kenzie talvez mais engenhosos, porém, fornecendo resultados mais ou menos analogos, apresentam como o precedente um ou outro inconveniente.

O methodo de Thomas e Ivy permitte em verdade determinar a dóse minima de complemento que póde ser usada, mas na pratica o uso dessa dóse minima não deixa de ter suas contraindicações.

De facto o poder anticomplementar dos serums variando de um para outro, se fôr maior num sôro por examinar do que na mistura de sôros normaes, dará na reação um impedimento no tubo testemunha e a exactidão que se procurou com esta complicação estará de certo modo compromettida.

Em nossa technica, na qual procuramos ser praticos

quanto possivel, não fazemos essa avaliação rigorosa; apenas em seguida a titulagem do complemento com o systema hemolytico isolado, praticamos uma prova de extracto pela qual chegamos ao conhecimento da dóse maxima que delle podemos usar sem contar com seus poderes autoinhibitorio e fixador não especifico.

E' ella, como dissemos, mais ou menos metade da que permitte a hemolyse em 1/2 hora ou dá levissima turvação, segundo a avaliação que fazemos para o dia.

Quanto ao poder anticomplementar dos sôros, as respectivas testemunhas em que são usadas a mesma dose de complemento e a dóse maxima de sôro, nol-o farão conhecer se existir em gráo apreciavel.

Nesses methodos de precisão que tivemos occasião de citar, ainda torna-se necessaria a retirada previa das hemolysinas naturaes dos serums a examinar o que num laboratorio onde se lida com grande numero de exemplares, não deixa de ser um entrave a mais. Nós apenas as retiramos quando existem em tal quantidade que possam chegar a pôr em risco a apreciação do resultado da reação. Em pequenas dóses a vigilancia que mantemos sobre o decorrer da segunda incubação, permitte fazer-nos scientes de sua presença e avaliar o gráo de sua interferencia.

Leredde e Rubinstein ainda a este respeito aconselham titular o complemento não só no systema hemolytico puro e em presença do antigeno, como tambem com estes elementos mais um serum normal e outro luetico, pois, além do poder de um antigeno em fixar a alexina modificar-se pela addição d'um sôro normal, a propria alexina é variavel quanto a sua fixabilidade.

Browning e Mc. Kenzie sobre esta ultima questão já se haviam referido e Ottenberg experimentando sôros complementares de egual titulo hemolytico com um mesmo extracto e um mesmo sôro positivo, poude observar que uns davam inhibição completa numa diluição de 1/4 em-

quanto que em outros podia-se augmentar essa diluição a 1/8, 1/12 e mesmo 1/16. Na mistura que usamos de diversos sôros de cavea, como aliás o aconselha o proprio Ottenberg, para bem dizer eliminamos essa causa de erro.

Não praticamos como Leredde e Rubinstein essa titulagem em presença dos sôros especifico e normal, porém o que chamamos nossos testemunhos geraes de reação, i. é., as reações que fazemos com sôros examinados de vespera, positivos, e negativos, francos e fracos, poderão nos dar a perceber quaesquer modificações nesse sentido.

Ainda mais a variação do poder fixador de um antigeno em presença de um serum normal sendo devida a modificações chimicas do meio, a titulagem praticada com um unico sôro servindo de estalão, cahe nas mesmas causas de erro dos processos que fallamos acima.

Queremos dizer que estas modificações serão variaveis com cada serum, conforme suas propriedades particulares, dependendo de modo de colheita, do de sua conservação, edade, etc.

Já demonstramos a importancia da prova de extracto, seu valor impediente variando com os diversos sôros de cavea independentemente de seu titulo hemolytico e aqui poderiamos dar por finalizadas as considerações que tinhamos a fazer sobre o systema hemolytico se uma outra questão não nos occorresse.

E' o que diz respeito á suspensão de globulos de carneiro.

Wassermann usava 1 cc. da diluição a 5% do sangue total, i. é., 5 volumes de todo o sangue diluido em 95 volumes d'agua physiologica, as cellulas tendo sido previamente lavadas por centrifugação com serum artificial.

Nós, tendo em vista utilizar uma quantidade mais constante de globulos usamos a diluição a 5% do sedimento centrifugado até a constancia de volume o que é

facil de obter, conservando sempre no centrifugador a mesma velocidade e egual espaço de tempo.

A riqueza globular, como dissemos não só varia de um carneiro para outro, porém, no mesmo animal que com as puncções repetidas, vae-se tornando anemico.

Ainda a este respeito deve-se contar com a resistencia a hemolyse que não é egual nos diversos carneiros.

Ottenberg e Hopkins, Leredde e Rubinstein fazem della menção; David Haller por trabalhos experimentaes mostra differenças de resultados com um mesmo sôro devidas unicamente a esse factor.

Nós para evitar tal causa de erro, seguimos a opinião de Ottenberg, utilizando sempre 2 animaes conhecidos emquanto isso é possivel.

A este respeito apenas diz o Sr. Marçal usar globulos de carneiro diluidos a 5%, sem informar de que modo faz essa diluição.

Eis o que de mais importante e em linhas geraes poderiamos dizer sobre a regularização do systema hemolytico e, continuando a apreciação que vamos fazendo passaremos ao estudo do

ANTIGENO

De todos os pontos da reação de Wassermann é o que talvez mais tem sido discutido.

Divergem os autores não sómente na sua qualidade, porém, para um mesmo antigeno na dóse a utilizar.

Limitando-nos ao assumpto que nos occupa, na descripção feita pelo Sr. Marçal apenas encontramos como indicações a este respeito que usa um antigeno preparado com figado de feto syphilítico em uma dóse por si só não anticomplementar.

Entretanto pelo facto de usar um testemunho com dóse dupla e por outros pontos de sua technica, julgamos que como na de Wassermann adopte metade da dóse por

si só não autoinhibitoria. Porém, quanto a especie desse extracto, se aquoso, alcoolico, acetonico não podemos saber

Nós empregamos o extracto de figado de feto heredo-syphilitico ou não, dando no emtanto preferencia aos primeiros por obtermos com elles melhores antigenos.

Ao mesmo tempo preferimos dóses mais elevadas, compensando-as por uma maior quantidade de complemento como anteriormente foi dito.

Voltamos a esta questão por serem de opinião alguns serologistas entre os quaes Ottenberg que essa pratica longe de levar a uma maior sensibilidade da reação antes é nociva.

Assim o referido autor julga de suas experiencias, que por este modo de proceder certas reações positivas fracas serão perdidas devido ao excesso de complemento, acima de uma certa dóse o antigeno ganhando em poder anticomplementar, porém, não em effeito antigenico, i. é, especifico.

Ao mesmo tempo fixações não especificas poderiam ser obtidas.

A isto podemos contrapor a experiencia quotidiana que nos mostra o acerto de nosso procedimento; de outro lado não nos utilizamos de dóses capazes de dar resultados positivos com sôros não lueticos como o podemos saber pelas titulagens experimentaes que sempre fazemos antes de pôr um antigeno em uso.

E se experimentando com soros positivos diluidos, poude Ottenberg verificar a permanencia de fixação em maiores diluições, usando de pequenas dóses de antigeno a ellas sendo adoptada a de complemento, nós por outro lado tambem temos observado o facto inverso.

A respeito encontram-se excellentes exemplos no trabalho já varias vezes por nós citado de R. Geyer e G. Riedel.

Essa discordancia deve repousar na diversidade dos methodos empregados e para o nosso o systema que adoptamos tem-se verificado ser o mais conveniente.

VOLUME DA REAÇÃO

Deixando de lado o que concerne ás titulagens e regularização dos constituintes chama-nos desde logo a attenção o facto de no processo utilizado pelo Sr. Marçal não ser logo na primeira incubação egual o volume em todos os tubos. Assim para o primeiro, quinto e testemunho do antigeno elle é de 1,4cc., no segundo e terceiro 1,3cc, attingindo no quarto e testemunho do complemento apenas 1,2cc.

Ora, sabendo-se que a actividade do complemento varia com sua concentração, julgamos que seria mais correcto praticar essa regularização de volume desde o inicio como aliás costumamos fazer.

Quanto á diversidade dos volumes totaes entre um e outro processo desde que sejam conservados os mesmos nas titulagens, a nenhnma causa de erro podem levar-apenas em nossa technica sendo elle menor, obtemos economia de tempo e de trabalho como já mencionamos.

TESTEMUNHOS

No do sôro a examinar usa o senhor Marçal o dobro da dose maxima, como precaução para avaliar seu poder auto-inhibitorio, devendo elle permanecer hemolysado. E' uma boa pratica, pois, possuindo o dito soro um poder anticomplementar fraco este assim mais facilmente revelar-se-á.

Porém, no caso da existencia de hemolysinas naturaes, a hemolyse nelle será tambem muito mais rapida e poderá dar uma idéa falsa de negatividade da reação já que a leitura só vae ser feita no fim de duas horas.

Não nos consta que sejam retiradas previamente essas hemolysinas, pois, sobre isso nada diz o autor.

Nós preferimos nesse tubo conservar a dóse maxima usada, 0,2.

Poderia, é verdade, já que nesse tubo tambem con

servamos a mesma dóse de complemento, acontecer que nelle não sendo presente o poder anticomplementar do antigeno, o excesso de alexina fizesse passar desapercebida uma ação antoinhibitoria fraca do sôro, de modo que nos tubos de reação iriamos ter uma turvação levissima, dando-lhe um aspecto fracamente positivo.

Porém observando o decorrer da reacção, um retardamento na hemolyse do tubo testemunho já é o sufficiente para nos pôr de sobreavizo e levar em conta a intervenção desse factor.

E' uma questão inteiramente de pratica, applicando-se aqui muito bem o que dizem varios autores de mais valer o homem do que o processo por elle empregado.

O ideal naturalmente seria retirar as hemolysinas de todos os sôros, usando para o testemunho do soro suspeito uma dose propria de complemento. E' isto no emtanto um requinte de technica incompativel com a feição pratica que procuramos dar ao nosso methodo.

Os testemunhos do antigeno, complemento, amboceptor e agua physiologica julgamos poder dispensal-os, tendo sido todos estes elementos verificados nas titulagens que fazemos antes de iniciar as reações.

O SÔRO DE LEITE

Em seu preparo seguimos exactamente as indicações do autor, isto é, retirar as gorduras por centrifugação e lavagem com ether de petroleo. Desse modo conseguimos obter soros limpidos, levemente opalinos.

Julga o Sr. Marçal que, sendo elle desprovido de complemento é dispensavel sua inactivação o que traria a vantagem de poupar a 1/2 hora necessaria para essa operação.

Em primeiro logar temos a assignalar que essa economia de tempo absolutamente não é verdadeira.

Pelo contrario para que o desengorduramento seja perfeito é necessaria centrifugação para 8-10cc de leite por 15-20 minutos, decantação cuidadosa do sôro obtido e agitação com 2-3 vezes seu volume de ether de petroleo ao menos durante meia hora.

Uma e meia a duas horas de espera são ainda dispendidas para que a separação do sôro purificado se faça, uma nova centrifugação sendo util afim de verificar a ausencia absoluta de gorduras que se existirem, exigirão nova lavagem.

Não só o tempo gasto com todas estas manipulações é muito maior que o exigido para a inactivação dum sôro sanguineo, mas tambem o trabalho é excessivamente augmentado.

Por ahi já se vê que o sôro de leite não é tão pratico para a R. W. como o diz o Sr. Marçal.

D'outro lado a inactivação não tem unicamente por fim a destruição do complemento, seu papel principal mesmo não é esse.

A alexina existente nos sôros humanos é as vezes em tão fraca proporção que não perturbaria gravemente a reação, outrotanto não se dá com as substancias anticomplementares que pelo aquecimento a 56° durante meia hora são destruidas na sua quasi totalidade.

E' perfeitamente conhecido o forte poder inhibitorio dos soros não aquecidos e que como o demonstraram Seligman e Pincus são capazes de levar á falsas reações positivas.

O que acabamos de affirmar applica-se tambem ao sôro de leite como o podemos verificar por nossas observações.

Ainda diz o Sr. Marçal que a reação perfeitamente se procede no simples sôro de leite, contendo sufficientes gorduras para sobrenadarem, permittindo a leitura do resultado pelo aspecto do liquido sub-jacente.

Ninguem ignora o poder anticomplementar dos sôros lipemicos e as difficuldades que por essa propriedade causam ao serologista na apreciação de seu valor impediente especifico.

E nesses sôros a quantidade de gorduras existentes é sensivelmente menor do que num sôro lacteo nas condições de que nos falla o autor.

Se reações negativas foram conseguidas com seu uso só podem ser attribuidas a um grande excesso de complemento ou de hemolysinas ou a uma leitura incorrecta do resultado obtido.

No capitulo seguinte considerações mais detalhadas faremos a este respeito.

LEITURA DA REAÇÃO

Tem sido a preoccupação da maior parte dos pesquisadores fazer da R. W. não sómente uma reação qualitativa, mas tambem quantitativa, de modo que pelo gráo de hemolyse obtida se possa calcular o valor impediente do sôro examinado o que para a interpretação clinica é de real importancia.

Sendo a Wassermann uma reação entre 3 substancias: antigeno, serum e complemento, é natural que se tenha procurado fazer esta avaliação por modificações na dóse usada destas substancias.

Citron que foi um dos primeiros a adoptar estas idéas, servia-se de dois tubos, um contendo dóses completas de antigeno e sôro suspeito, o outro sua metade.

Thomsen, Boas e alguns mais observadores usaram dóses decrescentes do sôro a examinar; Sormani parece ter sido o primeiro a utilizar as doses decrescentes de antigeno, o mesmo podendo dizer-se de Browning e McKenzie quanto ás doses crescentes de complemento no que foram seguidos por Calmette e Massol, Besredka, Stern etc.

Todos estes methodos fornecem resultados mais ou menos comparaveis quanto ao seu valor pratico, nós como vimos, damos preferencia ao uso de doses crescentes de sôro, guardando fixas as de antigeno e complemento.

O Sr. Marçal usa além dos dous tubos indicados por Citron outros dois como no processo de Wassermann-Meyer, contendo dose completa de antigeno para meia de sôro e inversamente, naturalmente com o fim de melhor poder avaliar a intensidade da reação.

A relação, porém, de sua leitura fal-a de modo insufficiente já que se contenta em assignalar:

Reação positiva ..... se houve inhibição
« negativa ..... « « hemolyse

considerando para ligeira hemolyse, a reação fracamente positiva.

Essa expressão de ligeira hemolyse pouco ou quasi nada indica; como a comprehendemos, seria o caso em que predominando sobretudo o impedimento, se notasse apenas uma leve coloração do liquido.

Toda vez que um gráo mais accentuado de hemolyse exista a reação será, pois, considerada negativa.

Por esse modo de interpretação deixam de existir para o Sr. Marçal todas aquellas reações transitorias cujo valor clinico é as vezes precioso e para obtenção das quaes tantos cuidados tem tido os diversos serologistas em aperfeiçoar cada vez mais seus methodos de exame, experimentando novos antigenos e dando maior rigor as titulagens.

Julgamos achar a razão de seu proceder na pouca sensibilidade do processo que usa o qual falho como a demonstramos, para as proprias reações francas, nas leves não permitte segurança sufficiente para tel-as em consideração.

Nós trabalhando com maior exactidão, pensamos ser nosso dever confiar ao clinico os resultados a que chega-

mos, indicando lhe por extenso e de forma comprehensivel o gráo de impedimento do sôro que nos confiou ao exame.

Não nos queremos attribuir o direito de proclamar negativa uma reação em que alguma cousa mais ha e só elle poderá dar o valor devido a essa inhibição parcial.

Eis, senhores professores, os motivos porque preferimos nosso methodo ao utilizado por nosso predecessor no presente estudo.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

CAPITULO III

A. R. W. no sôro de leite

Compromettemo-nos a estudar em nosso trabalho a pratica da reação de Wassermann no sôro de leite, tendo-nos até agora unicamente occupado com a descripção dos methodos empregados pelo autor do estudo original e por nós.

Esse addendo poderia parecer inutil, julgamol-o entretanto indispensavel para bem se poder comparar os resultados aliás discordantes, obtidos por ambos os pesquizadores.

E' assim que apresentou o Sr. Marçal 13 observações nas quaes era exacta a concordancia para as reações praticadas com os soros sanguineo e lacteo da mesma paciente:

Nove negativas francas, quatro positivas das quaes uma (n.º 4), francamente positiva a principio, tornou-se fraca após alguns mezes de tratamento especifico.

Nós tivemos occasião de examinar 54 sôros de leite, numero bem limitado a que fômos no emtanto obrigados a nos restringir pela falta absoluta de tempo.

Sempre que nos foi possivel praticamos as reacções com os dois sôros, sanguineo e lacteo, na mesma sessão, com o mesmo material afim de evitar que uma possivel differença no ajustamento dos constituintes não podesse ser accusada como responsavel por uma divergencia qualquer nos resultados.

Eis em detalhe nossas

OBSERVAÇÕES

OBSERVAÇÃO N.º 1

Hortencia G... (Pap. 1819).
Brazileira, 34 annos, côr branca, casada, multipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0

OBSERVAÇÃO N.º 2

Celina F... (Pap. 1619).
Brazileira, 25 annos, côr branca, solteira, multipara.
R. W.

No sangue: 0
No leite: + + +

OBSERVAÇÃO N.º 3

Suzanna F . . . (Pap.? n.º de ordem 86)
Brazileira, 24 annos, côr mixta, casada, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +.

OBSERVAÇÃO N.º 4

Maria F. R . . . (Pap. 2.133)
Brazileira, 21 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: +. + 0
No leite: +. + 0

OBSERVAÇÃO N.° 5

Carolina da S... (Pap. 2.243)
Brazileira, 21 annos, côr branca, solteira.
R. W.

No sangue: 0 +
No leite: +. + 0

Inhibição bem accentuada no test. com 0,4 de sôro lacteo e que se póde traduzir por *0*

OBSERVAÇÃO N.° 6

Albertina S. (Pap. 2.158)
Brazileira, 20 annos, côr preta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +o

OBSERVAÇÃO N.° 7

Felicia B... (Pap. 1.945)
Brazileira, 20 annos, côr preta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0 0 0

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

OBSERVAÇÃO N.° 8

Rosalina R... (Pap. 2.138)
Brazileira, 30 annos, côr branca, casada, multipara.
R. W.

No sangue: 0 +
No leite: + 0

Sôro de leite pobre em gorduras; impedimento mesmo no test. com 0,2: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 9

Othilia S... (Pap. 2.304)
Brazileira, 18 annos, côr branca, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +. +0

Sôro de leite rico em gorduras ; impedimento no test. 0,2 : 0+0

OBSERVAÇÃO N.º 10

Acacia S. dos S...
Brazileira, 30 annos, côr mixta, casada, multipara.
R. W.

No sangue: 0+
No leite: +o

Levissimo impedimento no test. 0,4 : .0.

OBSERVAÇÃO N.º 11

Cantalina M... (Pap. 881)
Brazileira, 20 annos, indiatica, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: +o
No leite : +0+

Impedimento test. 0,4: *0*

OBSERVAÇÃO N. 12

Eulalia A. da S... (Pap. 2.215)
Brazileira, 20 annos, côr preta, viuva, multipara.
R. W.

No sangue: +0
No leite : + +. +0

Impedimento test. 0,4: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 13

Adelaide da S... (Pap. 1.981)
Brazileira, 17 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 14

Joanna S... (Pap. 2.451)
Allemã, 22 annos, côr branca, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0.

OBSERVAÇÃO N.º 15

Clarinda C... (Pap. 2.434)
Brazileira, 37 annos, côr branca, casada, multipara
R. W.

No sangue: 0.
No leite: 0*
Impedimento test. 0,4: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 16

Albertina da S... (Pap. 2.170)
Brazileira, 22 annos, côr branca, primipara.
R. W.

No sangue: 0.
No leite: 0.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

OBSERVAÇÃO N. 17

Theodora O... (Pap. 2.522)
Brazileira, 20 annos, côr mixta, solteira, multipara.
R. W.

No sangue: +. +o
No leite: 0.

OBSERVAÇÃO N.º 18

Maria C. de C... (Pap. 2.546).
Brazileira, 25 annos, côr mixta, solteira, multipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0 0 0

OBSERVAÇÃO N.º 19

B. (Clinica civil do Dr. C. Geyer.)
R. W.

No sangue: + + +
No leite: 0

Como pela primeira vez fizessemos a reação no leite alguns mezes após a do sangue, resolvemos repetil-as em uma unica sessão, obtendo resultado identico. Um tubo testemunha com dóse dupla de sôro de leite e sem sôro hemolytico manteve-se em inhibição completa.

OBSERVAÇÃO N.º 20

Albertina de O... (Pap. 2.563)
Brazileira, 19 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0.
No leite: 0*
Reacção praticada com sôro sómente centrifugado: .0.

OBSERVAÇÃO N.º 21

Rosalina dos S... (Pap. 2.614)
Brazileira, 24 annos, côr mixta, solteira, multipara.
R. W.

No sangue: +o
No leite: +.

OBSERVAÇÃO N.º 22

Sansa P... (Pap.?)
Brazileira, 19 annos, branca, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +0+

Reacção no leite sómente centrifugado: .0.
Impedimento test. 0,2 do leite lavado com ether: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 23

Noemia M... (Pap. 2.615)
Brazileira, 25 annos, côr branca, solteira, primipara

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

Impedimento no test. 0,4: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 24

Maria C... (Pap. 2.704)
Brazileira, 27 annos, côr mixta, solteira, multipara.
R. W.

No sangue: +. +o
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 25

Alvina V... (Pap. 2.702)
Brazileira, 33 annos, côr mixta, casada, multipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +0

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

OBSERVAÇÃO N.º 26

M. (Clinica civil do Dr. C. Geyer)
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0 0 0

OBSERVAÇÃO N.º 27

Elizia I. M... (Pap. 2.457)
Brazileira, 18 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0+
No leite: *0*

OBSERVAÇÃO N.º 28

Maria V. P... (Pap. 2.681)
Brazileira, 31 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: + + +
No leite: +0

OBSERVAÇÃO N.º 29

Justina M. M... (Pap. 2.781)
Brazileira, 21 annos, côr branca, casada, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 30

Maria A. da S... (Pap. 2.780)
Brazileira, 24 annos, côr branca, casada, multipara
R. W.

No sangue: 0
No leite: +0

OBSERVAÇÃO N.º 31

Izaltina V. dos S... (Pap. 2.809)
Brazileira, 17 annos, côr branca, solteira, primipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 32

Wanda R... (Pap. 2.873)
Russa, 43 annos, branca, multipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0.

OBSERVAÇÃO N.º 33

Clara dos S... (Pap. 2.892)
Brazileira, 19 annos, côr mixta, solteira, primipara

No sangue: 0.
No leite: +0

Impedimento test. 0,4: .0.

OBSERVAÇÃO N.º 34

Alzira B... (Pap. 2.888)
Brazileira, 14 annos, côr mixta, solteira, primipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0 0 0

Impedimento test. 0,4: .0.

OBSERVAÇÃO N.º 35

Sophia C... (VI.ª secção; pap.?)
Brazileira, 29 annos, côr branca, casada, multipara.
R. W.

No sangue: +o+o
No leite: + + +

Impedimento test. 0,4: .0.

OBSERVAÇÃO N.º 36

Maria das Dôres R... (Pap. 2.758)
Brazileira, 20 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: + + +
No leite: 0*

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

OBSERVAÇÃO N.º 37

Izabel da S . . . (Pap. 2.710)
Brazileira, 25 annos, côr preta, casada, multipara
R. W.

No sangue: 0.
No leite: 0 0 0

OBSERVAÇÃO N.º 38

Izabel L . . . (Pap. 2.364)
Brazileira, 22 annos, côr branca, viuva, multipara.
R. W.

No sangue: 0
No leite: 0 0 0
Impedimento insignificante no test. 0,2: 0.

OBSERVAÇÃO N.º 39

Othilia M. (Pap. 2.997)
Brazileira, 19 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue 0.
No leite: 0 0 0

OBSERVAÇÃO N.º 40

Braulia de O . . . (Pap. 3.004)
Brazileira, 19 annos, côr mixta, solteira, primipara.
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 41

Magdalena B . . . (Pap. 2.934)
Italiana, 42 annos, côr branca, casada, multipara

No sangue: 0 0 0
No leite: 0.

OBSERVAÇÃO N.º 42

Rosalina L. de A... (Pap. 3.007)
Brazileira, 24 annos, côr branca, viuva, primipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 43

Idalina G... (Pap. 3.086)
Brazileira, 27 annos, côr mixta, solteira, primipara
R. W.

No sangue: 0.
No leite: 0+

OBSERVAÇÃO N.º 44

Natalia G. da S... (Pap. 3.098)
Brazileira, 18 annos, côr mixta, solteira, primipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +0

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

OBSERVAÇÃO N.º 45

Geraldina R... (Pap. 3.129)
Brazileira, 20 annos, côr mixta, casada, multipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: +. +0
Impedimento no test. 0,2 : .0.

OBSERVAÇÃO N.º 46

L... (VI.ª secção)
Brazileira, preta, 21 annos, solteira, primipara
R. W.

No sangue: +o+0
No leite: +0

OBSERVAÇÃO N.º 47

Francisca J... (Ambulatorio da VI.ª secção)
Italiana, 27 annos, côr branca, casada, multipara
R. W.

No sangue: 0 0 0
No leite: 0 0 0

OBSERVAÇÃO N.º 48

Maria L. dos S... (Pap. 3.225)
Brazileira, 19 annos, côr branca, solteira, primipara
R. W.

No sangue: + + +
No leite: +o +0

OBSERVAÇÃO N.º 49

Geraldina R. de O... (Pap. 3.139)
Brazileira, 28 annos, côr mixta, casada, multipara.
R. W.

No sangue: +o
No leite: +0

OBSERVAÇÃO N.º 50

X. (Caso fornecido por nosso collega J. F. Barboza)
Brazileira, 40 annos, côr branca, viuva, multipara.
R. W.

No sangue: +o
No leite: +0

Impedimento .0. no test. 0,2 do sôro lavado com ether de petroleo, hemolyse completa no simplesmente centrifugado.

OBSERVAÇÃO N.º 51

Maria do C. L... (Pap. 3.280)
Brazileira, 20 annos, côr branca, casada, multipara
R. W.

No sangue: +o
No leite: 0*

Maior impedimento nos testemunhos do sôro lavado com ether de petroleo do que nos do simplesmente centrifugado.

OBSERVAÇÃO N.º 52

Marieta P. da S... (Pap. 3.299)
Brazileira, 14 annos, côr preta, solteira, primipara.
R. W.
No sangue: 000
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 53

Joanna de P... (Pap. 3.250)
Brazileira, 20 annos, côr branca, casada, multipara.
R. W.
No sangue: 0*
No leite: 0*

OBSERVAÇÃO N.º 54

Maria da S. de S... (Pap. 3.317)
Brazileira, 18 annos, côr mixta, solteira, primipara
R. W.
No sangue: +. +o
No leite: +0

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

Conservamos na pratica dessas reações, a exemplo do Sr. Marçal, um tubo testemunho do sôro de leite com 0,4 no qual, ao contrario do que vimos em seu trabalho escripto, nem sempre obtivemos hemolyse completa.

Por varias vezes assignalamos este facto na relação de nossas observações, não sendo fóra de proposito dizer que na apreciação dos resultados sempre demos o desconto devido a essa inhibição.

Quanto ao preparo do sôro de leite como já temos dito, seguimos exactamente as indicações do senhor Marçal, não deixando no emtanto de experimentar a depuração das gorduras unicamente pela simples centrifugação, repetindo-a e decantando o sôro obtido até ellas não mais apparecerem na superficie do liquido.

Assim procedendo obtivemos bons resultados, particularmente hemolyse mais constante no testemunho de 0,4 o que julgamos devido á ausencia da acção inhibitoria do ether de petroleo.

Com effeito, quando com este dissolvente a que foi dada preferencia por não ser autohemolysante, trata-se um sôro sanguineo normal como se fôra um sôro de leite, em vez da hemolyse absoluta (0 0 0) obtem-se sempre um certo impedimento (0. a 0*).

Experimentamos tambem aquecer o sôro lacteo a 56° durante meia hora e uma diminuição notavel de seu poder anticomplementar foi conseguida.

Não levamos no emtanto em conta estas modificações das quaes pela exiguidade do tempo que dispunhamos, poucas vezes tivemos occasião de fazer uso; uma cousa, porém, podemos deixar registrada, que é a permanencia de desegualdade nos resultados.

Como affirmasse o autor do trabalho original, processar-se bem a reação mesmo nos sôros em que restavam gorduras sufficientes para sobrenadar nos tubos, apezar de convencidos do contrario uma vez tentamos reproduzir sua próva.

Tomamos 2 sôros de leite, um (Obs. n.° 8) correspondente a um sangue tendo dado reação positiva muito fraca (0+) e outro a um sangue normal 0 0 0 (Obs. n.° 9)).

No primeiro propositalmente deixamos uma proporção fraca de gorduras, no segundo uma mais forte; o effeito desta experiencia foi conseguirmos maior hemolyse no sôro em que havia menos gorduras e a reação do sangue era positiva, respectivamente +0 e +.+0

Até agóra temo-nos servido quer em nossas titulagens quer

na relação dos resultados de nossas observações de signaes convencionaes que julgamos será facil ao leitor interpretar, sabendo que por + queremos designar impedimento e por 0 hemolyse total, accrescentando-lhes o, * e. para indicar os termos de transição.

Com o fim de facilitar-lhes a comprehensão aqui damos uma lista dos principaes:

+	Inhibição total	
.+.	"	quasi total
o+o	"	com traços de hemolyse
0+0	"	com hemolyse accentuada
+0+	Hemolyse	com inhibição accentuada
0	"	com turvação leve
.0.	"	com turvação muito leve
0	"	total

Suas combinações sendo facilmente comprehensiveis, não necessitam maior esclarecimento.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE

Conclusões

Resumindo os resultados colhidos por C. Marçal em seu trabalho, póde-se dizer ter elle chegado ás conclusões seguintes:

O emprego do sôro de leite apresenta sobre o do sanguineo as vantagens de ser de mais facil colheita, não possuir substancias hemolyticas e simplificar a technica da reação, pois, sendo desprovido de complemento a inactivação é dispensavel. Emfim, vista a uniformidade de resultados obtidos para o mesmo individuo em um e outro sôros, deve-se dar-lhe preferencia toda vez que se tratar de uma lactante. "O sôro de leite é um meio pratico para a reação de Wassermann — são suas palavras."

Estamos promptos em concordar quanto á maior facilidade da colheita de material, a puncção venosa nem sempre sendo facil e as mais das vezes repugnando á paciente.

Do mesmo modo quanto a ausencia de substancias hemolyticas e complemento, porém, d'ahi abster-se da inactivação não julgamos procedimento correcto pelas razões que acima tivemos occasião de expôr.

Ainda admittindo não ser necessaria a inactivação, nem por isso consegue-se vantagem alguma, pois, como vimos, para obter um sôro de leite em condições 2 horas na media são dispendidas com muito mais trabalho que o de collocar o sôro sanguineo em um tubo e deixal-o por 30 minutos num banho-maria regulado a 56°.

Por outro lado não encontramos a concordancia assignalada pelo Sr. Marçal.

De nossas 54 observações antes podemos julgar não apresentar o sôro reação praticada com o leite especificidade alguma; assim para 3 casos em que aliás tratava-se de pacientes

clinicamente reconhecidas lueticas, emquanto no sangue obtinha-se reação francamente positiva + + +, no leite ella era negativa ou positiva muito fraca (Obs. 19, 28, 36), as negativas com o sangue e fraca ou nitidamente positivas no leite ainda são em maior numero (18).

No decurso de nosso trabalho podemos apreciar a existencia na maioria dos sôros lacteos de uma substancia qualquer, fixadora do complemento.

Anticorpo especifico não nos inclinamos a crer que seja, antes productos metabolicos eliminados por essa via.

Famulener aliás aventára essa idéa para o caso particular do leite de mulheres syphiliticas em que julgava assumpto não resolvido, a existencia dos anticorpos assignalados por Thomsen e outros observadores.

Sobre esta questão da pratica da R. W. com o sôro de leite não pretendemos absolutamente ter dado a ultima palavra; observações mais numerosas e acuradas, fazendo variar os methodos de exame para tal seriam necessarias. Isso deixamos ao cargo de pesquizadores com maior preparo do que o autor deste modesto trabalho que o apresenta apenas como uma contribuição ao seu estudo.

Em resumo:

1.º — O emprego do sôro de leite na reação de Wassermann não é um processo pratico. Sua preparação muito mais trabalhosa e demorada não compensa as difficuldades que bem raramente se encontram na colheita do sangue.

2.º — Nossas observações pessoaes as mais das vezes fornecem resultados em desaccôrdo com os da reação praticada com o sôro sanguineo e com a clinica.

Eis um quadro synoptico do que vimos de dizer:

Egual gráo de hemolyse em ambos os sôros	7 casos
Hemolyse mais accentuada com o leite	16 casos
Hemolyse mais accentuada com o sangue	31 casos

3.º — Não vemos motivo algum para preferir o uso do sôro de leite ao sanguineo.

ADDENDO

Nosso trabalho impresso em época anormal encerra muitos erros typographicos que o leitor intelligente saberá relevar.

BIBLIOTECA DA FACULDADE DE MEDICINA DE PORTO ALEGRE