

Francisco da Cruz Vieira e Brito

Sôbre a reacção
de Wassermann

(CLÍNICA E LABORATÓRIO)

Dissertação de doutoramento
na Faculdade de Medicina de
Coimbra



BRAGA
Tip. A. Costa & Matos
1918



Medicina

Sala 5
Gab. —
Est. 56
Tab. 8
N.º 25

Sala 5
Gab. -
Est. 56
Tab. 8
N.º 25



UNIVERSIDADE DE COIMBRA
Biblioteca Geral



1301088485



Francisco da Cruz Vieira e Brito

Sôbre a reacção
de Wassermann

(CLÍNICA E LABORATÓRIO)

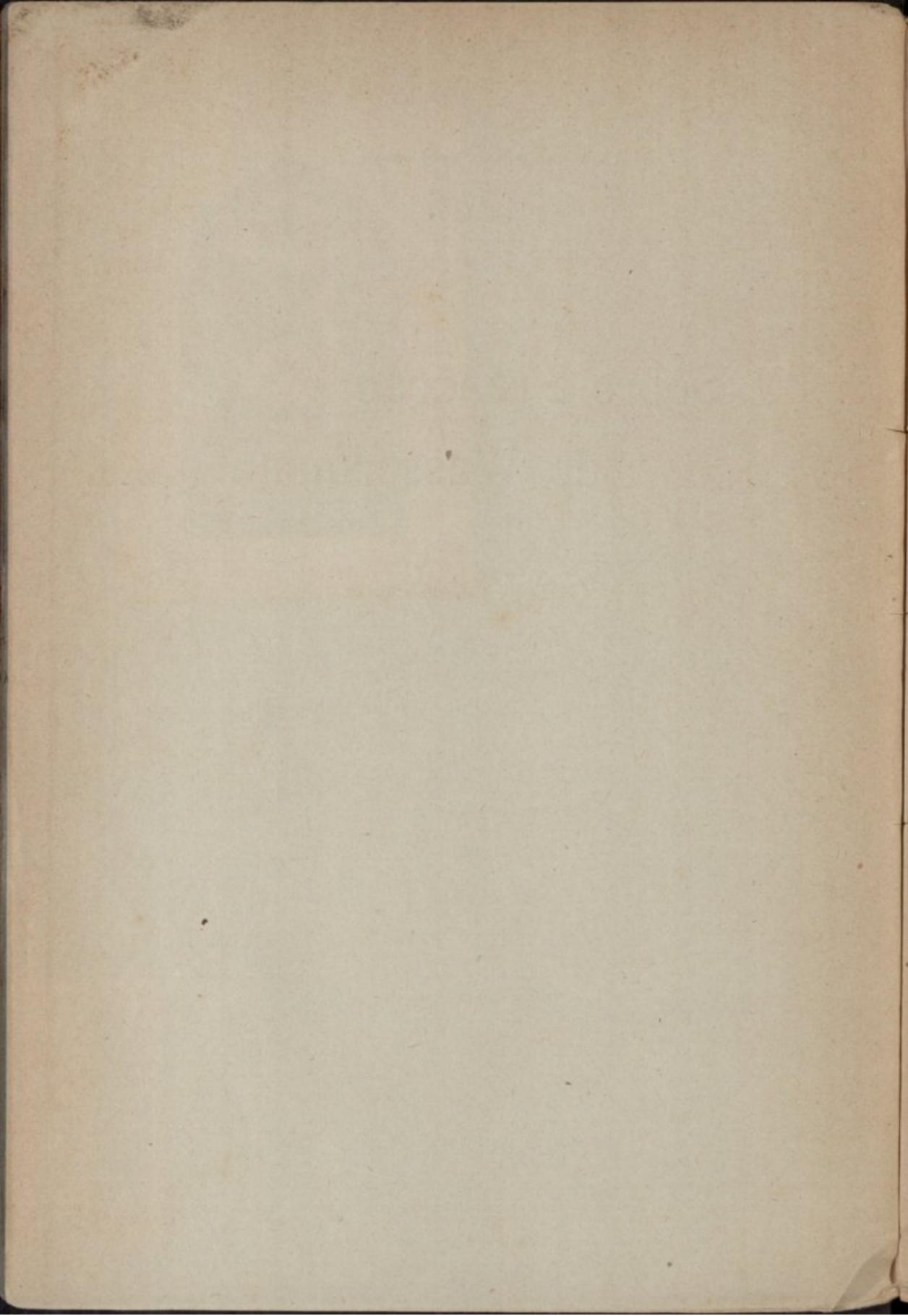
Dissertação de doutoramento
na Faculdade de Medicina de
Coimbra



13 MAE. 19

BRAGA
Tlp. A. Costa & Matos
1918

b 18339074

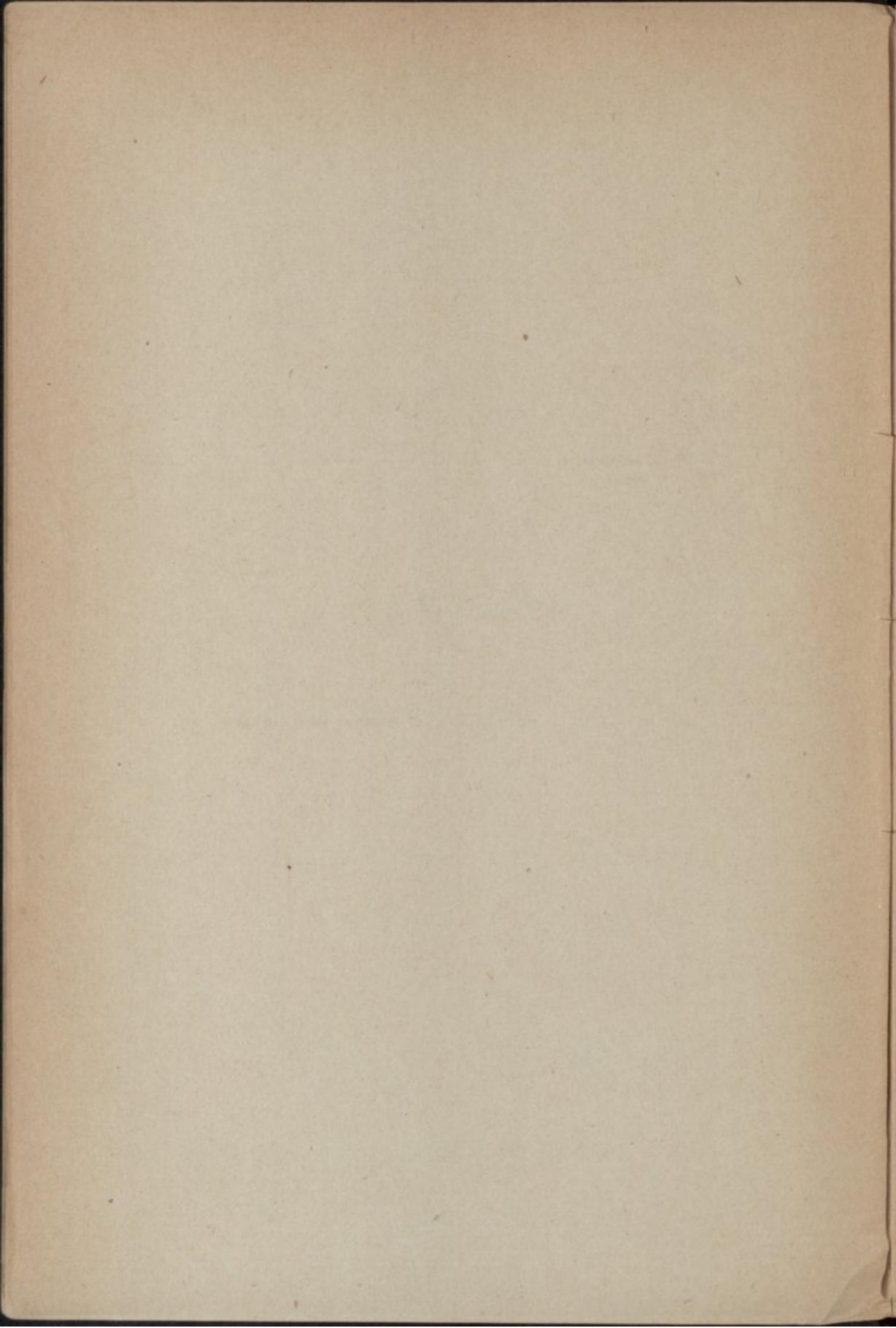


A memória

de

Meus Pais

Lágrimas de saudade



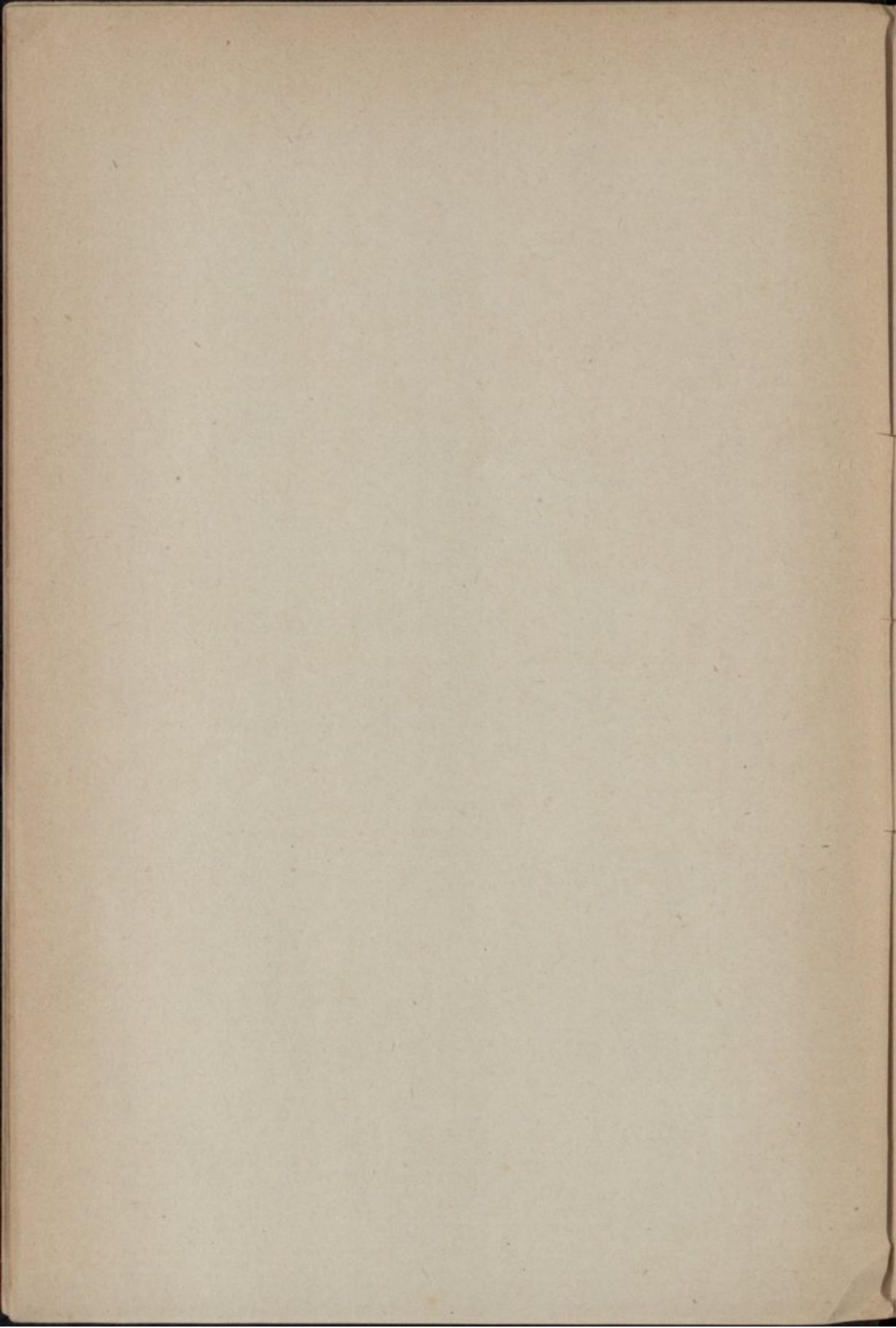
A

meus Tios

———— e ————

minhas Tias

multa dedicação e reconhecimento



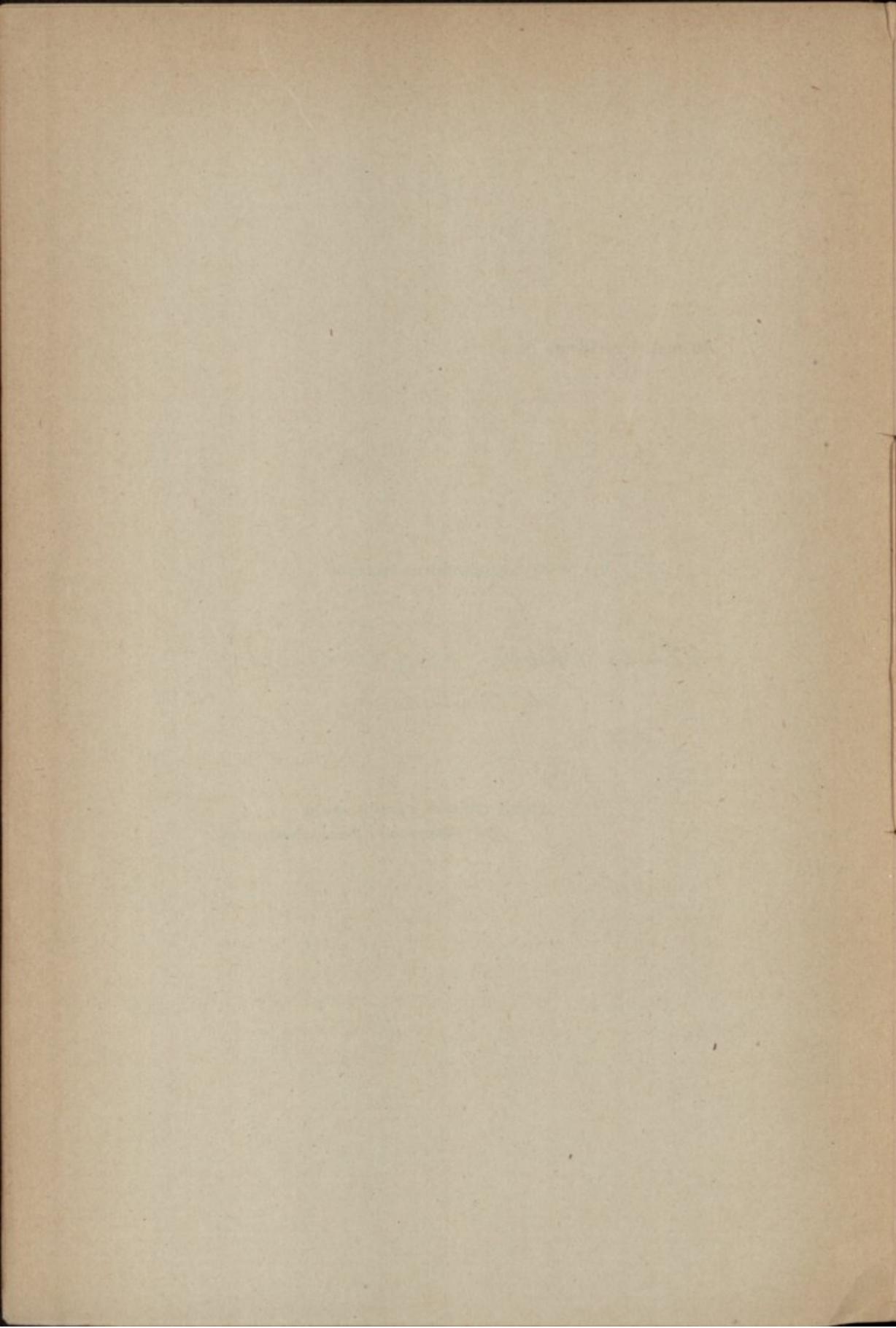
Ao meu Presidente do juri

o

Ilustrissimo e Excelentissimo Professor

*Doutor Adelino Vieira de Campos
de Carvalho*

grande professor e grande amigo,
em testemunho de muita consideração



DUAS PALAVRAS

Les progrès des sciences medicales ont considerablement etendu au cours de ces derniers annés le champ des examens de laboratoire apliqués aux etudes cliniques et même a la medecine pratique.

Indispensable a tous ceux qui veulent entreprendre des recherches scientifiques, leur connaissance s'impose déjà et s'imposera toujours davantage aux praticiens, tous devant etre á même de les utiliser, dans la mesure ou le comporte l'interêt des malades qui se confient à leur soin.

LE BARD - *Congrès des medecins suisses.*

Elaborando este trabalho para dar cumprimento á lei da reforma do ensino médico de 22 de fevereiro de 1911 que nos obriga a defesa duma tese original e impressa para o doutoramento em medicina, escolhi um assunto com que significar a importância dia a dia crescente das applicações práticas do laboratório á cli-

nica, principalmente na diagnose das diferentes entidades mórbidas.

A medicina, uriunda do empirismo e das fórmulas sacerdotais dos antigos tempos, na evolução continua das sciências pelo prepassar dos séculos, atravessando o misticismo da idade média, como todas as outras grandes manifestações da intellectualidade humana tem chegado aos nossos dias continuamente progredindo pelo abandôno de certos processos antigos, modificação doutros e criação de novos métodos de estudo, tendentes todos à concepção analítica, que caracteriza a medicina de hoje. É no variadissimo complexo de que se compõem os assuntos médicos, o capítulo da semiologia e diagnose clínica é sem dúvida aquele sôbre que mais intensamente se tem acentuado êsses progressos, como era aliás racional, sendo êle como é o principio lógico dos outros capítulos e a base indispensavel à applicação conscienciosa do grande fim da medicina: a cura das nosopatias.

Sem querer fazer aqui divagações sôbre a história da evolução clinica, quero no entanto frisar, que, primitivamente inteiramente subjectivo, o diagnóstico das doenças não passava da concretisação duma symptomatologia abstracta, pelo doente referida; e assim se considerava um gastropata o peritonítico que vomitava, como se rotulava na patologia abdominal, a criança que por um processo pneumónico aí sentia dor.

Veiu depois a observação clinica consciente; a

percussão, a auscultação, o estudo do pulso, da temperatura, da respiração, o pêso, a côr, etc., são outros tantos meios que sciência poz á disposição do clínico para a exploração dos órgãos doentes e procura de sintomas, que, constatados e devidamente relacionados entre si, traçam o caminho que conduz á classificação da doença, no quadro geral da patologia.

Finalmente o laboratório introduzido na clínica, pelo resultado das suas indicações veio fornecer um precioso auxilio para confirmar ipóteses etiológicas, iluminar patogenias indecisas, estabelecer ou confirmar um diagnóstico, dando-lhe um character de certeza, que a observação clínica a maior parte das vezes não precisava ainda.

E ninguem ignora actualmente a consideravel importância das análises laboratoriais, na clínica diaria.

Na observação clínica a grande dificuldade está na transformação do sintoma em sinal, do fenómeno colhido fazer um elemento de diagnóstico. A constatação exacta dos sintomas implica a educação dos sentidos e o conhecimento dos métodos de investigação; a sua interpretação, das suas mútuas relações e com as modificações anatómicas, numa palavra o diagnóstico da doença e dos seus factores pela observação clínica, exige um conhecimento sufficiente da patologia e um âmbito de espirito, que ás vezes e só insufficientemente fornece, uma longa prática da medicina.

Por outro lado um sôro-diagnóstico bem feito, o

resultado duma hemocultura, o exame duma expectoração, a medida da tensão arterial, o traçado esfigmográfico dum pulso e tantos outros meios de investigação laboratorial, são processos de diagnose flagrantes de realismo e precisão, como económicos em raciocínio e experiência.

Mas ha mais: Na complexidade dos fenómenos estudados em patologia, capítulos temos onde a análise clínica é não só conveniente, como ainda indispensavel. Todos sabem a necessidade absoluta da análise da urina em patologia renal, da análise do sangue em tantas anémias, leucemias, pseudo-leucemias e esplenomegalias, da análise do líquido céfalo raquídio nos processos meningíticos, da análise da expectoração em tantas afecções pulmonares, para não falar já da importância do valor semiológico da análise de corrimentos, exsudatos, derrames, líquidos gástricos e muitos outros.

E' claro que a diagnose não se funda exclusivamente em geral sobre os dados analíticos, mas sim num conjunto de observações que se completam; quem ousaria no entanto afirmar que uma análise bem feita não tem muitas vezes modificado em grande escala a conclusão dum exame clínico, opondo a certeza do facto, a imprecisão da hipótese, por vezes tão sedutora.

No diagnóstico etiológico, ou seja no estudo das causas gerais que teem podido ter uma influência mais

ou menos directa sôbre a génese da doença, influência que muitas vezes se exerce sôbre a marcha da mesma e está mais ou menos ligada com os métodos de tratamento, a importância da análise clínica é considerável. Quantas arterites crónicas progressivas reveladas sifilíticas por uma reacção de Wassermann, são curadas ou detidas na sua marcha por uma terapêutica adequada!

O laboratório com a procura do agente etiológico investiga ainda as condições de predisposição e o estado funcional dos órgãos, bem mais importante para o clínico, que a apreciação do seu estado anatómico; e é do estudo dêstes factores indispensaveis em patologia, que o médico tira os elementos para a evolução e prognóstico da doença, e terapêutica a instituir.

Porque só êle permitirá a elucidação sôbre certos casos, a consulta nêsses casos ao laboratório de análises é então uma obrigação para todo o clínico; e digo propositadamente para todo o clínico, para nêle fazer compreender não só o médico como ainda o cirurgião.

Na presente guerra em que tanto se teem accentuado os progressos da cirurgia, uma das suas mais brilhantes glórias, o tratamento das feridas infectadas pelo método de Carrel, tem por base o exame laboratorial. Isto justifica bem as palavras de Quenu: *c'est en prenant le laboratoire pour idéal que le chirurgien perfectione ses methodes* — *Bul. soc. chirurg.*

O médico que actualmente se restringisse aos an-

tigos processos clínicos, podia ser comparado ao cirurgião que se risse da asepsia e da antisepsia, diz Guiart e Grimbert.

Estamos numa época de transição ; a medicina tende enfim a abandonar as vias do empirismo para seguir os dados da ciência experimental. E nas aplicações do laboratório, os meios de investigação desde os métodos físico-químicos mais simples até aos processos biológicos mais complicados tendo também continuamente progredido pela variedade e novidade dos métodos empregados, os sôros diagnósticos, acentando sôbre o estudo das reacções humorais, representam sem dúvida hoje, a última palavra em análise clínica. As suas aplicações práticas são já consideráveis para remediar incertezas que o exame clínico não precisa, e de futuro, como processos específicos que são, com os aperfeiçoamentos da técnica, estou convencido, serão os grandes processos de diagnose.

*

* *

Muito se tem escrito ultimamente sôbre a reacção de Wassermann, e para muitos mesmo o assunto é já suficientemente esgotado.

Parece-me no entanto que neste melindroso capítulo das reacções humorais, produzidas no organismo pela introdução de corpos estranhos, longe de estar

pronunciada a última palavra, muito existe ainda de misterio, e assim, no sôro diagnóstico da sífilis pelo desvio do complemento, conquanto o mais espalhado e hoje o melhor conhecido no seu mecanismo biológico, muito existe também a interpretar e a aperfeiçoar.

Procurarei dar ao meu trabalho um caracter quanto possivel práctico no laboratório, na clínica e nas suas mútuas relações.

Não tenho pretensões literárias nem sciêntíficas, e tive apenas em vista fazer uma nítida apreciação pessoal dum assunto hoje tanto em voga, mesmo fóra do campo dos princípios médicos; trabalhei e espero ter feito alguma coisa que represente esforço: fiz por ser o mais completo possivel nêstes assuntos, conclui de muitas dezenas de observações clínicas, pratiquei perto de 800 reacções de Wassermann só nêste ano lectivo passado, e todos sabem a delicadeza técnica destas manipulações de sôro diagnóstico.

Abro a minha dissertação por algumas considerações gerais sôbre a defeza orgânica e o principio da imunidade, problemas de patologia geral de conhecimento indispensavel ao assunto que me propuz tratar, dizendo a seguir algumas palavras sôbre a imunidade na sífilis.

Sôbre a reacção de Wassermann procuro interpreta-la à face dos dados actuais, descrevo os diferentes métodos que ensaiei, entre êles de novo nos nossos laboratórios o processo de Benard e Joltrain apresen-

tado pelos autqres à «Sociedade de Biología» e publicado no respectivo boletim em julho de 1910, comparo os resultados dos diferentes métodos, tiro pequenas conclusões de ordem técnica e de interpretação que a prática me sugeriu, faço a crítica da reacção pelos resultados de muitos autores e pelos que obti em quasi todos os doentes da 2.^a clinica médica homens e muitas dezenas de outras clinicas onde a pratiquei, encerrando o meu trabalho por algumas palavras sôbre a reacção de Wassermann e a terapèutica anti-sifilítica, a reacção de Wassermann e certos problemas de ordem social.

E se nas minhas conclusões alguma fôr contra o geralmente admitido, representa apenas um modo de ver pessoal, embora baseado em muitas observações dêstes assuntos de laboratório, a que me tenho dedicado com particular interesse.

Coimbra, 10 de julho de 1918.

INTRODUÇÃO

A defesa orgânica e o problema da imunidade

Quel travail peut presenter plus d'attrait pour un biologiste que l'étude approfondie des moyens de defense employés par l'organisme pour proteger contre certaines substances étrangères le jeu si harmonieusement réglé de ses échanges nutritifs !

* ABDERHALDEN.

O que é a vida? Quási todos os filósofos e fisiologistas teem dissertado longamente sôbre ela, todos nós a observamos nas diferentes modalidades da sua actividade funcional, todos nós a sentimos no metabolismo íntimo, nas suas mútuas relações e com o mundo exterior, e no entanto, como o legislador que

vinca insufficientemente no código o produto da sua imaginação por insuficiência psíquica da linguagem na tradução do pensamento, igualmente a ciência não conseguiu ainda até hoje dar-nos uma definição exacta, em que traduzisse bem a essência íntima da vida.

E' que a vida não é um princípio de existência objectiva, como repetia Claud Bernard, não corresponde a uma entidade, é uma expressão metafísica, e daí a ciência limitar-se à investigação das propriedades dos elementos anatómicos e das condições físico-químicas que regulam todos os fenómenos vitais.

No domínio experimental a biologia científica começa com as investigações de Lavoisier e Laplace em 1870 para vêr se a quantidade de calor para igual quantidade de gás carbónico desenvolvido, é igualmente desenvolvida por um animal de sangue quente e pela combustão duma vela. Foi a primeira tentativa para reduzir o fenómeno vital a processos físico-químicos.

Estas investigações foram continuadas por Pettekofer, Rubner, Zuntz, Atwater e outros, e para os que admitem as oxidações como factor primordial de todos os fenómenos vitais dos organismos, os trabalhos de Lavoisier e Laplace marcam como dissemos o princípio da biologia científica.

Para Bichat a vida é o conjunto de forças que se opõem à morte.

E' a idea de luta, aliás lembrada já por Hypocrates, e por Sydenham mais perto de nós.

Sob o ponto de vista funcional a vida entretem-se por um conjunto de acções exteriores e reacções orgánicas, cuja resultante é uma série de oscilações em torno duma normal fictícia. A matéria viva é uma instabilidade, é a resultante da tendência para um equilíbrio nunca atingido.

Diz Le Dantec

Existir é lutar, viver é vencer

E assim a luta é a grande lei natural, é um factor intrínseco de nós mesmos, um factor da nossa própria actividade.

Todo o ser vive lutando e portanto defendendo-se; e são estes meios de defesa que vamos procurar descrever resumidamente.

*

O organismo defende-se de muitos modos, embora tendo geralmente por base as trocas vasculares e nervosas e apossando sinergicamente os seus meios de defesa, conforme as circunstâncias. Defende-se por simples reflexos, defende-se pela adaptação, reage pela sudação, pela vaso-dilatação, pela evaporação, etc. etc.

Contra as substâncias estranhas invasoras, além das naturais condições de resistência, dispõe o orga-

nismo de defesas directas, tendo por base as células e os humores.

As reacções humorais defensivas, particularmente, teem despertado especial interesse nos ultimos tempos, já talvez pelo muito de misterioso que ainda encerram, já por serem os humores o grande reservatório das substâncias mórbidas e nutritivas, já por ser por meio delas que actuam a maior parte dos órgãos e das secreções, já finalmente pelas velhas noções sôbre os humores.

Para muitos leigos em coisas médicas com efeito, remontando vinte e tantos séculos atrás às teorias de Hypocrates e de Galeno, as alterações humorais fundamentam ainda hoje a causa com que explicam todos os casos da patologia. Os humores são para eles a pedra mágica da medicina, e assim baseiam em perturbações humorais uma dôr de dentes, como são capazes de explicar pela mesma causa a fractura d'uma perna ou uma facada no ventre.

Pondo de parte é claro estas noções fantasistas dos pregoeiros das doutrinas do passado para admitir simplesmente o que a sciência actual nos ensina, é no entanto um facto incontestavel a consideravel importância dos humores na medicina de hoje, como um dos mais poderosos protectores do organismo contra as substâncias extranhas.

E a defesa orgânica como factor intrínseco da vida,

abrange toda a escala biológica desde o homem ao mais ínfimo organismo mono-celular.

Suponhamos a ameba invadida por um corpo estranho sob a influência da quimiotaxia instintiva; atravessada a parede celular, o protoplasma reage englobando o invasor e procurando destruí-lo por processos de simples desdobraimento hidrolítico, oxidação, redução ou fragmentação, para o expulsar finalmente, se é que o não aproveita integrando-o na própria massa, como substância nutritiva.

O que dizemos para a ameba dizemo-lo também para os outros animais mono-celulares; a fagocitose é para eles o meio quase único de reacção do protoplasma e mostra-nos já a analogia dos processos de defesa e nutrição, aliás semelhantes nos animais superiores, onde os alimentos são também inimigos, que, devidamente transformados, o organismo utiliza para fontes de energia.

Escuso dizer que os processos de defesa e de nutrição destes seres ínfimos da escala biológica são tanto mais difíceis de estudar, quanto o organismo reage sempre do mesmo modo, aos agentes os mais variados.

Nos celenterados, nos vermes, nos insectos e na maioria dos crustáceos a fagocitose localizada a varias células é muito intensa, e constitue ainda o meio quase único da defesa orgânica.

Nos vertebrados superiores e sobre tudo no ho-

mem, o organismo actua ainda e principalmente pelas reacções extra-celulares de natureza humoral.

Num e noutro caso as reacções defensivas fazem-se á custa de fermentos, substâncias de natureza catalítica que não foi possível isolar ainda químicamente, e que se manifestam só pelas suas propriedades; são destruídos ou ao menos perdem essas propriedades pelo aquecimento a 70-80°, e precipitam pelo alcool conferindo ao precipitado as mesmas propriedades.

Nos animais superiores as células associam-se associando assim os seus meios de defesa num trabalho sinérgico.

Os órgãos e aparelhos resultantes destas associações facilitam a tal ponto a divisão do trabalho orgânico, que a paragem do funcionamento de certas células, pode provocar um marasmo geral, e a morte de muitas outras.

E contudo os elementos que constituem os órgãos variam pouco entre si; é o seu agrupamento sobre tudo que varia e que estabelece as diferenças na serie animal.

Consideradas isoladamente as células são muitas vezes bem semelhantes, embora em seres bem diferentes.

As próprias reacções de diferentes células se parecem em todas elas; todos conhecem a analogia das reacções da ameba e dos glóbulos brancos do homem, aos mesmos agentes exteriores.

E por isso diz Werworn: sendo a matéria viva

constituída de células, a sua função assenta sobre a função da célula e assim a fisiologia geral que explica os fenómenos vitais, não é mais que a fisiologia da célula. Qual é a natureza destas defesas dos seres vivos?

Parece haver propriedades defensivas de ordem geral como as lisinas fagocitárias, determinadas propriedades idrolíticas e desagregantes, a alcalinidade dos humores, etc., mas é sobre tudo por reacções de ordem específica, que os seres actuam sobre os invasores: o organismo reage às substâncias extranhas elaborando fermentos específicos capazes de as destruir.

Nos campos da patologia estas noções eram-nos reveladas já por varios factos de ordem experimental:

As transfusões sanguinas só eram profiquas quando entre indivíduos da mesma especie.

Os processos plásticos de enxertia para darem resultado devem ser feitos com retalhos extraídos de indivíduos identicos, ou ainda melhor do mesmo — autoplastia.

Uma outra prova da estrutura específica das células é-nos dada pelo facto de certos venenos só actuarem sobre determinadas dessas células. E a sua associação na constituição dos diferentes órgãos dos animais superiores, dá-nos a primeira idea da especificidade na defesa.

As células do aparelho digestivo encarregam-se das transformações dos alimentos até serem assimilados, como o aparelho respiratório preside ás trocas

gasosas e o rim se constitue em filtro eliminador dos detritos orgânicos.

Por ex. no aparelho digestivo ainda, para a digestão das variedades de alimentos observamos a elaboração de fermentos digestivos diferentes, como a amilase salivar e pancreatica para a transformação do amido, a pepsina a tripsina e eripsina para a digestão dos albuminoides, a nuclease para o desdobramento dos nucleos proteicos e a lipase para a combustão das gorduras.

Todos êstes elementos actuam para impedir a passagem de substâncias extranhas ao plasma, transformando os alimentos tão profunda e uniformemente, quanto o organismo necessita para os absorver e assimilar.

E' a destruição pedra a pedra dum idificio para depois reconstruir com as mesmas pedras um idificio novo, diz Abderhalden.

O linfa e o figado são órgãos de contrôle colocados entre o plasma sanguíneo e as células, e, se apesar de tudo, por insuficiência de fermentos ou paragem da sua acção por ex., qualquer substância insuficientemente digerida ainda conseguir passar no sangue, o organismo defende-se elaborando rapidamente fermentos específicos de defesa.

A elaboração dêstes fermentos é mais nitidamente evidenciada pela introdução no organismo de substâncias extranhas, por outra que que não a via digestiva.

Abderhalden realizou as primeiras experiências d'êste genero sobre cães a que injectou albumina de ovo, observando pouco depois no sangue dos animais respectivos, a existência de fermentos capazes de decompor todas as substâncias proteicas, e particularmente as injectadas. Os mesmos fermentos restavam inactivos sôbre os hidratos de carbono e as gorduras, assim como a injeccão destas substâncias determinava a formação de fermentos, sem acção sobre os proteicos.

Por outro lado a passagem a um animal por via subcutanea ou endovenosa duma certa quantidade de assucar, determinava no sôro sanguineo respectivo um aumento do poder redutor para a sacarose.

A injeccão de gorduras e nucleo proteicos, determinava identicamente a neo-produção duma abundante quantidade de lipases e nucleases

Partindo das noções de ordem especifica destas observações, Abderhalden fez estudos interessantes tendentes a mostrar a existência no sangue das grávidas, de fermentos capazes de desdobrarem a albumina placentária.

Aplicou estes conhecimentos como processo de diagnose, e diz, em quinhentas e tantas observações, apenas lhe ter falhado uma reacção. Daunay e Ecalte tendo tido numerosos insucessos em Paris, foram propositadamente a Halle estudar a técnica com o próprio Abderhalden, e retomando depois as experiências

na clínica Tardieu, encontraram 119 reacções positivas em 119 grávidas.

E' conveniente para maior certeza da reacção fazê-la fóra de qualquer estado mórbido que possa ocasionar deficiência na assimilação das albuminas. Apesar que Jud, fazendo actuar sobre extractos placentários soros de não grávidas atingidas de sífilis, cancro febres tifoides, endocardites, reumatismos, etc., encontrou sempre resultados negativos.

Parece por tudo isto justo concluir com Joltrain antigo interno dos hospitais de Paris: a reacção de Abderhalden aplicada ao diagnóstico da gravidez, possui incontestavel valor.

O mesmo Abderhalden estudando em seguida 42 casos de carcinoma, do mesmo modo observou no sangue dos respectivos doentes a existência de fermentos capazes de desdobrarem uma albumina preparada com tecido canceroso fervido, e sem acção sobre a albumina placentária. Outros autores retomaram estes estudos.

Epstein examinando 37 doentes de cancro, em todos menos um observou a existência de fermentos capazes de desdobrarem a albumina cancerosa.

Por outro lado no soro de 47 indivíduos atingidos de afecções variadas, em 46 não existiam substâncias capazes de actuar sobre o tecido canceroso.

Bauer demonstrou a existência de fermentos de defesa nos doentes atingidos de papeira endémica, e

Abderhaldem ainda, observou que o sôro dum mixedematoso, podia atacar o tecido do corpo tiroide.

A confirmar-se a especificidade dêstes assuntos escuso declarar a importância deles como processos de diagnose do cancro e de tantas outras afecções, com um sufficiente aperfeiçoamento de técnica. E essa técnica destas reacções infelizmente tão difficil e melindrosa por emquanto, é sem duvida a causa dos insucessos na prática de tantos experimentadores dêstes processos, tão sedutores como naturalmente exactos em princípio.

*

* *

A defesa do organismo contra os agentes infecciosos, não passa dum capítulo especial das defesas gerais do mesmo organismo, contra as substâncias extranhas.

Denomina-se «infeção» o estado de luta entre o ser vivo e as células microbianas.

A maior parte das doenças agudas são devidas a agentes infecciosos.

Pasteur e a sua escola teem demolido completamente as velhas doutrinas humorais e vitalistas, demonstrando que um grande número de doenças, reconhecem por causa seres infinitamente pequenos, que, penetrando nos órgãos dos homens e dos animais, ai determinam pela sua poliferação e actividade, perturbações e lesões específicas.

Desde que existe a ciência médica, diz alguém, jamais luz comparavel á que resulta das descobertas de Pasteur, veiu iluminar estes misteriosos problemas da patologia.

Os agentes infecciosos, alem da acção indirecta sôbre as trocas nutritivas e meios naturais de defesa, actuam sobre o organismo por acções expoliadoras, tóxicas, traumáticas e infecciosas, mecánicas, irritativas e inflamatórias, simples propriedades físicas umas, propriedades biológicas outras, estreitamente ligadas ao factor vida. São as ultimas sôbre tudo que actuam, pelas propriedades que teem os germens de elaborar fermentos, verdadeiras diástases com aptidão para modificar os meios orgânicos de maneira a torna-los impróprios à vida, e cuja intensidade de produção é longe de ser proporcional á abundância dos agentes infecciosos.

Estas noções aproximam os micróbios das outras células vivas e aparelhos.

E assim, como veremos adeante, as leucocitos destroem os micróbios por digestão interna (fagocitose) e pela secreção externa nos humores de anticorpos específicos, verdadeiras diástases (substâncias bactericidas), cuja elaboração caracteriza a principal diferença de ataque das substâncias orgânicas e inorgânicas.

Os processos de infecção (toxinas) e de defesa orgânica (fagocitose substâncias bactericidas e antitoxinas) são portanto idênticos, como dizia Camus.

Por ser de necessidade indispensavel ao nítido conhecimento dos processos de sôro diagnóstico infecciosos, vamos estudar um pouco detalhadamente os meios de defesa do organismo contra os agentes microbianos, denominando defesas naturais, as que êle mobilisa independentemente do agente invasor, e defesas específicas as directamente subordinadas ao respectivo agente.

As últimas sôbre tudo, com quanto em geral da mesma natureza e mecanismo das primeiras, revelam ordinariamente «in vitro» tal grau de extensão e sensibilidade pelo seu caracter específico, que a prática diária muitas vezes as utiliza como processos faceis de diagnose.

I — Defesas naturais

Fagocitose. — E' o principal meio de defesa de ordem geral de que dispõe o organismo contra os agentes infecciosos, e consiste no englobamento da substância extranha e sua ulterior destruição por certas células do mesmo organismo.

Veem de Lieberkuhn, Haechel, Reclinghausen e Ranvier as primeiras noções sobre a fagocitose, mas foram sôbre tudo posteriormente os trabalhos Metchnikof que melhor a precisaram e desenvolveram. Os leucocitos, elementos moveis, são as principais células dotadas de propriedades fagocitarias, mas existem ainda certas células fixas com as mesmas propriedades.

Para certos autores as células musculares, os osteoplastes e as células nervosas possuem propriedades fagocitárias; mas são sobre tudo as células endoteliais dos vasos e das serosas, que, depois dos leucocitos, apresentam essas propriedades.

Metchnikof distingue nos leucocitos os macrófagos (grandes mononucleares) e os micrófagos (polinucleares neutrófilos); os últimos sobre tudo se encarregariam de fagocitar os agentes infecciosos, saindo dos vasos por diapedese e caindo sobre eles por quimiotaxia e leucocitose local.

A fagocitose é sobre tudo intensa para os germens menos abundantes e menos virulentos, e ainda nos organismos até certo ponto imunes para os germens considerados.

Existem nêstes casos estimulantes de ordem específica, mas também os ha de ordem geral, como se vê pelo facto de a injeção de sôro de cavallo no peritoneu duma cobaia, aumentar nela a fagocitose, por ex. para os bacilos cólera.

Os extractos em sôro fisiológico de órgãos ricos em glóbulos brancos adquirem sobre os germens as mesmas propriedades destrutivas da fagocitose. Isto mostra que os fagocitos actuam por fermentos, verdadeiras diástases análogas ás que usa a amiba nos seus processos nutritivos. Metchnikof dá-lhes o nome de citases que distingue em macro e micro citases; Buchner chamá-lhes alexina.

Para Metchnikof a digestão fagocitária consiste na destruição dos agentes infecciosos pelas citases ou alexina, uma vez sensibilizados por um fixador ou sensibilizadora específica, que estudaremos adiante mais detalhadamente.

Ha certos órgãos onde as defesas fagocitárias se fazem com maior intensidade; o tecido célular sub-cutaneo o baço e as serosas, talvez pela sua acção de barreiras, especies de guardas avançadas contra os agentes infecciosos, são outros tantos órgãos gosando destas propriedades.

O seu mecanismo de acção é geralmente a hiperprodução de fermentos fagocitários pela hiperleucocitose local, localização da hiperleucocitose geral, que, pela polinucleose, mononucleose e eosinofilia, após a hipoleucocitose inicial correspondente à retirada dos leucocitos, acompanha a maior parte das vezes as infecções experimentaes.

Opsominae naturais. — E' um fator estreitamente relacionado com a fagocitose. O mecanismo desta dá-se é verdade pela presença «in vitro» de simples leucocitos em presença de simples germens; se contudo juntarmos à mistura sôro dum indivíduo normal, as propriedades fagocitárias são poderosamente exaltadas.

A este qualquer coisa existente no sôro de qualquer indivíduo com a propriedade de aumentar a fa-

gocitose para qualquer germen, é que Wright deu o nome de opsoninas naturais.

Bacteriolise natural. — Designamos assim as propriedades que teem certos organismos, destruindo, diminuindo a virulência ou de qualquer modo prejudicando a vitalidade de certos germens, para que não estavam imunizados pela secreção de anticorpos específicos.

Pasteur foi o primeiro a verificar que os humores de coelho matavam o bacilo de carbúnculo. Outros autores verificaram as mesmas propriedades para variados germens no sangue de diferentes animais, e Buchner empregando o sôro sanguíneo de coelho e de cavalo, verificou as suas propriedades microbicidas para os bacilos da febre tifoide e da cólera; verificou mais que esta propriedade desaparecia pelo aquecimento a 55° e assim a esta propriedade ou princípio destruído, embora desconhecido, deu êle o nome de *alexina*.

O sôro sanguíneo do rato branco é igualmente bactericida para o carbúnculo, bacilo coli, estafilococo e outros germens, naturalmente.

O mesmo fenómeno se observa com outras células, por ex. os glóbulos vermelhos; a transfusão sanguínea entre animais de especies diferentes leva á sua destruição. O mesmo facto se observa «in vitro» misturando glóbulos e determinado sôro de animal de outra espécie.

O sôro da enguia hemolisa os glóbulos vermelhos de todos os mamíferos.

O sôro do cão tem propriedades hemolíticas para os glóbulos da cobaia, e o proprio sôro humano hemolisa por vezes os glóbulos de carneiro, cobaia, etc.

São as hemolisinas naturais.

Ehrlich e Morgenroth dizem ter conseguido no sôro sanguíneo da cobaia pela injeccão dos respectivos glóbulos, propriedades hemolíticas para animaes da mesma especie: seriam as hisohemolisinas.

A injeccão a um animal dos auto-glóbulos alterados, levou Metchniko á noção das auto-hemolisinas.

As bacteriolisinas naturais são indicadas por alguns autores para explicar certos casos de imunidade natural; o facto parece contudo não dar-se bem assim, porquanto o sôro de muitos animais refractários a determinados gérmes não é dotado de propriedades bactericidas para os mesmos, e vice-versa.

Aglutininas naturais — Existem soros como por ex. o de cavallo com propriedades aglutinantes naturais para o bacilo tífico, bacilo coli, bacilo da tuberculose, do môrmo, vibrião colérico, etc.

O proprio sôro humano aglutina a maior parte dos gérmes, deferindo simplesmente da aglutinação específica por uma questão de grau, por uma questão de intensidade. O mesmo fenómeno se observa para outras células vivas que não os micróbios, e assim os

soros de certos animais aglutinam os glóbulos vermelhos de animais de outras espécies. O sôro de cobaia aglutina os glóbulos de coelho e da galinha, o sôro da cobra aglutina os glóbulos do homem e do rato.

Segundo Pagniez não existe aglutinação entre soros e glóbulos do mesmo animal ou mesmo de animais da mesma espécie, a não ser que se trate por ex. de soros de doentes em presença de glóbulos de indivíduos sãos.

Neste último caso pode dar-se a aglutinação como verificaram Donach e Le Monaco respectivamente na cólera e paludismo; é que em rigor actuariam nêstes casos, substâncias bem distintas.

Precipitinas naturais — A acção recíproca de soros de animais diferentes postos em presença, determina um precipitado flocoso devido a substâncias ou princípio a que chamamos percipitinas.

Esta defesa orgânica como aliás as precedentes é essencialmente específica, evidenciada então por grande extensão e sensibilidade.

Os estudos de Bordet Nutal e outros generalizaram contudo esta noção primeiro a espécies vizinhas das específicas e finalmente obsrevaram-na fóra mesmo, de qualquer aproximação de especificidade.

Antitoxinas naturais — O sôro normal da cabra protege a cobaia contra a toxina colérica; o sôro normal da cobaia tem análogas qualidades protectoras

para os bacilos mortos da pneumonia contagiosa dos porcos, os soros dos homens e dos cavalos actuam na mesma contra a toxina estafilocócica.

Por outro lado parece haver na bílis uma certa acção antagonista para a toxina butílica, como a co-lesterina segundo Fraser actua identicamente contra o veneno da víbora.

Estes factos levam-nos a concepção das antitoxinas naturais, muito pouco conhecidas ainda, e em geral de reduzida actividade.

II — Defesas específicas

Fenómeno de Pfeiffer — Bacteriolise — Citolise —

Pfeiffer verificou em 1895 que a inoculação de bacilos da cólera no peritonen duma cobaia produzia rapidamente a morte do animal, observando-se na sorosidade peritoneal respectiva grande numero de bacilos vivos, livres e muito moveis. Se contudo a cobaia estava imunizada para aqueles germens, a introdução da mesma quantidade de bacilos ao fim do mesmo tempo mostrava-os na cabidade peritoneal tendo perdido a mobilidade, aglomerados e com tendências para a desagregação, sem a intervenção de leucocitos.

Este fenómeno a que Pfeiffer deixou ligado o seu nome, marca o início dos trabalhos de defesa específica do organismo pelos princípios da imunidade e substâncias microbécidas.

Bordet verificou que o mesmo facto se produzia «in vitro» collocando bacilos cólera e bacilos tíficos respectivamente em presença de soros normais e soros de animais imunizados para os mesmos bacilos.

Max Gruber observou pouco depois «in vivo» o mesmo fenómeno com o bacilo de Eberth, levando Widal a um processo experimental de sôro-diagnóstico para a febre tifoide, hoje universalmente espalhado.

Bezançon e Griffon fizeram observações idênticas com o pneumococo, Dopter com o bacilo disenterico, e posteriormente observações análogas se fizeram com outros gérmes.

Do que fica dito podemos já concluir o princípio seguinte: o sôro dum animal imunizado para determinado gérmes é dotado de propriedades específicas defensivas contra o desenvolvimento do mesmo gérmes. E digo que estas propriedades são específicas porque outros gérmes se podem desenvolver, e admitindo mesmo as defesas naturais de que já falamos, nunca revestem a intensidade evidenciada para os gérmes imunizantes.

Ao fenómeno da destruição e desagregação dos gérmes pelos respectivos soros por êles imunizados, é que se dá o nome de *bacteriolise*.

O que vimos de mencionar para os micróbios pode dar-se com outras células, e assim a inoculação a animais de espermatozoides, extractos de células hepáticas, cerebrais, etc., de animais de espécies dife-

rentes, determina a produção de soros específicos contra aquelas substâncias; é o que designamos por espermatolise, hepatolise, nevrolise, etc., dum modo geral *citolise*.

Antigénio é a substância geral injectada, a que o organismo corresponde com a produção de anticorpos específicos.

A aplicação destas noções adquiriu particular importância na preparação dos soros hemolíticos.

Se com efeito injectarmos a um animal em determinadas proporções glóbulos vermelhos dum animal doutra espécie, o respectivo soro adquire propriedades citolíticas, neste caso hemolíticas, fortemente pronunciadas contra os glóbulos dos animais da espécie injectada; e como a hematolise destruindo o glóbulo liberta a hemoglobina corando o meio ambiente, a reacção é nitidamente visível.

E posto isto como explicarmos o mecanismo da acção destas lisinas da bacteriolise, hemolise e citolise em geral?

Parece que os soros dotados de propriedades líticas actuam por substâncias de propriedades análogas ás dos fermentos: são destruídas por temperaturas elevadas, precipitam com as albuminas, são facilmente destruídas por agentes químicos e teem um máximo de intensidade a 37-40°.

Estudos posteriores de Bordet, Ehrlich e outros mostraram que a acção bactericida dos humores dos

animais imunizados e em geral das substâncias citolíticas parece ser devida a duas substâncias bioquímicas, uma de ordem geral, alexina de Buchner, citase de Metchniko ou complemento de Ehrlich existente em todos os soros e destrutível a 56°, e outra específica, sensibilizadora ou fixadora, existente só no soro dos animais imunizados e resistindo até 65-70°.

Estas duas substâncias actuariam em conjunto na citolise específica.

Suponhamos por ex. um soro de coelho hemolítico para os glóbulos de carneiro.

Aquecendo esse soro a 56° veremos que êle perde a propriedade de hemolisar os glóbulos de carneiro; se no entanto lhe juntarmos soro fresco, readquire novamente as suas propriedades hemolíticas: diz-se que o soro foi reactivado. A esse qualquer coisa existente no soro fresco que juntamos, é que se dá o nome de *alexina* ou *complemento*.

Pode ser fornecido por animais de especies diferentes comquanto nem de todas, como afirma Noguchi.

O complemento de cabaia é o geralmente empregado, por gosar precisamente da propriedade de reactivar os soros de quasi todas as outras especies de animais.

Mas aqueçamos agora o soro hemolítico do coelho a 65-70°; veremos que êle deixa de hemolisar os glóbulos de carneiro, mesmo depois de reactivado por complemento fresco.

E' que áquela temperatura foi destruída também o anticorpo específico, a sensibilisadora de Bordet.

Esta sensibilisadora fixa-se aos glóbulos como um mordente, no dizer de todos os livros, e assim prepara a acção lítica da alexina.

Tudo isto aliás se prova facilmente.

Metendo com efeito o 37º sôro hemolítico de coelho aquecido a 56º e glóbulos de carneiro imunisantes, ao fim dalgum tempo os glóbulos são destruídos em presença de complemento novo, ainda mesmo quando previamente lavados muitas vezes.

Se por outro lado colocamos glóbulos sensibilizados em presença de novos glóbulos e complemento, os últimos glóbulos não são destruídos, apesar da existência de complemento, porque a sensibilisadora tem sido fixada toda pelos primeiros.

Em conclusão podemos dizer que os glóbulos de carneiro em presença da sensibilisadora específica fixam o complemento, ou d'um modo mais geral que qualquer sistema antigénio anticorpo fixa o complemento, impedindo portanto a lise em qualquer outro sistema específico que ulteriormente lhe juntemos.

Foi partindo destas noções que Bordet e Gengou preconisaram a reacção de fixação ou desvio do complemento para estabelecer o diagnóstico da natureza de certas infecções pela investigação dos anticorpos em presença dos respectivos antigénios, ou ainda de

antigénios, partindo dos anticorpos conhecidos correspondentes.

Suponhamos por ex. um sôro onde desejamos pesquisar a existência do anticorpo anticólera.

Misturando ao sôro em questão vibrões coléricos e complemento, colocando na estufa a 37° e juntando ulteriormente glóbulos vermelhos sensibilizados, estes hemolisarão ou não se respectivamente o complemento não foi ou foi desviado, ou seja se não existia ou existia de facto infecção colérica. Do mesmo modo chegaríamos à determinação dum antigénio partindo do respectivo anticorp^o.

O segundo sistema actua apenas como indicador, e Bordet aconselha os glóbulos vermelhos sensibilizados pela facilidade de verificar nêles macroscopicamente pela libertação da hemoglobina, a presença ou ausência da hemolise.

Dum modo geral para verificar a existência dum anticorpo suspeito num sôro, basta, usando dos cuidados que a prática aconselha, colocar na estufa a 37° em presença de antigénio correspondente e sôro novo o sôro em questão aquecido a 56°, verificando depois o desvio ou não do complemento pela hemolise positiva ou negativa em glóbulos vermelhos sensibilizados, ulteriormente juntos.

Widal e Le Sourd foram os primeiros a aplicar estas noções às afecções pelo bacilo de Eberth.

Pagmiez e Camus applicaram-nas depois ao bacilo de

Koch em presença da tuberculina, e outras aplicações se fizeram a seguir, para variados agentes mórbidos.

Opsoninas específicas. — Já dissemos serem as opsoninas naturais substâncias que idealizamos nos soros com a propriedade de favorecer a fagocitose.

As opsoninas específicas dos soros imunizados gozam de propriedades análogas, simplesmente em grau mais elevados para os respectivos agentes imunisantes.

São neste caso anticorpos, desaparecendo pelo aquecimento a 65-70° e não a 56 como as naturais.

Parecem actuar fixando-se aos gérmes e não aos leucocitos pois juntando os soros aos micróbios, embora depois os separemos e lavemos, estes gérmes ficam aptos a sofrer a respectiva acção dos leucocitos, o que se não verifica se procedermos analogamente entre o sôro e agentes fagocitários.

Nos organismos onde não só não haja imunidade mas mesmo os agentes de defesa estejam enfraquecidos abaixo do normal, as opsoninas igualmente actuam em grau inferior ao vulgar.

Estas noções levaram alguns autores á determinação do chamado «índice opsónico» para o diagnóstico e sôbre tudo prognóstico de certas infecções.

Não é mais que a relação entre o número de gérmes fagocitados em igualdade de circunstâncias respectivamente pelos fagocitos dum soro normal e dum sôro de doente, infectado com aqueles gérmes.

Aglutininas específicas—Designamos assim outro princípio de defesa específico para os agentes infectantes existente nos humores e sobre tudo no sôro sanguíneo dos indivíduos infectados.

As aglutininas não devem confundir-se com as substâncias bacteriolíticas e citolíticas, porquanto pode haver lise sem aglutinação, e vice-versa; no entanto à face do fenómeno de Pfeiffer e outros, é noção hoje corrente a reacção aglutinante a maior parte das vezes preparar a acção das bacteriolisinas e citolisinas, contribuindo assim para a defesa orgânica.

A grande intensidade relativa das aglutininas específicas levou á applicação desta reacção como processo prático de diagnose para certas infecções, principalmente para a febre tifoide.

Nestes casos com efeito os soros de indivíduos doentes aglutinam até diluições elevadas uma emulsão de bacilos de Eberth, e nisto consiste a aglutinação para o bacilo tífico, hoje espalhado por toda a parte.

Precipitinas específicas—Krauss observou que o sôro de animais injectados com bacilos de Eberth determinava um precipitado em presença do filtrado de culturas do mesmo bacilo.

Tchistowitch injectando a um coelho sôro de cavallo, transmitia-lhe propriedades precipitantes específicas para o sôro injectado. Bordet generalisou este facto a outros soros, e Nolf observou o mesmo fenó-

meno na injeção a animais de albuminas, serinas ou globulinas; o sôro do animal injectado adquiria propriedade de as precipitar dum modo específico.

Em qualquer caso é a formação de precipitinas específicas, anticorpo como os precedentes resistindo até temperaturas de 65°.

A reacção precipitante específica pela sua grande sensibilidade tem aplicação prática na diagnose de certos agentes. Em medicina legal por ex. para a investigação da natureza duma certa mancha de sangue, fazendo diluições successivas de glóbulos de animais diferentes, a precipitação será sôbre tudo grande para os glóbulos específicos.

Terminaremos dizendo que as precipitinas de efeitos parecidos aos da aglutinação, diferem contudo das aglutininas; a injeção a um coelho por ex. de sôro sanguíneo de galinha transmite-lhe propriedades precipitantes específicas, sem contudo fazer nascer idênticas aglutininas; o inverso se dá com a injeção nas mesmas circunstâncias, de simples glóbulos em vez de sôro.

Antitoxinas específicas — Verificaram certos autores que a inoculação a animais de toxinas microbianas levava êsses animais á produção de antitoxinas capazes de as neutralisar.

Calmette estabeleceu as mesmas noções para os venenos das serpentes, criando assim os soros antivene-

nosos. Observações análogas se fizeram para outras substâncias permitindo-nos concluir dum modo geral que as toxalbuminas, as toxinas microbianas e os venenos, inoculados a animais tem a propriedade de crear nêles antitoxinas específicas correspondentes.

Estas antitoxinas específicas actuam como anticorpos análogos aos estudados precedentemente; desaparecem pelo aquecimento a 65-70°, precipitam pelas albuminas e tem propriedades de todo análogas ás dos outros anticorpos. Resistem muito mais tempo que as toxinas correspondentes, e sêcas podem mesmo resistir a temperaturas de 100° e mais.

Quanto á sua origem, como aliás para os outros fermentos de defesa, duas teorias principais se debatem:

Para Metchniko proveem dos leucocitos principalmente dos macrófagos, para Ehrlich proveem de qualquer célula, em particular das principalmente lesadas pelas respectivas toxinas.

*

* *

Após ter dito algumas palavras sobre as defesas do organismo sem descer a minudências de técnica, interpretação e mecanismo porquanto isso nos levaria demasiado longe, vamos terminar estes assuntos por algumas considerações sobre a *imunidade*.

Veem de mais remota antiguidade as primeiras noções sobre ela.

Os chineses parece exerciam já no seculo xi a vacinação preventiva contra a varíola, porque era um facto constatado certas doenças, uma vez declaradas num organismo, conferirem-lhe capacidade para resistir a ulteriores infecções da mesma natureza. Igualmente se observou que essa resistência era por vezes normal para determinadas infecções.

Pasteur inicia as primeiras tentativas para a explicação científica da imunidade, conseguindo-a com a inoculação de gérmenes de virulência atenuada. O mesmo depois se conseguiu com a injeção de culturas mortas, ou mesmo simples sôro de animal de outra especie previamente infeccionado pelo respectivo agente.

Em qualquer dos casos o que caracteriza o individuo immunizado para determinada infecção quer por simples acção natural, afecção idêntica anterior ou injeção de substâncias immunisantes, é o desenvolvimento nos humores dêsse individuo de substâncias ou condições que impediriam o desenvolvimento do respectivo agente infeccioso numa ulterior invasão.

Assim concebida a imunidade pode dizer-se o estado natural ou adquirido do organismo que possui os meios de defesa suficientes para neutralisar o agente infeccioso ou toxina introduzido nêsse organismo.

Como vimos, pode ser natural ou adquirida.

A adquirida pode ser espontânea ou provocada, segundo provem de doença acidental ou é produzida artificialmente; neste caso diz-se ainda activa ou passiva, conforme se consegue pela injeção de culturas ou simples soros imunisantes.

A imunidade é um factor relativo directamente ligado a virulência dos gérmes e à resistência orgânica; o seu mecanismo é um mecanismo de defesa orgânica; e muitas tem sido as teorias para explicar esse mecanismo.

Chauveau admitia a junção de substâncias novas defensivas ao organismo imunizado, outros fazem dos humores os agentes de defesa; Metchniko explicava tudo pela fagocitose e finalmente Ehrlich define a imunidade por cadeias laterais receptoras da célula, e grupos toxóforo e haptóforo da toxina e dos fermentos.

Hoje a noção corrente sintetisa o aproveitavel de cada teoria, e assim admite os anticorpos neo-formados de Chauveau, a acção microbicida dos humores, sem desprezar mesmo os leucocitos de Metchniko.

Victor Henri diz fisicamente que os anticorpos formam com os antigénios complexos coloidais, variaveis com as respectivas cargas electrolíticas.

Para êle sensibilisadora e alixina correspondem a estados diferentes dos coloides dos soros, e a junção de complemento na citolise ao sôro aquecido, vae modificar apenas o estado molecular.

Na reacção de Wassermann como veremos, dão-se factos análogos.

Parece hoje com efeito admitir-se que os anticorpos não correspondem a substâncias quimicamente definidas com propriedades defensivas, mas antes a simples modificações do estado físico, a uma espécie de destruição do equilíbrio físico-químico dos humores, que ficam assim com novas propriedades.

E' por um mecanismo idêntico que por ex. ultimamente alguém diz ter conseguido a imunidade para determinados gérmes, pela injeção de simples albuminas.

Em conclusão podemos dizer que o metabolismo íntimo da imunidade e defeza orgânica restam ainda misteriosos, sem que isso implique o valor de factos constatados.

*

E já agora duas palavras sobre o problema da imunidade na sífilis.

Era assunto para toda uma nova dissertação, e por isso limitar-me-hei a dar umas noções gerais sobre o estado actual da questão.

Julgou-se durante muito tempo e é ainda hoje noção corrente de muitos que o organismo previamente sifilizado ficava durante o periodo secundário e mesmo terciário refractário a nova infecção específica.

Finger e Landsteiner foram os primeiros a mostrar

com numerosas experiências que esta pretendida imunidade absoluta naqueles períodos não tinha razão de ser.

Quando se fala de imunidade na sífilis, já dizia Levaditi deve entender-se por isso um estado refractário relativo do revestimento cutâneo e mucoso para os treponemas exteriores, e não uma imunidade completa, com esterelisação absoluta do organismo.

Gougerot retomando a questão num interessante artigo publicado no «Journal des Praticiens» fevereiro de 1918—mostra com observações clinicas experimentais que os antigos sifilíticos podem ser reinoculados, e diz mais que os acidentes cancriformes terciários, as roséolas de retôrno, os novos cancrios nos sifilíticos antigos ou recentes, são a maior parte das vezes superinfecções.

A imunidade sifilítica é uma imunidade decrescente com o tratamento e idade da doença, e onde portanto se encontram todos os graus entre a não reinoculabilidade do sifilítico não tratado imunisado e a inoculabilidade do sifilítico que perdeu a imunidade, por acção do tempo ou da terapêutica.

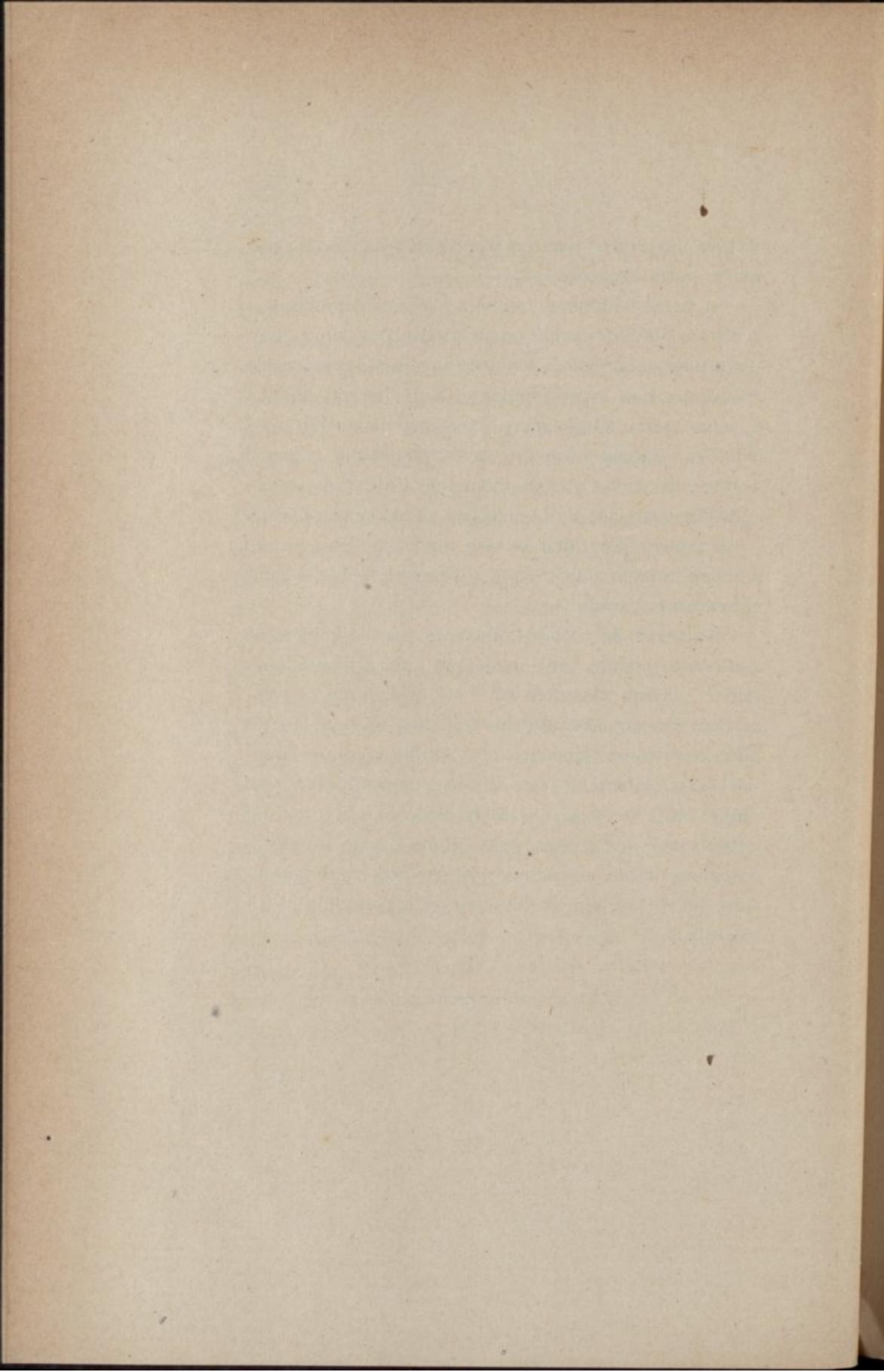
Além da defesa orgânica deve também ter-se em conta a virulência da infecção; com efeito a sífilis tropical por ex. é muito mais virulenta; tive ocasião de verifica-lo em doentes que vi no meu curso de sifiligráfia, e ainda aqui, nas obs. 13.^a e 138.^a, doentes sif-

lisados no Brazil, para cuja gravidade da afecção não existe outra explicação.

Os heredo-sifilíticos também não estão imunizados e devem portanto tomar tantas precauções como qualquer outro indivíduo. Recordo-me muito bem neste momento dum rapaz estudante, de B., heredo-sifilítico a quem tratei dum cancro específico contraído após relações sexuais suspeitas, com adenopatia inguinal indolor, principios de secundarismo sifilítico já, tendo tudo desaparecido à 3.^a injeção de neoarsenobenzol.

E poderá perguntar-se se a reinfeção dum antigo sifilítico tratado mostra que a primeira sífilis há definitivamente curado.

Gougerot diz que é suficiente para a reinfeção um estado latente, uma meia cura, uma cura momentanea, e assim classifica em 3 séries distintas as reinfeções dos antigos sifilíticos tratados. Na 1.^a include a sífilis sem nova reinoculação e simplesmente retardadas pelo tratamento; na 2.^a as superinfeções sem cura completa, e na 3.^a as reinfeções em criaturas completamente curadas; esta última é para o autor a categoria menos numerosa, e ainda sem critério garantido que prove em absoluto, a cura completa da 1.^a infecção.



REACÇÃO DE WASSERMANN

La place prépondérante prise rapidement par cette méthode; le rôle capital qu'elle joue non seulement pour fixer le diagnostic de la syphilis mais encore pour en guider la thérapeutique; son importance ou point de vue de la pathologie générale; les innombrables travaux qu'elle a suscité; les simplifications e les perfectionnements qu'en essay de lui apporter, autant de raisons qui imposent a tout praticien d'en connaître en détail le principe, la technique e les résultats.

A. LAFONT.

I PARTE

CAPÍTULO I

Noções gerais

A descoberta em 1905 por Woffman e Schaudinn ou alguns meses antes por Bordet segundo Vernes do agente da sífilis, espirilo movel sucessivamente chamado *espiroqueta e treponema pallidum*, levou Wassermann e os seus colaboradores A. Neisser e C.

Bruck um ano depois, em 1906, à criação dum processo de sôro diagnóstico novo, pela aplicação à sífilis da fixação do complemento de Bordet e Gengou.

Acentava o método sôbre a existência no sôro dos sífilíticos dum anticorpo específico para o treponema, antigénio respectivo, obtido então não por culturas, impossíveis de obter até aí, mas por extractos da maceração de órgãos ricos dêles, como fígado de heredo-sífilítico.

E êste antigénio era de resto suficiente porquanto parecia atuar como específico tanto em presença do sôro de macacos imunizados com os mesmos extractos, como em presença do sôro de macacos imunizados com órgãos de macacos sífilíticos, ou simplesmente sífilizados pelos processos habituais.

Partindo destas hipóteses a reacção não tinha mais que verificar a fixação do complemento pelo sistema sôro suspeito e antigénio respectivo, juntando após uma e meia a duas horas de estufa a 37° um novo sistema de glóbulos sensibilizados

Era a aplicação à sífilis do método aplicado já à febre tifoide em 1901 por Widal e Le Sourd.

A ausência de hemolise traduzia o desvio do complemento e implicitamente a existência do respectivo anti-corpo no sôro em questão, como a hemolise indicava ao contrário, uma reacção negativa.

A reacção ficou conhecida pelo nome do seu autor, «reacção de Wassermann», e hoje designa-se ainda genericamente assim, mesmo quando orientada

por técnica doutros experimentadores, mas acentando sobre o princípio enunciado.

Os resultados práticos confirmaram esta reacção; o sôro sanguíneo de criaturas sifilíticas impedia a destruição dos glóbulos, verificando-se o contrário com os soros normais.

Mas se na prática prevaleciam os mesmos resultados, observações posteriores mostraram não se realisar em teoria o mecanismo concebido por Wassermann.

Armand Delille comunicava em 20 de dezembro de 1907 á «sociedade médica dos hospitais» ter obtido resultados sensivelmente idênticos, empregando extractos de fígados normais ou de fígados de heredo-sifilíticos.

Quási na mesma data, 21 de dezembro do mesmo ano, Levaditi e Yamanouchi diziam na «sociedade de biologia» que a propriedade de desviar o complemento conferida ao extracto de fígado de recém-nascido sifilítico em presença de sôro específico, era devida a substâncias soluveis no alcool, vizinhas das lecitinas e existindo aliás no fígado de pessoas normais, como ainda noutros órgãos.

Trabalhos ulteriores confirmaram êstes resultados, mostrando que reacções positivas se obtinham com soros sifilíticos em presença de antigénios obtidos por extractos alcoólicos de coração de cobaia (Landsteiner), fígado normal (Levaditi, Marie), coração humano, etc.

diluidos em sôro fisiológico, ou mesmo antigénios artificialmente preparados.

Mas um facto ocorre já à nossa atenção; é, apesar de tudo, a conservação de todo o valor prático da reacção de Wassermann como característica da sífilis.

Subsistia apenas um êrro de interpretação; os anticorpos e antigénios tal qual concebidos por Wassermann na bacteriolise específica, era uma hipótese a pôr de lado.

O sôro-diagnóstico da sífilis admite-se hoje uma reacção de fenómenos fisico-químicos, de fenómenos de precipitação por alterações nos humores dos respectivos doentes. E' uma reacção de coloide a coloide, com fixação do complemento quando da precipitação.

Mas qual será a substância racionalmente comum existente nos diferentes antigénios e capaz de fixar o complemento em presença dum sôro sífilítico? Qual será a substância ausente do sôro normal e existente no sôro específico com a propriedade de derminar a fixação do complemento em presença dos antigénios considerados?

E' o que a biologia dos nossos dias tem procurado resolver, sem que esteja pronunciada ainda a última palavra sobre o assunto.

Estudos recentes dos extractos dos antigénios teem mostrado que a substância activa se aproxima dos lípoides, das lecitinas e sais biliare.

Alguns autores conseguiram aumentar um poder

antigénico juntando ao respectivo extracto determinada quantidade de gordura, ou coleslerina por ex.

Ultimamente mesmo foi possível isolar do extracto de fígado de heredo-sifilítico uma substância lipóide, gosando a acção de antigénio; ao contrário o resíduo hepático restante tinha perdido essas propriedades, como as não possuíam as albuminas, certas globulinas e a coleslerina existente no organismo em estado coloidal.

Por outro lado Levaditi, Yamanouchi, Eisler e outros empregando licitinas como antigénio encontraram a maior parte das vezes os mesmos resultados que com o método de Wassermann.

Sachs e Boudoni ensaiaram as misturas de oleato de soda e lecitinas; Levaditi e mais recentemente Le Sourd ensaiaram também o taurocolato e glicocolato de soda, obtendo resultados sensivelmente idênticos aos do processo clássico.

E como os vários órgãos empregados como extractos são mais ou menos ricos em lipóides, daí a sua efficacia como antigénios, quando indistintamente empregados no sôro-diagnóstico da sífilis em proporções convenientes.

Por outro lado quais as modificações nos soros dos sifilíticos?

E' racional admitirmos que sob a influencia da afecção o sôro sanguíneo sofra alterações de constituição que o tornem facilmente precipitavel pelos lipóides e outros colóides (Levaditi).

Toda a infecção desenvolve com efeito nos órgãos e nos humores do organismo reacções específicas, transformações fisico-químicas, alterações celulares e modificações de estrutura do protoplasma. Essas alterações parecem traduzir-se na sífilis por uma modificação no metabolismo dos albuminoides, dando uma grande percentagem de albuminas principalmente de globulinas. Estas globulinas actuariam na reacção de Wassermann como coloides em presença dos outros coloides, lipoides dos antigénios, precipitando em presença do complemento.

Observações de vária ordem levaram à concepção destas teorias.

Primeiramente estudos feitos sobre o índice refractométrico dos soros mostraram a sua elevação nos sífilíticos: grande taxa de albumina.

A reacção de Wassermann concorda sensivelmente como refractómetro.

Deduções análogas foram feitas por Ravaut no líquido céfalo raquidiano, mostrando que a reacção de Wassermann comquanto nem sempre em harmonia com os exames citológicos dos líquidos, era geralmente em relação com a sua quantidade de albumina.

A existência destas albuminas especiais nos líquidos céfalo raquídios sífilíticos condiciona ainda a precipitação do ouro coloidal em determinadas como interessantes experiências. Estas investigações como meio de diagnóstico da sífilis foram iniciadas por Lange

no laboratório de Wassermann, e acentam sobre a observação de que qualquer coloide pôde ser precipitado sob a influência de agentes físicos ou químicos.

A estabilidade dos coloides pôde ser aumentada por determinados agentes, evidenciando-se êsse aumento de estabilidade pelo aumento de electrolitos necessários para determinar a respectiva precipitação.

Concretizando na sífilis: as albuminas dos humores aumentam a estabilidade do ouro coloidal, retardando assim a sua precipitação por uma quantidade normal de soluto de cloreto de sódio; será portanto necessário empregar doses proporcionalmente crescentes de cloreto de sódio para determinar a precipitação, e pela dose necessária medimos a estabilidade do coloide, e avaliamos implicitamente a quantidade de albumina específica.

Na prática partimos antes duma quantidade fixa de cloreto de sódio para diluições sucessivas de líquido raquidiano, chamando índice do ouro á quantidade de albuminoide necessária para impedir a precipitação de 5^{cc} de ouro coloidal por 0^{cc},5 da diluição de cloreto de sódio a 10 ‰.

Aquelas diluições dos líquidos raquidianos não podem ser feitas em agua porquanto as albuminas específicas sendo insolúveis nela precipitam, perdendo assim a acção sobre o ouro coloidal.

Já não succede o mesmo com as diluições salinas neutras; os experimentadores empregam a diluição no

sôro fisiológico a 4 ‰, percentagem que dizem suficiente para impedir a precipitação dos albuminoides, e por outro lado fraca bastante para não ajudar a precipitação do ouro coloidal. Operando dêste modo verificamos a precipitação pela perda total de coloração do líquido.

Em casos de sífilis esta precipitação é impedida até diluições elevadas, e dizem os introdutores do método, que os resultados caminham a par com os da reacção de Wassermann.

E tudo isto para concluirmos que a avariose se distingue das outras afecções pelo metabolismo e qualidade das substâncias albuminoides elaboradas nos diferentes meios humorais, durante o curso da sua evolução.

Estas propriedades novas conferidas aos soros sífilíticos parecem ser devidas ás globulinas neo-formadas, á custa talvez de produtos de desintegração do tecido alterado.

L. Bory com efeito vem de mostrar na «Sociedade de Biologia» a 9 de março de 1918 obterem-se reacções de Wassermann positivas, substituindo o sôro dos sífilíticos por determinadas soluções de globulinas em sôro fisiológico.

O autor pôde obter assim todos os graus intermédios entre a reacção negativa e positiva forte, graduando a concentração das globulinas e operando é claro, em presença dum mesmo antigénio apropriado.

Do mesmo modo conseguiu reacções positivas com soros negativos, adicionando-lhes quantidades convenientes de globulinas.

Um mês depois, a 9 de abril dêste mesmo ano corrente, o mesmo autor procurava mostrar a acção sobre a reacção de Wassermann do outro albuminoide do sôro, a serina, atuando nas mesmas circunstâncias.

E se a globulina desvia «especificamente» o complemento em presença dum antigénio especial, diz Bory, a serina pode fixa-lo simplesmente, sem a intervenção do antigénio.

E concluía destas observações dizendo com todas as probabilidades reacções positivas os soros sifilíticos, soros ricos em globulinas, sendo soros particularmente ricos em serinas os soros espontaneamente fixadores do complemento, como certos soros lactascentes, soros de leprosos, etc.

Ao falarmos adiante do valor clínico da reacção de Wassermann voltaremos a lembrar estes soros não sifilíticos, de índice refractométrico elevado, por vezes qualidades de precipitação sobre o ouro coloidal e fixando o complemento em presença do antigénio específico, mas a meu ver sempre de pequeninas qualidades ou condições de técnica que na reacção permitem distingui-los facilmente dos soros específicos.

A hiperglobulina sifilítica levou Noguechi á elaboração dum processo simples de diagnóstico pesquisan-

do as globulinas directamente nos soros ou líquidos raquidianos das pessoas suspeitas de sífilis ou parasífilis nervosa.

Na prática emprega-se o método principalmente com o líquido céfalo-raquídeo, bastando fazer atuar uma parte do líquido sobre cinco de ácido butírico a 10 %, ferver e juntar outra parte de soda normal.

Nas reacções positivas forma-se nas duas horas immediatas um precipitado granuloso de intensidade proporcional a quantidade de proteo-globulinas.

E' um processo simples, de técnica facil e sempre conveniente de usar-se quando possível.

Segundo o Ex.^{mo} Professor Dr. Morais Sarmiento — Raquicenteze 1915 — a reacção de Noguchi negativa exclue a hipótese sífilis nervosa, mas por outro lado caracterisando simplesmente uma hiperglobulinoraquia mostra-se positiva em todos os casos desta além da sífilis, como certas meningites cerebro-espinhais epidémicas, mal de Pott, etc.; positiva, tem sobre tudo valor nas hiperalbuminoses moderadas.

Para alguns autores o método é ainda de mais preciosas indicações que a Wassermann nas sífilis nervosas. Nos paráliticos gerais por ex., em 100 casos diz Joltrain ter 100 Noguchi positivas para 80 Wassermann do mesmo sinal.

Diremos adeante mais algumas palavras sobre o valor relativo das duas reacções, podendo no entanto acrescentar já, pelas observações do Professor Morais

Sarmento, não ser a Wassermann menos indicativa no diagnóstico da sífilis.

Um outro processo baseado nas propriedades físico-químicas dos humores sífilíticos deu lugar a reacção de Landau.

Este autor verificou que a metana tetracloretoada iodada a 1% se descorava em presença dos soros sífilíticos; é como se os albuminoides dêses soros precipitassem o iodo fazendo desaparecer a côr, como vimos precedentemente desaparecer a côr do ouro coloidal sob a influência dum eletrolito.

A reacção é simples, e com o aperfeiçoamento do método e melhor nitidez nos resultados pode ser util.

Finalmente para terminar êste capítulo, agora que conhecemos já os elementos activos da reacção de Wassermann, globulinas dos humores sífilíticos e lipoides dos antigénios, que verificamos experimentalmente e por reacções applicadas as propriedades físico-químicas dos mesmos elementos activos, vamos interpretar o desvio do complemento na sífilis como é hoje noção corrente, pela simples applicação das mesmas propriedades físico-químicas.

Já dissemos considerar-se actualmente a reacção de Wassermann uma reacção de precipitação coloidal onde o complemento atuaria talvez como uma espécie de electeolito, e o antigénio agente precipitante.

As globulinas e os lipoides seriam os respectivos coloides, e como tais com propriedades inerentes ás

das suspensões coloidais, tão bem estudadas desde os célebres trabalhos de Graham, por um grande número de autores. Sabe-se com efeito que em certas condições os grânulos dessas suspensões se podem reunir em grânulos compostos, podendo êstes por sua vez a seu tempo dissociarem-se em grânulos mais simples. A sua dissociação traduz-se por um aumento de transparencia do líquido, como ao contrario a aglomeração dos mesmos grânulos diminue a transparencia e pode levar á precipitação (perda do estado coloidal).

As suspensões mais estaveis podem perder a estabilidade sob influencias diversas: adesão doutras substâncias coloides, modificação do meio, acções puramente físicas, etc.

Partindo destas propriedades, Arthur Vernes — «La presse medicale» dezembro de 1917 — fazendo atuar uma suspensão coloidal de hidrato de ferro em presença de sôro humano normal e sifilítico, fez observações que muito vieram contribuir para o esclarecimento do mecanismo da reacção de Wassermann.

Juntando em séries de tubos determinada quantidade da suspensão de ferro e quantidades decrescentes de sôro humano normal, ao fim de 40.^m na estufa a 37° observou nos tubos uma precipitação de forma ondulante; aumentando a concentração da suspensão coloidal, para a mesma quantidade de sôro a precipitação aumentava.

Substituindo agora o sôro normal por sôro sifilítico,

Vernes observou em igualdade de circunstâncias maior perda de estabilidade do sistema: o sôro sifilítico em dose igual e nas mesmas condições, seria mais precipitante. Naturalmente poder-se-há regular a experiência até obter a precipitação para determinada dose de coloide com sôro de sifilítico, sem o ser nas mesmas circunstâncias para o sôro normal.

O mesmo fenómeno se dá substituindo o hidrato de ferro por outros corpos minerais ou orgânicos, obedecendo simplesmente à mesma propriedade física, estado coloidal. Já vimos atrás a aplicação ao ouro nêsse estado.

Na reacção de Wassermann dar-se-hia um facto análogo, e a titulação seria a preparação duma estabilidade tal capaz de ser destruída dando-se a precipitação com sôro sifilítico, sem o ser com sôro normal.

A explicação parece-me rasoavel, comquanto não passe ainda de teoria.

A precipitação mesmo não explica tudo na fixação do complemento de Wassermann.

Porgés mostrou bem que a precipitação e fixação nem sempre eram paralelas nos resultados.

Certos soros tuberculosos dando reacções de Wassermann negativas precipitam contudo ao contacto dos lipoides antigénicos.

Se a precipitação fôsse exclusivamente devida á percentagem das globulinas devia dar-se em certos soros imunisantes não sifilíticos como os soros anti-

tetánicos, antidiftéricos ou antimemugócicos, e contudo estes soros dão uma reacção de fixação negativa em presença do antigénio específico para a sífilis.

E' que a meu ver no sôro diagnóstico da avariose pelo desvio do complemento existe ainda qualquer propriedade ou princípio dependente do factor específico e que nós por enquanto desconhecemos.

De resto terminaremos dizendo com Joltrain: as constatações e hipóteses sôbre o mecanismo íntimo da reacção de Wassermann, em nada prejudicam o seu grande valor prático.

E tambem já dizia Pasteur: perto vão os que só admitem os factos completamente esclarecidos.

CAPÍTULO II

Técnica

Quási todos os livros abrem este capítulo da reacção de Wassermann dizendo-a de técnica difícil e complicada.

A meu ver não é bem assim, e pela impressão das numerosas reacções que fiz dir-se-há dela com mais propriedade, ser duma técnica simplesmente melindrosa e delicada.

Partindo de componentes garantidos e duma prática dalgumas dezenas de reacções que garanta uma boa interpretação toda a gente a pode fazer, cingindo-se às regras que procurarei indicar; em quási todos os laboratórios com efeito é em geral um simples empregado embora de confiança o encarregado da prática destas reacções. O importante na reacção, repito, é o emprego de factores componentes devidamente titulados e em proporção conveniente, sempre é claro para igualdade de circunstâncias.

Suponhamos por ex. o complemento; deve ser empregado em dose constante tal que actue sôbre quantidades préviamente determinadas dos sistemas hemolítico e antigénio. Em presença duma unidade do sôro hemolítico, para a hemolise completa é preciso ao menos uma unidade de complemento. Juntando ao sistema antigénio anticorpo menos duma unidade de complemento, obter-se-hia uma hemolise incompleta erradamente atribuida a uma fixação parcial dêsse complemento, quando era devida simplesmente á sua insuficiência. Por outro lado se um excesso de complemento fosse empregado a combinação sifilítica antigénio anticorpo faria a fixação do necessário, podendo restar ainda quantidade suficiente para produzir a hemolise.

Quanto ao sôro hemolítico, empregando muitas unidades pode dar a hemolise mesmo em presença de menos duma unidade de complemento. Isto teria grande importância por ex. nas reacções positivas fracas, onde restando livre parte da alexina podia então dar-se a hemolise com um excesso de sôro hemolítico.

O antigénio em pequena dose pode não fixar todo o complemento uma vez sensibilizado; mas em grande excesso pode inversamente fixa-lo independentemente do anticorpo; nêste 2.º caso são as substâncias anti-complementares dos antigénios impeditivos, que aliás podem existir também nos sôros a examinar, onde

igualmente é util pesquisar a existência de possíveis hemolisinas naturais.

Quanto á dose de sôro do doente deve empregar-se tal que seja capaz de fixar todo o complemento quando proveniente dum sifilítico averiguado.

O material para a reacção de Wassermann é simples: uma estufa a 37°, alguns tubos de vidro com os respectivos suportes e pipetas graduadas em décimas de centímetro cúbico. Os tubos da reacção são tubos de ensaio de altura de 5 a 12 centímetros e em regra de 10 a 12 milímetros de diametro; usam-se ainda tubos mais estreitos onde a mistura não é facil de fazer-se, mas vantajosos nas reacções duma pequena quantidade total de líquido, como a de Bauer. Os tubos e as pipetas devem ser cuidadosamente lavados, e com vantagem esterilizados em seguida.

Deve evitar-se sempre nas reacções qualquer objecto extranho; um pequeno filamento de algodão, gránulos de deposito, etc., são muitas vezes suficientes de per si para mudar o sinal dum resultado.

Os reagentes devem escorrer pelas pipetas apoiadas na face interna dos tubos e não é conveniente doseados por gotas, porque estas não só variam com o calibre da pipeta como ainda com a inclinação da mesma.

Para melhor comparar os resultados junta-se aos reagentes de todos os tubos sôro fisiológico a 8 ou 9 por mil em quantidade tal, sufficiente para reduzir a

determinado volume igual o volume líquido total de cada tubo.

E postas estas noções gerais, vamos dizer algumas palavras sobre a preparação e titulação dos diferentes reagentes componentes da reacção.

Preparação e titulação do antigénio. — Wassermann servia-se dum antigénio de extracto de figado de recém-nascido sífilítico preparado do seguinte modo :

Retirado o figado com a possível assepsia, pesado e retalhado misturava-se a sôro fisiológico fenolado a 5 % na proporção de 4 de sôro para um de figado.

Sôro fisiológico a 0,85 %	360gr
figado	100
fenol a 5 %	40

A mistura era introduzida num frasco de côr e agitada durante 24 horas; ao fim dêsse tempo centrifugava-se, decantava-se, e o líquido opalescente amarelado decantado servia de antigénio, podendo conservar-se, de preferência na geleira e ao abrigo da luz.

Levaditi e Marie trituravam o figado, secavam-no no vazio e pulverisavam-no. Deixavam depois mace-rar a pó resultante em 4 partes de sôro fisiológico durante 24 horas, e ao fim o líquido decantado constituía o antigénio.

Morgenroth e Stertz conservam o fígado congelado, extraíndo-lhe um fragmento, triturando-o e fazendo-o macerar em 4 partes de sôro fisiológico, à medida das necessidades.

Porgés e Marie faziam macerar os fragmentos dum fígado durante 24 horas em 5 volumes de álcool absoluto, filtravam, deixavam evaporar o líquido filtrado, e a parte residual era novamente posta a macerar em 100 volumes de sôro fisiológico, a que juntavam 0,5 % de fenol. Esta emulsão agitada e filtrada, servia de antigénio.

Os mesmos autores tinham determinado uma preparação de lecitina com as propriedades da emulsão; verificou-se mais tarde que tal não era exacto.

Sachs e Rondoni adoptavam as seguintes fórmulas, que diluam depois na proporção duma parte para 5 de sôro fisiológico.

	TIPO A		TIPO B
Oleato de soda	2gr,5	—	1gr
lecitina	2gr,5	—	1
ácido oleico	0gr,75	—	1gr,5
água destilada.	12gr,5	—	5
álcool	1000	—	1000

Schurmann adoptava:

Lecitina	0gr,30 em 50 ^{cc} de álcool absoluto
glicerosfosfato de soda	0gr,30 em 5 ^{cc} de sôro fisiológico

A 30 da mistura juntava 5 de ácido láctico e 10 de vanadato de amoníaco a 1 %.

Landsteiner Muller e Potzl empregando coração de cobaia trituravam-no e faziam maceração a 60 graus durante 10 a 12 horas em álcool a 95 na proporção dum para 50. Filtrado, o líquido da maceração dava o antigénio que empregavam.

Noguchi faz macerar os fragmentos de fígado, rim ou coração, de homem, boi, coelho ou cavalo, em álcool absoluto ou a 95° na proporção de 1 para 10 durante 6 a 7 dias; filtra depois, secando o resíduo e fazendo-o macerar de novo em éter durante 24 horas; decanta, concentra o éter por evaporação e junta-lhe 10 volumes de acetona pura; filtra, e o filtrado encerrando os lipoides antigénios é constituído por substâncias insolúveis na acetona.

E diga-se já que Triboudeau classifica na seguinte ordem decrescente os lipoides Noguchi capazes de desdobrar o complemento nos soros sífilíticos: coração, fígado, capsulas supra-renais e rim.

Finalmente Armand-Delille e a maior parte dos autores franceses adoptam como antigénio o extracto alcoólico de fígado de feto ou de recém-nascido sífilítico, preparado do seguinte modo:

Toma-se um fígado de criança sem putrefacção, corta-se em pedaços triturando os fragmentos num almofariz, depois de lavados com água fisiológica.

Extende-se a polpa resultante em placas de Petri,

e seca-se no vazio sulfúrico. O pó resultante é posto a macerar em 30^o de álcool absoluto para uma de pó, e ao fim de 24^h titula-se, decantando ou fazendo ainda macerar por mais tempo, se a titulação dá um poder antigénico insuficiente.

E' ainda o processo usado nos nossos laboratórios.

Todos os autores teem verificado a maior actividade dos antigénios de extractos de fígados de sifilíticos em relação aos de fígados normais; é que não só êles são mais ricos em sabões, 3 vezes mais segundo Liefman, mas ainda conteem outros lipoides coloidais, em maior quantidade que os extractos dos órgãos não específicos.

E agora duas palavras sôbre a titulação.

Já dissemos haver antigénios expontaneamente hemolíticos ou de propriedades anticomplementares acentuadas. E' claro que isto nos viria anular o valor da reacção, sendo portanto conveniente verificar a possível existência daquelas contra-indicações numa dose superior, 0,^{cc}4, á empregada nas reacções, 0,^{cc}1 a 0,^{cc}3 duma diluição a $\frac{1}{10}$ em sôro fisiológico da solução a $\frac{1}{30}$, regeitando os antigénios onde existam essas contra-indicações. Noguchi dispõe assim estas experiências :

Tubo I — Acção hemolítica

Antig. 0 ^{cc} ,4	S. fisiolog. 0 ^{cc} ,6	Gl. ^s a 10 % 0 ^{cc} ,1
------------------------------	------------------------------------	---

Ao fim de 2^h a 37° deve verificar-se ausência de hemolise.

Tubo II — Acção anticomplementar

Antig. 0 ^{cc} ,4	S. fisiol. 0 ^{cc} ,6	Compl. a $\frac{4}{10}$ 0 ^{cc} ,1	S. hemol. 2 unid.	1 ^h a 37°	Gl. ^s a 10 0/0 0 ^{cc} ,1
------------------------------	----------------------------------	--	----------------------	-------------------------	--

Passadas as 2^h a 37° a hemolise deve ser total.

Tubo III — Acção antigénica

Antig. 0 ^{cc} ,02	S. fisiol. 0 ^{cc} ,8	S. sifil. 0 ^{cc} ,02	Compl. a $\frac{4}{10}$ 0 ^{cc} ,1	S. hemol. 2 unid.	1 ^h a 37°	Gl. ^s a 10 0/0 0,cc1
-------------------------------	----------------------------------	----------------------------------	--	----------------------	-------------------------	---------------------------------------

Ao fim do tempo habitual a hemolise deve ser nula.

Na prática a acção espontaneamente hemolítica existe só em doses elevadas de antigénio, devido talvez á acção nitidamente anti-hemolisante da colestेरina por sua vez existente em todos os extractos.

E por outro lado esta mesma colestेरina parece gosar acentuada função antigénica, pois com Desmouliere reactiva uma diluição alcoólica de fígado cujo poder antigénico haja sido destruído por uma anterior diluição etérea; e é por isso que o autor na preparação do seu antigénio junta sempre 0,10 de colestेरina sêca, pura, a cada 10^s de extracto alcoólico de fígado.

Praticamente partindo de antigénios de extractos

de figado sífilítico preparados como dissemos, limitamo-nos geralmente a verificar a acção impeditiva ou anticomplementar, quadro n.º 1.

Nos bons antigénios a hemolise só deixa de ser total, quando muito a partir do 4.º ou 5.º tubo.

N.º 1

	Antig. a $\frac{1}{10}$	Compl. a $\frac{1}{4}$	S. fisiol.		S. hemol.	Gl. ^s a $\frac{1}{80}$
<i>Tubo</i> 1.º)	cc	cc	cc		cc	cc
> 2.º)	0,1	0,1	0,7	1 ^h ,5 a 37º	0,1	1
> 3.º)	0,2	0,1	0,6		0,1	1
> 4.º)	0,3	0,1	0,5		0,1	1
> 5.º)	0,4	0,1	0,4		0,1	1
> 6.º)	0,5	0,1	0,3		0,1	1
> 6.º)	0,6	0,1	0,2		0,1	1

Podíamos ainda verificar a acção espontaneamente hemolítica com uma disposição análoga á do quadro n.º 2.

A hemolise só começa então a dar-se em geral a partir do 6.º tubo, ou seja 0^{cc},8 de antigénio.

N.º 2

	Antig. a $\frac{1}{10}$	S. fisiol.	Gl. ^s a $\frac{1}{80}$
<i>Tubo</i> 1.º)	cc	cc	cc
> 2.º)	0,3	0,7	1
> 3.º)	0,4	0,6	1
> 4.º)	0,5	0,5	1
> 5.º)	0,6	0,4	1
> 6.º)	0,7	0,3	1
> 6.º)	0,8	0,2	1

E' ainda conveniente fazer mais duas verificações uma com sôro normal e outra com sôro sifilítico, quadro n.º 3.

N.º 3

	Antig. a $\frac{1}{10}$	Compl. a $\frac{1}{4}$	S. doente	S. fisiol.		S. hemol.	Gl. ^s a $\frac{1}{80}$
Tubo 1.º)	cc 0,1	cc 0,1	cc 0,2	cc 0,5	1 ^h e meia a 37º	cc 0,1	cc 1
> 2.º)	0,2	0,1	0,2	0,4		0,1	1
> 3.º)	0,3	0,1	0,2	0,3		0,1	1
> 4.º)		0,1	0,2	0,6		0,1	1

Ao fim de meia hora a 37.º, com sôro normal teremos hemolise nos 4 tubos; com sôro sifilítico a hemolise será nula, a não ser no último tubo, testemunha, onde não deve haver desvio do complemento por não existir antigénio.

E após estas provas poderemos garantir que a diluição a $\frac{1}{10}$ em sôro fisiológico do extracto alcoólico de figado sifilítico, usado nas doses de 0,cc1 a 0,cc3 desvia o complemento em presença de anticorpo específico, e só então.

Um bom antigénio conserva muito tempo anos mesmo as suas propriedades, fazendo-se a diluição em sôro fisiológico na ocasião do emprego.

Preparação e titulação do complemento. — Emprega-se geralmente para alexina o sôro sanguíneo de cobaia, não só por ser o de mais fácil aquisição labo-

ratorial mas ainda porque não hemolisa naturalmente os glóbulos das outras espécies de animais habitualmente empregados, sendo ao mesmo tempo o de acção mais firme e constante; o complemento de sangue humano por ex. usado na maior parte dos processos simplificados de reacção de Wassermann varia muito com as infecções e intoxicações do organismo, e, segundo Joltrain, muda ainda de actividade conforme é recolhido antes ou depois das refeições.

O sangue de cobaia extrae-se por punção cardíaca ou carotídea; nos nossos laboratórios emprega-se geralmente o primeiro processo, sem perigo algum para o animal.

O sangue é espalhado em tubos de ensaio esterilizados, e passadas 12 a 24 horas recebe-se o sôro, empregando-se fresco, diluido a $\frac{1}{4}$. E' no entanto conveniente dosear previamente a sua actividade titulando-o, pois há complementos naturalmente hiper ou hipos activos.

Essa titulação é a determinação da menor dose de complemento capaz de produzir a hemolise em presença dos respectivos glóbulos sensibilizados.

E' conveniente fazer a titulação em presença da maior dose de antigénio usual, entrando assim em conta com a possível acção impeditiva dêsse antigénio no caso considerado.

Proceder-se-hia por ex. como vai representado no quadro n.º 4.

Sendo um complemento de 24 ou 48 horas a hemolise ao fim da meia hora de estufa é quasi nula no 1.º tubo, quasi total no 2.º e total nos 2 últimos.

Emprega-se portanto a dose 0^{cc},1, tanto mais que aconselham alguns autores ser conveniente usar-se uma dose de complemento um pouco superior à da titulação para contrabalançar factores intrinsecos desconhecidos, e possiveis acções impeditivas doutros elementos da reacção.

N.º 4

	Antig. a 1/10	Compl. a 1/4	S. hemol.	Gl. ^s a 1/80	S. fisiol.
<i>Tubo 1.º)</i>	cc 0,3	cc 0,1	cc 0,1	cc 1	cc 0,89
> 2.º)	0,3	0,05	0,1	1	0,85
> 3.º)	0,3	0,1	0,1	1	0,8
> 4.º)	0,3	0,15	0,1	1	0,75

Com o tempo o sôro de cobaia vai perdendo a propriedade aléxica; ao fim de 8 dias a titulação mostra ser em geral necessária 0^{cc},1 da diluição de complemento a 1 para 2; ao fim de 15 dias, nas mesmas circunstâncias seriam precisas 0^{cc},2 de complemento não diluído.

Não é ainda conveniente o uso de complementos velhos, porque necessitando-se então de doses grandes, é muito natural irmos juntar com a alexina possíveis anticorpos naturais, prejudiciais ao bom resultado da reacção.

A parte activa do complemento parece ser a globulina do sôro.

Lieman precipitando essas globulinas com ácido carbónico e decantando a parte solúvel onde ficaram as albuminas e os lipoides, fez as misturas seguintes :

Tubo 1.º) sôro sifilit. + extracto de figado sifilit. + compl. globulina
 » 2.º) » » + » » » » + » solúvel
 » 3.º) compl. solúvel + sôro hemolítico + glóbulos
 » 4.º) » glóbulos + » » » + »

Misturando após uma hora de estufa a 37º o conteúdo do 1.º tubo com o do 3.º e do 2.º com o do 4.º, só na segunda mistura veremos hemolise.

Parece portanto ser a globulina a parte activa na fixação do complemento, conquanto o não substitua na totalidade, como depois verificaram outros autores.

Tem-se procurado vários processos para a conservação da alexina.

Lannoy junta ao complemento igual volume de soluto salgado a 15 ‰, séca rapidamente no vazio sulfúrico e o pó resultante pode guardar-se diluindo em água distilada, e titulando quando a empregar.

Noguchi descreve assim a preparação do seu papel alexina.

Toma um fragmento de papel permeavel dividido em milímetros, e fá-lo embeber completamente por sôro de cobaia. Séca depois o papel, e para titular a

sua actividade toma uma série de tubos com iguais doses determinadas de glóbulos sensibilizados, e junta-lhes fragmentos tanto maiores do papel mencionado, até produzir a hemolise em duas horas de estufa.

O fragmento de dimensões duplas do menor que produziu a hemolise será a unidade de complemento a empregar.

Terminamos repetindo ser sempre preferível operar com alexina fresca, e o proprio Noguchi só aconselha o seu papel-complemento, quando não seja possível ter o outro á mão.

Preparação do sôro do doente. — Obtem-se por coagulação do sangue. Este recolhe-se geralmente por punção venosa em regra na prega do cotovelo. Escolhe-se uma veia superficial, faz-se a essepsia da pele com álcool, e punciona-se tendo a veia imobilizada e referida por palpação; emprega-se uma agulha curta, esterilizada, de bizel curto mas suficientemente aguçado, e diâmetro inferior de 6 a 8 décimas de milímetro.

Para tornar a veia mais firme e saliente é conveniente, conservando previamente o braço vertical, fazer antes da punção uma constrição moderada do braço com um tubo de cautchú, e ainda, se fôr necessário, movimentos inérgicos rítmicos de flexão dos dedos; as veias distendem-se, facilitando assim a punção.

O laço é retirado antes da agulha quando houver já sangue suficiente.

Em vez da agulha propria usei muitas vezes uma simples agulha de injeções intra-musculares, ou ainda a aspiração para uma seringa de 10 ou 20 c. c. previamente fervida e lavada com sôro fisiológico esterilizado.

Êstes processos, principalmente o último, são sôbre tudo uteis nas criaturas de veias pouco desenvolvidas e ainda na clientela pusilânime.

A punção pode ser feita num só tempo, ou atravessando a pele e a veia em seguida um pouco acima; prefiro a punção em dois tempos por se fazer a perfuração da pele com mais firmeza, não restando ao mesmo tempo trajecto contínuo entre a veia e o meio exterior, depois de retirada a agulha.

Quando a punção venosa não é possível pode recolher-se sangue pela aplicação de ventosas escarificadas, operando sempre nas mesmas condições de assepsia.

Êste processo tem ainda a vantagem de desviar o fim da sangria como é mister em certos casos, para uma pretendida descongestão por ex.

Noguchi contentando-se com 1^{cc} de sangue consegue-o facilmente por picada na extremidade digital ou no lóbulo da orelha.

O sangue recolhido por qualquer método é recebido em frascos esterilizados sem contacto com qual-

quer antisséptico; e por isso aconselhamos o álcool para a desinfecção do local da punção e mãos do operador.

O sôro recolhido por repouso do sangue na maior superfície possível durante 24^h, está apto a entrar na reacção.

Veremos adiante um processo recente onde o anticorpo sifilítico é investigado directamente no sangue do doente, sendo então possível a reacção logo a seguir á punção.

Parece não ser conveniente a sangria em doentes sob a acção do clorofórmio. Não convem faze-la ainda em pleno período digestivo; o sôro sanguineo é então mais ou menos lactascente, contendo partículas de gordura e outras substâncias anticomplementares ligadas á funcção do quilo, as quaes podem retardar ou impedir a hemolise.

Ha também quem diga não convir tomar álcool 48^h antes da colheita do sangue; Craig e Nichols dizem ter observado a absorpção de álcool fazer desaparecer temporariamente o princípio activo da reacção de Wassermann nos indivíduos e animais sifilísados.

Na minha opinião tendo feito varias observações para as duas últimas causas de êrro não me pareceram de importância capital no resultado da reacção, quando esta feita com elementos bem titulados.

Nas reacções positivas, desejando saber as unidades

de anticorpo sífilítico dum sôro fazendo assim exame quantitativo, basta fazer reacções com diluições sucessivas do sôro referido, verificando até que diluição vai a fixação do complemento.

Preparação e titulação do sôro hemolítico. —

Emprega-se ordinariamente o sôro de coelho imunizado para os glóbulos de carneiro.

O coelho com efeito além de ser um animal laboratorial de fácil alcance, tem a vantagem de ter um sôro não hemolítico naturalmente para os glóbulos da maior parte dos animais usualmente empregados, e daí maior confiança na titulação. Por outro lado não fabrica senão em pequeníssimas quantidades precipitinas em relação às lisinas.

Quanto aos glóbulos usam-se geralmente os de carneiro porque se adquirem com facilidade e produzem bem; ha quem use no entanto outros, de boi, cobaia, etc.; Noguchi por ex. emprega os glóbulos humanos.

Imunizam-se os coelhos com 4 a 5 injeções de 5 a 6^{cc} de glóbulos suficientemente lavados em sôro fisiológico. Estas injeções dadas com todas as condições de assepsia são espessadas de 7 a 8 dias, e podem fazer-se endo-venosas, sub-cutâneas, ou intraperitoneais como se usa de ordinário, por ser mais prático e de resultados mais activos.

Alguns animais morrem no decurso desta preparação, talvez por fenómenos no género da anafilaxia,

talvez por uma diminuição geral da resistência do organismo.

Armand-Delille fixa em 10^{cc} de glóbulos a dose máxima de toxidez suportada pelo coelho, mas A. Szary comunicou á «Sociedade de Biologia» a 23 de Janeiro de 1918, ter obtido magnifico sôro hemolítico, com uma só injeccão no peritoneu do coelho de 35^{cc} de glóbulos de sangue de carneiro, desfibrinados e lavados.

Uma vez preparado, 6 a 7 dias após a última injeccão sangra-se o animal por punção venosa, carotídea, ou melhor a meu ver por punção cardíaca; o sangue é recolhido em vasos esterilizados e passadas 12, 14, a 24 horas, temos o sôro hemolítico procurado.

Pelas mesmas razões apontadas atraz para o doente, também não é conveniente fazer aqui a punção durante o periodo digestivo do coelho.

Uma vez recolhido, o sôro hemolítico deve ser titulado para se saber da sua actividade; ela varia com efeito por vezes de coelho para coelho, apesar do mesmo número de injeccões com a mesma quantidade de glóbulos.

Essa titulação consiste em fazer atuar doses sucessivas de sôro hemolítico, inactivado a 56°, em presença de quantidades determinadas de glóbulos imunes e alexina de actividade constante e conhecida.

Partindo por ex. duma diluição a 1 %, faríamos pouco mais ou menos como representa o quadro n.º 5.

Pelos resultados apontados neste esquema vemos ser $0^{cc},05$ a dose óptima; é no entanto conveniente uma dose um pouco superior para determinar a hemolise em presença da menor quantidade de complemento livre, que, sem ser fixado por sistema antigénio anticorpo sifilítico, sabemos muitas vezes desviado por substâncias anticomplementares ou factores intrínsecos desconhecidos.

N.º 5

	S.hemol. a $1^{0}/_{0}$	Compl. a $1^{1}/_{4}$	S. fisiol.	Gl. ^s a $1^{1}/_{80}$	Resultados supostos
<i>Tub.</i> 1.º	cc 0,4	cc 0,1	cc 0,5	cc 1	hemolise total em 10 ^m
> 2.º	0,3	0,1	0,6	1	> > > 15 ^m
> 3.º	0,2	0,1	0,7	1	> > > 20 ^m
> 4.º	0,1	0,1	0,8	1	> > > 30 ^m
> 5.º	0,05	0,1	0,85	1	> > > 30 ^m
> 6.º	0,03	0,1	0,87	1	> ligeira > 30 ^m
> 7.º	0,01	0,1	0,9	1	> nula > 30 ^m

Os autores da escola de Wassermann aconselham empregar a dose dupla da menor dose que hemolisar na meia hora; no nosso caso seria $0^{cc},1$. E' esta a dose que deve usar-se, fazendo a diluição nêsse sentido.

Convem contudo notar, como já dissemos, que o emprego de doses exageradas de sôro hemolítico pode determinar a hemolise em reacções de complemento quási inteiramente desviado especificamente.

No nosso laboratório de Bacteriologia faz-se a titulação em presença da dose máxima de antigénio

empregada; é muito para recomendar esta precaução que nos aproxima mais da prática da reacção, fazendo conhecer a influência de possíveis acções anticomplementares ou hemolíticas do antigénio, á face do sôro hemolítico em questão. Êste sôro hemolítico, uma vez titulado, conserva-se muitos meses, puro ou na diluição precisa, sem precisar de nova titulação.

Noguchi usa muito o papel hemolítico.

E' papel impregnado de sôro hemolítico, sêco à temperatura ordinária, e dividido em fragmentos de dimensões fornecidas por titulação prévia.

Conserva igualmente a sua actividade por longos meses.

Preparação dos glóbulos de carneiro. — Colhem-se no matadouro ou directamente no laboratório por punção da veia jugular do animal; recebem-se num frasco esterilizado com pérolas de vidro, agitando-se bem durante 4 a 5 minutos para produzir a desfibrição total.

Os glóbulos são depois lavados em sôro fisiológico por centrifugação, ou simples contacto durante 24 horas com grande quantidade de sôro. Esta lavagem deve ir até se obter um liquido de lavagem perfeitamente límpido, o que geralmente se consegue pela centrifugação, à 2.^a ou 3.^a vez.

Depois de bem lavados, os glóbulos estão aptos a entrar na reacção, após diluições convenientes.

E' de toda a vantagem usar sempre glóbulos frescos. Podem no entanto conservar-se bastante tempo pela simples junção de 0^{cc},1 de formol, a cada 5^{cc} de glóbulos. O que é primordial é o uso de hemácias em bom estado de conservação, sendo a sua deterioração, a meu ver, uma das causas mais frequentes de resultados contraditórios das reacções de Wassermann.

O que vimos de dizer a respeito da preparação e conservação dos glóbulos de carneiro, diríamos é claro para outros glóbulos imunisantes.

Prática das reacções

a) *Sistema de Wassermann.* — No método inicial o autor partindo de extractos aquosos como antigénio, complemento de cobaia, sôro hemolítico coelho anti-carneiro e glóbulos, fazia atuar estes factores em presença do sôro suspeito, sôro reconhecidamente sifilítico e sôro normal inactivados a 56°. Na reacção, com os testemunhas entravam 25 tubos, dispostos como representamos no quadro n.º 6.

Ao fim de 2 horas de estufa a 37° os tubos eram colocados na geleira, e liam-se os resultados no dia seguinte. Nos dois primeiros tubos dar-se-hia ou não a hemolise, conforme o sôro suspeito respectivamente não fôsse, ou fôsse de sifilítico.

Os 4 tubos immediatos deviam hemolisar forçosamente.

Com o sôro sifilítico não haveria naturalmente hemolise em presença do antigénio específico, hemolisando os restantes 4 tubos.

Com o sôro normal a hemolise deve ser total, evidentemente.

Nos restantes tubos, testemunhas, em todos se deve verificar hemolise, a não ser nos dois últimos, um por falta de complemento e o outro de sôro hemolítico.

E' claro que a intensidade da hemolise nos 2 primeiros tubos de sôro suspeito é inversamente proporcional á riqueza do sôro em anticorpos sifilíticos.

Quando a hemolise é nula com qualquer dose de antigénio, conforme Citron pode representar-se o resultado por ++++; havendo hemolise parcial no tubo de 0^{cc},1 de antigénio e nula no de 0^{cc},3, poderíamos representar o respectivo resultado da reacção por +++; só havendo hemolise no tubo de 0^{cc},3 representaríamos por ++; e mesmo aí sendo parcial, seria simplesmente +.

O sistema inicial de Wassermann foi depois simplificado pela exclusão dalguns tubos, sendo hoje corrente em quási todos os laboratórios, concebida como representa o quadro n.º 7.

Nos 3 primeiros tubos constata-se o resultado da reacção, verificando ou não o desvio do complemento.

O 4.º tubo, sem antigénio, é um testemunha que sempre deve hemolisar.

Os outros tubos servem para avaliar do valor do

	Extracto aq. de fígado sifilitico	Extracto aq. de fígado normal	Compl. a 1/10	S. fisiol.	1h na estufa a 37º	2h na estufa a 37º
Tubo 1.º)	cc	cc	cc			
> 2.º)	S. susp. 0,2	0,2	1			
> 3.º)	> 0,1	0,1	1			
> 4.º)	> 0,2	cc	1			
> 5.º)	> 0,1	0,2	1			
> 6.º)	> 0,4	0,1	1			
> 7.º)	> 0,6		1			
> 8.º)	S. sifilit. 0,2	0,2	1			
> 9.º)	> 0,1	0,1	1			
> 10.º)	> 0,2	0,2	1			
> 11.º)	> 0,1	0,1	1			
> 12.º)	> 0,4		1			
> 13.º)	> 0,6		1			
> 14.º)	S. nor. 0,2	0,2	1			
> 15.º)	> 0,1	0,1	1			
> 16.º)	> 0,2	0,2	1			
> 17.º)	> 0,1	0,1	1			
> 18.º)	> 0,4		1			
> 19.º)	> 0,6		1			
> 20.º)		0,4	1			
> 21.º)		0,6	1			
> 22.º)			1			
> 23.º)			1			
> 24.º)			1			
> 25.º)			1			

Quanto baste em cada tubo para 3cc

antigénio, complemento e sôro hemolítico, podendo portanto dispensarem-se para cada série de reacções, partindo de factores de confiança devidamente titulados; é o que se faz no nosso laboratório de Bacteriologia, dispondo assim a reacção, quadro n.º 8, tanto com o sôro inactivado, processo clássico, como ainda com o sôro activo.

N.º 7

	Ant. de figado de sifil.	Compl. a 1/4	S. doente inact.	S. fisiol.		S. hemol.	Gl. ^s 5 0/0
<i>Tubo</i> 1.º	cc 0,1	cc 0,1	cc 0,2	cc 1,5	2 ^h a 37º	cc 0,1	cc 1
> 2.º	0,2	0,1	0,2	1,4		0,1	1
> 3.º	0,3	0,1	0,2	1,3		0,1	1
> 4.º		0,1	0,2	1,6		0,1	1
> 5.º	0,1	0,1		1,7		0,1	1
> 6.º	0,2	0,1		1,6		0,1	1
> 7.º	0,3	0,1		1,5		0,1	1
> 8.º		0,1		1,8		0,1	1
> 9.º		0,1		1,9		0,1	1

N.º 8

	Antig.	S. doente	Compl.	S. fisiol.		S. homol.	Gl. ^s a 1/80
<i>Tubo</i> 1.º	cc 0,1	cc 0,2	cc 0,1	cc 0,5	2 ^h a 37º	cc 0,1	cc 1
> 2.º	0,3	0,2	0,1	0,3		0,1	1
> 3.º		0,2	0,1	0,6		0,1	1

Pode por vezes produzir-se uma ligeira hemolise nos 2 primeiros tubos, mas muito inferior à do teste-munha; essa hemolise pode ser mesmo total no 1.º,

havendo contudo precipitação dos glóbulos com 0^{cc},3 de antigénio; são as reacções fracamente positivas.

b) Sistema de Bauer. — E' um dos processos simplificados mais empregado, usado por Levaditi no Instituto Pasteur de Paris simultaneamente com o método de Wassermann, e igualmente aqui no laboratório de Bacteriologia da Faculdade, além do processo clássico com sôro activo e inactivo.

Aproveita as hemolisinas naturais do sôro humano para os glóbulos de carneiro em pequena quantidade, e ainda, desde Hecht, o complemento natural do sôro a examinar, quando recente.

Um último tubo, testemunha, serve para verificar possíveis propriedades impeditivas do sôro, por falta de complemento ou hemolisinas naturais.

A reacção tem a seguinte disposição, quadro n.º 9.

N.º 9

	Antig.	S. doente	S. fisiol.		Gl.ª a 1/80
<i>Tubo 1.º)</i>	0,1	0,2	0,2	37º	0,1
» 2.º	0,2	0,2	0,1		0,1
» 3.º		0,2	0,3		0,1

O resultado dos 2 primeiros tubos dará o resultado da reacção; o 3.º, testemunha, deve hemolisar sempre.

O resultado é geralmente suficiente 5 a 8^m após a hemolise do testemunha.

c) Técnica do serviço do prof. Brocq no hospital de S. Luiz em Paris. — E' de prática fácil; utiliza o complemento natural do sôro a examinar e um sôro hemolítico anti-carneiro.

Este processo vigora hoje no «Laboratório de análises clínicas da Faculdade de Medicina» desta Universidade, introduzido lá pelo Ex.^{mo} Preparador Dr. Marques dos Santos, após a sua viagem de estudo ao estrangeiro em agosto de 1915.

Começa-se por verificar a existência ou não de complemento natural, lançando num tubo duas gotas de sôro do doente, 1^{cc} de sôro fisiológico, uma gôta de sôro hemolítico e outra de glóbulos a 5^o/_o.

Após meia hora de estufa a 37^o teremos hemolise completa, havendo complemento natural suficiente.

A reacção propriamente dita, operando com pipêtas em angulo recto feitas na ocasião, toma a seguinte disposição, quadro n.º 10.

N.º 10

	Antig.	S. doente	S. fisiol.		S. hemol.	Gl. ^s a 5 ^o / _o
Tubo 1.º)	2 gotas	2 gotas	1 ^{cc}		1 gota	2 gotas
» 2.º)	»	»	1	1 ^h a 37 ^o	»	»
» 3.º)	»	»	1		»	»

Não havendo complemento natural junta-se ainda a cada tubo na primeira parte da reacção uma gôta, 0^{cc},1, de complemento recente de cobaia diluido a $\frac{1}{4}$; isto terá logar principalmente nos soros de mais de 36^h.

Os resultado da reacção são fáceis de constatar e podem resumir-se no esquema seguinte:

- a) Hemolise total nos 3 tubos — reacção negativa
- b) » » no testemunha e num dos outros 2 tubos —
 reacção duvidosa
- c) » » no testemunha e parcial nos outros 2 — reacção
 fracamente positiva
- d) » » no testemunha e nula nos outros tubos —
 reacção francamente positiva.

Sistema de Benard e Joltrain. — Os autores communicaram á «Sociedade de Biologia» em julho de 1910 um processo de reacção de desvio do complemento para a sífilis, extremamente simples, e de resultados os mais rápidamente fornecidos de todos os métodos conhecidos até aí.

Aproveitam o complemento natural e as hemolisinas naturais anti-carneiro dos soros a examinar; como antigénio servem-se de extracto alcoólico de coração humano, de propriedades sensivelmente idênticas às do extracto de figado sifilítico, como verificaram fazendo com um e outro, reacções tipo Wassermann.

Mas o que caracteriza sôbre tudo êste processo Joltrain-Benard, é a elaboração da reacção num só tempo, juntando simultâneamente antigénio, sôro a examinar e glóbulos de carneiro.

Os autores notaram com efeito que a fixação do complemento pelo sistema antigénio-anticorpo era muito mais rápida que a acção hemolítica sôbre os glóbulos, e daí não haver o receio de verificar-se a hemolise, nas reacções positivas. A prática confirmava estas noções, e assim em 20^m a meia hora podia saber-se o resultado duma reacção.

A técnica é simples; 3 tubos, e em vez de décimas de centímetro cúbico pode mesmo dosear-se por gôtas. Representamos no quadro que segue, n.º 11, a disposição da reacção.

N.º 11

	Antig.	S. doente	Gl.ª a 1/2	S. fisiol.
<i>Tubo 1.º)</i>	2 gotas	2 gotas	1 gota	17 gotas
> 2.º)	3 >	>	>	15 >
> 3.º)		/	>	18 >

O 3.º tubo sem antigénio serve de testemunha, e, naturalmente, deve sempre hemolisar.

Na ausência de complemento natural ou nos líquidos céfalo-raquidios, basta juntar uma gôta de sôro normal.

Este método é empregado em Lausanne pelo Prof.

Dind, e M.^{lle} H. Pribilsky tendo feito uma tése sobre os seus resultados, concluiu-os idênticos aos fornecidos pelo sistema de Wassermann.

Fiz muitas reacções por êste processo, usando como antigénio extracto alcoólico de figado sifilítico; após muitas dezenas de observações pareceu-me preferível usar uma deluição de glóbulos menos concentrada, colhendo eu bons resultados com a diluição a $\frac{1}{5}$.

Da crítica do resultado colhido em relação aos outros métodos, é sob o ponto de vista clínico, falarei adiante noutro capítulo dêste trabalho.

Outros sistemas. — Alem dos mencionados existem ainda outros processos simplificados, fundados uns sôbre certas reacções precipitantes dos soros sifilíticos, outros sôbre o mesmo princípio do desvio do complemento de Wassermann.

Limitar-nos-hemos a mencionar os principais sem nos alargarmos em considerações, porquanto isso nos levaria demasiado longe, e porque mesmo é lógico guardarmos a critica e maior desenvolvimento para os métodos que ensaiamos.

Porgés mistura ao sôro suspeito uma emulção de lecitina, verificando ao fim de 24^h de estufa a 37° um precipitado nas reacções positivas.

O precipito-diagnóstico consiste em verificar a existência de precipitinas específicas, em presença de substâncias precipitogénicas sifilíticas.

Tschernoguben pratica o desvio do complemento empregando o complemento natural e um sôro hemolítico anti-homem.

Foi inactiva o sôro, usando depois complemento de cobaia, mas aproveitando as hemolisinas naturais do sôro humano, para os glóbulos de coelho.

Desmouliere usa de particular o antigénio com co-lesterina preparado como dissemos, e refere os resultados pela escala de Vernes, feita de diluições sucessivas da mistura.

Soluto aquoso de fucsina ácida a 1 0/00	10 cc
» » saturado de ácido pícrico	10 cc
agua distilada	100 cc

Noguchi, do Instituto Rockefeller de New-York, emprega um processo hoje bastante vulgarizado.

Usa um antigénio de lipoides puros insolúveis na acetona preparado como dissemos, sôro suspeito activo, complemento de cobaia a $\frac{1}{2}$ e sôro hemolítico anti-homem, para evitar a acção das hemolisinas naturais do sôro humano sôbre os glóbulos de carneiro.

Dispõe a reacção como a Wassermann típica, mas dissocia o sistema hemolítico juntando no 1.º tempo um dos seus factores, sôro hemolítico ou glóbulos. Emprega frequentemente antigénio e sôro hemolítico em papeis impregnados das respectivas emulções, e de dimensões precisamente tituladas.

Referir-me-hei finalmente ao sistema de René-Benard, o mais simples e mais recente que conheço, e um pouco divergente do mecanismo geral dos métodos anteriores.

O autor em comunicação que fez a «Sociedade de Biologia» em março, abril e maio de 1918, em presença de sôro oxalatado mostrou primeiramente que o complemento existe no sangue circulante em estado natural, e que o mesmo sôro oxalatado empregado não é espontaneamente hemolítico, nem tão pouco impede a hemolise como sucede com o sôro citratado; mostrou ainda não existirem soros sem complemento natural, mas o muito soros onde êsse complemento foi destruído após a sangria (soros descomplementados).

Finalmente e partindo destas observações propoz um novo método de desvio do complemento para a sífilis; o doente fornece simultâneamente anticorpo, glóbulos e complemento, sendo o sôro sanguíneo substituído pelo plasma oxalatado.

Pode titular-se o complemento natural por um processo análogo ao de Ronchéze, mas na prática este tempo é geralmente inútil. René-Benard faz a deluição de 1^{cc} de sangue do doente a seguir à punção em 3^{cc} de liquido oxalatado seguinte:

oxalato de potassio	0r,28
cloreto de sódio	0r,45
agua distilada	100r

Finalmente, e doseando por gotas, dispõe assim a reacção, quadro n.º 12.

N.º 12

	Sangue oxalatado	Antigénio	S. hemol. anti-homem
<i>Tubo</i> 1.º)	17	1	1
> 2.º)	16	2	1
> 3.º)	15	3	1
> 4.º)	18		1

Contando por décimas de c. c. emprega doses duplas respectivamente de sangue e sôro oxalatado, isto ao fazer a diluição.

Coloca-se tudo na estufa a 37º, e 20 a 30 minutos depois, sabe-se o resultado; meia hora portanto após o doente nos aparecer no laboratório, pode ter uma resposta. Deitando o sôro hemolítico $\frac{1}{4}$ º depois dos outros reagentes, a sensibilidade parece maior.

Diz o autor que os resultados dêste, concordam com os dos outros métodos do soros frescos.

CAPÍTULO III

Estudo critico da reacção *de Wassermann*

E' um dos capítulos de maior responsabilidade do meu trabalho, e implicitamente sôbre o que fiz recaír a minha particular atenção e o meu interesse, formulando sôbre tudo a minha opinião e tirando as minhas conclusões pessoais à custa de muitas dezenas de observações clínicas, e uma longa prática de várias centenas de reacções.

Procurarei ser imparcial e justo, excluindo é certo a Wassermann dogma absolutamente infalível, porque não existe disto em medicina, mas dando-lhe também o merecimento devido, repudiando inérgica e documentadamente os que a menospresam, a maior parte das vezes sem uma observação pessoal laboratorial e clínica com que justifiquem as suas opiniões, simplesmente porque o ouviram dizer ou viram em letra redonda, ou talvez, quantas vezes, ignorando as palavras

de Pasteur, por um inadmissível despeito científico, á face do incógnito do metabolismo íntimo da reacção.

Vou dividir êste capítulo em 2 parágrafos; no 1.º comparo os resultados fornecidos pelos diferentes métodos empregados e preciso a boa interpretação, no segundo faço as minhas deduições sôbre o valor clínico da reacção.

I — Do método a empregar e da interpretação do resultado da reacção

Já dissemos em que consiste o desvio do complemento pelo método inicial de Wassermann, e vimos também que ulteriormente outros métodos se formularam, tendentes uns a maior facilidade de técnica, e outros ao fornecimento de maior rapidez e garantia nos resultados.

Êsses métodos acentes sôbre o mesmo princípio de Wassermann diferem mais ou menos do processo primitivo, às vezes simplesmente pelo uso como anti-génio de extracto de órgãos normais, outros empregando um sistema hemolítico anti-homem para evitar a possível acção das hemolisinas naturais do sôro a examinar sôbre os glóbulos de carneiro, por vezes aproveitando o complemento e as propriedades hemolíticas naturais do sôro do doente, quando não reduzem mesmo os tempos da reacção, como no processo Bernard-Joltrain.

Ensaiei cinco métodos distintos obtendo nas minhas observações os resultados que constam em seguida, onde represento por ++ as reacções francamente positivas, -- as reacções francamente negativas, +- as reacções fracamente positivas, ○ as reacções duvidosas por hemolise nula mesmo no testemunha, e ⊙ as mesmas quando em soros de mais de 4 a 5 dias.

Observ.	Método W.		Método de Bauer		Método do Hosp. S. L.		Método B. Joltrah	
	soro I.	soro a.	Bauer	Hosp. S. L.	Joltrah	Hosp. S. L.	Joltrah	
1 ^a								
2 ^a								
3 ^a								
4 ^a								
5 ^a								
6 ^a								
7 ^a								
8 ^a								
9 ^a								
10 ^a								
11 ^a								
12 ^a								
13 ^a								
14 ^a								
15 ^a								
16 ^a								
17 ^a								
18 ^a								
19 ^a								
20 ^a								
21 ^a								
22 ^a								
23 ^a								
24 ^a								
25 ^a								
26 ^a								
27 ^a								
28 ^a								
29 ^a								
30 ^a								
31 ^a								
32 ^a								
33 ^a								
34 ^a								
35 ^a								
36 ^a								
37 ^a								
38 ^a								
39 ^a								
40 ^a								
41 ^a								
42 ^a								
43 ^a								
44 ^a								
45 ^a								
46 ^a								
47 ^a								
48 ^a								
49 ^a								
50 ^a								
51 ^a								
52 ^a								
53 ^a								
54 ^a								

Observ.	Método W.					Observ.	Método W.				
	soro I.	soro a.	Bauer	Hosp. S. L.	Joltrain		soro I.	soro a.	Bauer	Hosp. S. L.	Joltrain
109 ^a	-	-	-	-	-	138 ^a	+	+	+	+	+
110 ^a	+	+	+	+	-	139 ^a	+	+	+	+	+
111 ^a	+	+	+	+	+	140 ^a	+	+	+	+	+
112 ^a	-	-	-	-	-	141 ^a	+	+	+	+	+
113 ^a	-	-	-	-	-	142 ^a	+	+	+	+	+
114 ^a	-	-	-	-	-	143 ^a	+	+	+	+	+
115 ^a	-	-	-	-	-	144 ^a	+	+	+	+	+
116 ^a	-	-	-	-	-	145 ^a	+	+	+	+	+
117 ^a	+	+	+	+	+	146 ^a	+	+	+	+	+
118 ^a	+	+	+	+	+	147 ^a	+	+	+	+	+
119 ^a	+	+	+	+	+	148 ^a	+	+	+	+	+
120 ^a	-	-	-	-	-	149 ^a	+	+	+	+	+
121 ^a	-	-	-	-	-	150 ^a	+	+	+	+	+
122 ^a	-	-	-	-	-	151 ^a	+	+	+	+	+
123 ^a	-	-	-	-	-	152 ^a	+	+	+	+	+
124 ^a	-	-	-	-	-	153 ^a	+	+	+	+	+
125 ^a	-	-	-	-	-	154 ^a	+	+	+	+	+
126 ^a	-	-	-	-	-	155 ^a	+	+	+	+	+
127 ^a	-	-	-	-	-	156 ^a	+	+	+	+	+
128 ^a	-	-	-	-	-	157 ^a	+	+	+	+	+
129 ^a	-	-	-	-	-	158 ^a	+	+	+	+	+
130 ^a	+	+	+	+	+	159 ^a	+	+	+	+	+
131 ^a	+	+	+	+	+	160 ^a	+	+	+	+	+
132 ^a	+	+	+	+	+	161 ^a	+	+	+	+	+
133 ^a	+	+	+	+	+	162 ^a	+	+	+	+	+
134 ^a	+	+	+	+	+	163 ^a	+	+	+	+	+
135 ^a	+	+	+	+	+	164 ^a	+	+	+	+	+
136 ^a	+	+	+	+	+	165 ^a	+	+	+	+	+
137 ^a	+	+	+	+	+	166 ^a	+	+	+	+	+

Resumindo, teremos respectivamente para cada método

	N.º de observ.	Resultados					
		++	+-	-+	---	○	⊙
Método de Was. com soro in.	152	41	90	4	13	4	
» » » » » ac.	159	48	74	31	1	5	
» » Bauer	86	32	38	12	3	1	
» do Hosp. S. Luiz . . .	169	42	105	8	5	9	
» de Benard-Joltrain . .	185	51	89	12	15	18	

Vamos agora comparar entre si estes diferentes métodos, comparando cada um com todos os outros nos resultados das observações em que se fizeram em comum as respectivas reacções.

Teremos os quadros seguintes, tirados dos precedentes.

	Reacções comuns	Resultados comuns	Resultados diferentes			
Método de Wassermann com soro inactivo e soro activo	150	60 -- 25	a. +- 1	a. -- 1	i. +- 1	-- ++
		36 ++ 8	a. -- 1	a. +- 1	i. ○	+-
		5 ○ 2	a. +- 3	a. ++ 3	i. ○	++
		1 +- 2	a. ++ 4	a. +- 4	i. --	++
Método de Wassermann com soro inactivo e método de Bauer	80	35 -- 12	i. -- 1	i. ○	B. --	
		20 ++ 6	i. -- 1	i. ++ 1	B. --	++
		1 ○ 3	i. -- 1	i. +- 1	B. --	+-

Reacções comuns	Resultados comuns	Resultados diferentes
Método de Wassermann soro inactivo e método do Hosp. S. Luiz	107	58 -- 3 i. -- -- 2 i. ++ 1 i. +- S. L. +- S. L. O S. L. --
		23 ++ 1 i. ++ 1 i. ++ 1 i. +- S. L. +- S. L. -- S. L. O
		2 -+ 5 i. -- -- 4 i. O 2 i. -- S. L. O S. L. -- S. L. ++
		2 O 1 i. O 1 i. O S. L. +- S. L. +-
Método de Wassermann soro inactivo e método Bernard-Johirain	121	46 -- 15 i. -- -- 6 i. O 1 i. +- J. O J. -- J. ++
		24 ++ 7 i. -- -- 2 i. ++ 1 i. +- J. +- J. +- J. O
		1 +- 5 i. -- -- 1 i. ++ 2 i. O J. ++ J. -- J. ++
		5 O 4 i. ++ 1 i. +- J. O J. --
Método de Wassermann soro activo e método de Bauer	81	34 -- 3 a. +- 2 a. ++ B. -- B. +-
		23 ++ 2 a. -- 2 a. ++ B. O B. ++
		10 -+ 1 a. +- 1 a. ++ B. O B. ++
		1 O 5 a. +- 2 a. ++ B. ++ B. ++
Método de Wassermann soro activo e método do Hosp. S. Luiz	111	53 -- 14 a. +- 1 a. ++ S. L. -- S. L. --
		25 ++ 4 a. ++ 1 a. +- S. L. O S. L. ++
		4 -+ 5 a. +- 1 a. -- S. L. O S. L. +-
		1 O 2 a. ++ S. L. +-

Reacções comuns	Resultados comuns	Resultados diferentes
Método de Wassermann sôro activo e método Benard-Joltrain	123	50 -- 1 a. ++ 8 a. ++ J. -- J. ○
		28 ++ 7 a. -- 2 a. --- J. ○ J. +-
		8 -+ 8 a. +- 1 a. ++ J. ○ J. +-
		1 ○ 5 a. +- 4 a. +- J. -- J. ++
Método de Bauer e método do Hosp. S. Luiz	59	25 -- 5 B. +- 2 B. ++ S. L. -- S. L. --
		13 ++ 2 B. ○ 3 B. +- S. L. -- S. L. ○
		4 -+ 3 B. ++ S. L. ○
		1 ○ 1 B. ++ S. L. +-
Método de Bauer e método Benard-Joltrain	72	23 -- 1 B. ++ 1 B. ○ 1 B. ++ J. -- J. +- J. +-
		20 ++ 2 B. -- 5 B. ++ J. +- J. ○
		3 +- 5 B. -- 2 B. +- J. ○ J. --
		3 ○ 4 B. +- 2 B. +- J. ○ J. ++
Método do Hosp. S. Luiz e método de Benard-Joltrain	165	80 -- 7 S. L. -- 2 S. L. ++ J. +- J. ○
		40 ++ 13 S. L. -- J. ○
		14 ○ 1 S. L. -- J. ++
		4 +- 4 S. L. +- J. ++

A' face dos resultados expressos vemos que o método de Wassermann com sôro activo e o método de Bauer, diferem do método clássico dando maior número de reacções positivas, principalmente positivas fracas.

O método do Hospital S. Luiz fornece por vezes resultados duvidosos, hemolise nula em todos os tubos, por falta de complemento natural; a fóra estes casos quási exclusivamente limitados a soros antigos, de mais de 4 a 5 dias, é o processo cujos resultados mais se aproximam dos do método de Wassermann.

Quanto ao processo simplificado de Benard-Joltrain, fornece mais resultados positivos que os métodos de Wassermann ou do Hospital S. Luiz, quando não diverge por reacções duvidosas.

E' com efeito o processo onde encontrei maior número destas reacções, falta de complemento ou hemolisinas suficientes para hemolisar os glóbulos empregados, mas ainda assim relativamente poucas nos soros frescos, como constam das minhas observações, e nunca tantas que excluam a importância do método, atendendo principalmente a prática rapidez nos resultados.

E o perigo da hemolise nas reacções positivas não se verifica, como diz Joltrain, e como verifiquei com o contróle dos outros métodos.

O método de Wassermann com sôro activo e o método de Bauer fornecem resultados quási idênticos;

já o mesmo não acontece em relação aos métodos do Hospital S. Luiz e Joltrain, que dão menos reacções positivas, principalmente o primeiro.

Resumindo, vemos que o método do Hospital S. Luiz é o que mais se aproxima nos resultados do método inicial clássico de Wassermann, e que êste com sôro activo e os outros processos Bauer e Joltrain, dão mais reacções positivas que o processo clássico.

Como interpretar êste excesso de reacções positivas?

Parece hoje demonstrado que o aquecimento a 56° tem por vezes uma certa acção destruidora sôbre o anticorpo sífilítico.

Leredde, Rubinstein, Busila e outros autores mencionaram o facto, e Noguchi fez interessantes observações, verificando que 20 minutos a 72-80° destruía todo o anticorpo sífilítico; a simples temperatura de 55° durante meia hora reduzia-o a $\frac{1}{4}$, e, segundo o mesmo autor, essa redução é rápida, cerca de $\frac{1}{3}$ nos 1.^{os} 5 minutos.

Em 124 casos de sífilis primitiva P. Gerard — «Soc. de Biologie» fevereiro de 1918 — obteve 94 reacções positivas com sôro aquecido, e 100 com sôro activo.

Para obstar a êste inconveniente que faz dar por vezes pelo método clássico de Wassermann resultados negativos a soros sífilíticos, alguns autores aconselham a inactivação dos soros na estufa a 37° durante 24 horas, o que dizem sem acção apreciável sôbre os an-

ticorpos respectivos, e suficiente para destruir o complemento natural; é preciso contudo nestas circunstâncias ter recolhido o sôro com toda a assepsia, para evitar o desenvolvimento de culturas, que iriam depois prejudicar o mecanismo da hemolise.

Mas serão realmente específicas todas as reacções positivas com o sôro activo e negativas com o processo clássico de Wassermann?

Não, e é mesmo convicção minha, que as positivas fracas, a maior parte das vezes não são.

Noguchi observou recentemente que a maior parte dos soros humanos não aquecidos fixam muitas vezes o complemento em presença de certos proteicos ou dos seus productos de decomposição autolítica, existentes em grande número de antigénios.

Esta fixação não sendo específica não pode contudo distinguir-se da reacção da sífilis, a não ser deixando de ser possível, como succede empregando o processo clássico de Wassermann, ou então sôro activo, mas com o antigénio Noguchi, onde apenas existem lipoides inorgânicos, insolúveis na acetôna.

Nas minhas observações encontrei vários casos de reacções negativas com sôro aquecido, sistema de Wassermann, e positivas fracas com sôro activo, onde nada nos fazia suspeitar de sífilis, e onde mesmo reacções posteriores deram resultados nitidamente negativos.

Notei que o factor antiguidade do sôro era causa

frequente destas divergencias fazendo reacções em soros sucessivamente envelhecidos, como constam do quadro seguinte, onde o número do doente é o que vem também adiante nas respectivas observações, e representa o número de registo nos respectivos laboratórios.

Vemos com efeito que a partir duma certa idade, 5.^o a 6.^o dia em geral, quasi todos os soros activos não especificos adquirem a propriedade de fixar o complemento em presença da maior dose de antigénio a principio, e depois mesmo de 0^{cc},1; as reacções positivas e ainda as negativas com sôro aquecido, verificamos nas nossas observações conservarem por largo tempo o seu valor. De tudo isto a conveniencia de não fazermos reacções com sôro activo alem do 4.^o ou 5.^o dia, e, quando um sôro só possa chegar ao laboratório passado mais tempo, é bom inactivá-lo préviamente.

Para todos os soros passados muitos dias é frequente deixar de verificar-se a hemolise, mesmo nos testemunhas, em geral pela formação dum precipitado ou desagregação molecular, capaz de fixar expontaneamente o complemento.

Como interpretar a anomalia com o tempo dos soros activos negativos? Talvez por um desagregamento coloidal capaz de fixar o complemento em presença do lipoide, talvez por um desenvolvimento microbiano capaz da mesma propriedade; verifiquei esta última hipótese nalguns casos, e a ter importância che-

Soro doente		Método W. Método W.			Método W. Método W.			Método W. Método W.		
Observ.	Edade do soro	soro i.	soro a.	Soro doente	Observ.	Edade do soro	soro i.	soro a.	Soro doente	Observ.
N.º 406	3 dias	-	-	N.º 472	CC	18 dias	+	+	O	O
>	7 dias	-	+	N.º 440	CCI	3 dias	+	+	+	+
N.º 408	2 dias	-	-	>	CCII	6 dias	+	+	+	+
>	6 dias	-	-	N.º 445	CCIII	2 dias	-	-	-	-
>	7 dias	-	+	>	CCIV	5 dias	-	-	-	-
N.º 440	3 dias	+	+	N.º 504	CCV	3 dias	+	+	+	+
>	5 dias	+	+	>	CCVI	8 dias	+	+	+	+
N.º 445	2 dias	-	-	>	CCVII	11 dias	+	+	+	+
>	4 dias	-	-	>	CCVIII	15 dias	O	O	O	O
N.º 608	1 dia	+	+	N.º 479	CCIX	1 dia	-	-	-	-
>	5 dias	+	+	>	CCX	5 dias	-	-	-	-
N.º 407	2 dias	-	-	N.º 531	CCXI	1 dia	-	-	-	-
>	6 dias	-	+	>	CCXII	4 dias	-	-	-	-
>	7 dias	-	+	>	CCXIII	8 dias	-	-	-	-
N.º 472	3 dias	+	+	>	CCXIV	15 dias	-	-	-	-
>	7 dias	+	+	N.º 507	CCXV	6 dias	-	-	-	-
>	11 dias	+	+	>	CCXVI	9 dias	-	-	-	-

garia muitas vezes para explicar a ausência do facto no sôro inactivado, onde se fez uma semi-esterilisação.

Parece-me contudo razão nem sempre suficiente, porque a ligeira esterilisação feita não deve ser bastante para 15 dias e mais em que o processo de Wassermann conserva o resultado negativo, quando com o sôro activo se vê uma sucessiva fixação do complemento.

As reacções paradoxais, negativas e positivas com poucos dias de intervalo no mesmo sôro, é um facto análogo; nunca as observei com o sistema de Wassermann.

Carl Rasp e Erich Somtag em 200 soros com 600 observações encontraram nove, que explicam pela desviabilidade variavel do título hemolítico do complemento. De resto, como afirma o Ex.^{mo} Professor da Faculdade do Porto Dr. A. da Rocha Pereira, estas reacções são felizmente raras, parece observarem-se só em casos de sífilis recente, tratada ou latente; e por outro lado dão sempre reacções incompletas e daí sujeitas ao critério adeante exposto, que nos recomenda a repetição da reacção com novos soros.

E posto isto como interpretarmos o resultado duma reacção?

Devemos dizer préviamente ser sempre conveniente usar pelo menos dois processos, um com sôro activo e outro com sôro aquecido, o clássico processo de Wassermann, que, no dizer do proprio Joltrain e mais

autores, é ainda hoje o método de escolha nos casos duvidosos.

O Prof. Rocha Pereira igualmente aconselha as reacções com as duas variedades de sôro, dizendo fugirmos assim a muitas confusões, a muitos casos embaraçosos de reacções incompletas, como as pretendidas paradoxais.

Num meu laboratório usaria por ex. o método de Wassermann com sôro activo e com sôro inactivado, ou o processo clássico e o método de Bauer, ligando a devida consideração ao método de Benard-Joltrain nos casos urgentes, principalmente quando em resultados nitidamente positivos ou negativos. Usando um só processo aconselho o de Wassermann clássico com inactivação 24^h a 37°, ou então o método do Hospital S. Luiz, muito mais simples e de resultados quasi idênticos, dando mesmo uma ligeira percentagem a mais de reacções positivas, sem acusar as muito fracamente positivas, de valor clínico duvidoso.

E já agora digamos que o valor clínico da reacção nada sofre com a existência dos casos duvidosos; estes, como afirma Rocha Pereira reclamam sómente um cuidado especial na sua interpretação definitiva, e demonstram que o absoluto não é do dominio biológico, onde são numerosas as gradações, variáveis os casos e indecisos os limites.

Usando vários métodos as causas de erro diminuem, até desaparecerem mesmo com o critério que conclui

das minhas observações, e que de resto expuseram já M. M. Bauer e Hallion.

As reacções positivas com o processo clássico são específica e nitidamente positivas, e são-no quasi sempre também com o sôro activo.

Vem a proposito dizer que muitos autores menosprezam os processos simplificados em que se emprega o complemento natural do sôro, porque podendo haver excesso de complemento, principalmente com excesso de hemolisinas, pode dar-se a hemolise mesmo em reacções positivas. O facto é verdadeiro sôbre tudo nos soros muito frescos, e é muitas vezes a causa de divergências de resultados do mesmo sôro em diferentes laboratórios, mas na prática pouco frequente, talvez porque se não empregam soros demasiados recentes, e mesmo, como afirmam Jousset e Paraske-Vapoulos — Soc. de Biol. T. TLXV-pag. 22, porque o sôro humano mesmo fresco é pouco rico em complemento, 2 a 6 vezes menos que o sôro correspondente de co-baia. Pode no entanto explicar ainda alguns casos de pretendido paradoxilismo de reacções, que dão por excesso de complemento nitidamente negativas em soros muito frescos não aquecidos, dando alguns dias depois com o desaparecimento dêsse excesso de complemento, resultados positivos.

Nas minhas observações, em 150 reacções comuns pelos processos de Wassermann com sôro activo e sôro inactivado, apenas encontrei uma reacção posi-

tiva no processo clássico e negativa no sôro activo, e duas positivas no 1.º caso e positivas fracas no 2.º.

Em relação aos outros processos de sôro não aquecido a proporção é idêntica, como se pode verificar pelos quadros da comparação recíproca dos diferentes métodos atrás expostos.

Para evitar contudo esta pequena causa de erro dos soros activos recentes, Ronchéze — «La presse medicale» dezembro de 1917 — aconselha o uso dum sistema hemolítico anti-homem, em dose previamente determinada para a respectiva percentagem de complemento; nestas condições a menor porção de alexina fixada traduzir-se-hia por uma ausência de hemolise.

Telmon — «La presse medicale» julho de 1917 — aconselha também nestes casos a dosagem prévia do complemento.

Quanto às reacções positivas no sôro activo e negativas com o processo clássico, vamos estabelecer duas categorias conforme a intensidade da ausência da hemolise.

As reacções nitidamente positivas no sôro activo com qualquer dose de antigénio devem considerar-se bem positivas, e é nestas condições que devemos attribuir a hemolise completa no processo de Wassermann á destruição do anticorpo específico pela inactivação.

A minha observação 156.ª, onde a sífilis clínica se traduz, ou antes se identifica com uma reacção posi-

tiva no sôro activo embora negativa no sôro aquecido, é um exemplo interessante destes casos, aliaz raros, pois em 150 reacções pelos 2 processos apenas 4 divergiram dêste modo; e essas divergências serão ainda menores empregando a inactivação a 37º, como aconselha Telmon.

No que respeita ás reacções positivas fracas nos soros activos, ausência de hemolise apenas na maior dose de antigénio e negativas com o processo clássico, sucedem ás vezes em sífilis iniciais, casos de heredo-sífilis atenuada, em antigos sífilíticos insuficientemente tratados, pouco tempo após um tratamento incompleto, em sífilis nervosas, sífilis pouco activas, etc. etc., como se verifica por ex. na minha observação 115.^a; mas sabemos também muitas vezes terem logar em casos virgens de sífilis. E diga-se de passagem como frisa o meu caso apontado, o método de Bauer é então nitidamente positivo, donde uma vantagem sôbre o processo de Wassermann com sôro activo.

Nestas reacções positivas fracas com o sôro activo e negativas com o sôro aquecido, afastadas as possíveis causas de êrro, soros antigos, soros lactascentes, etc., é conveniente repetir-se a reacção, e, se é ainda o mesmo o resultado, fazer a chamada reactivação da Wassermann, não esquecendo é claro e sôbre tudo então, a respectiva observação clínica.

O fenómeno da reactivação descripto pela 1.^a vez por M. Milian, reduz-se á propriedade que tem um

tratamento ligeiro de reactivar, tornar mais sensível uma Wassermann, num sôro sifilítico de reacção negativa ou positiva fraca.

E' um processo análogo ao usado pelos antigos clínicos que antes do casamento submetiam os antigos sifilísados a um tratamento de prova, verificando muitas vezes curas incompletas, por sintomas reveladores.

Aquele esboço de tratamento precisamente para ser ligeiro, de preferência ao arsénio é conveniente fazer-se antes pelo mercúrio, bastando 5 a 6 injecções de benzoato ou cianeto.

Bergeron e Jouffray — «La presse medicale» abril de 1917 — exemplificando com muitos casos aconselham o emprego do mercúrio coloidal, a que juntam uma pequena percentagem de arsénio, em injecções intra-musculares de 3 em 3 dias, em número de 5.

Uma injecção de neoarsenobenzol consegue muitas vezes o mesmo fim. O Ex.^{mo} Prof. Dr. Morais Sarmiento verificou-o no 24.^a observação do seu livro — «Raquicenteze» 1915; era uma doente em secundarismo sifilítico com Wassermann negativa no líquido céfalo-raquídeo, e onde uma injecção de neoarsenobenzol mudou nitidamente o resultado da reacção.

Em qualquer dos casos 8 a 15 dias após a última injecção fazemos uma nova reacção, e se o resultado é nitidamente positivo conseguimos o nosso fim; no caso contrário repetimos a reacção 8 a 15 dias depois

porque pode dar-se uma reactivação tardia, e, se ainda desta vez a reacção não dá bem positiva, podemos excluir a sífilis activa, passando o doente exclusivamente ao dominio clínico, e devendo apenas fazer-se alguns meses mais tarde uma nova reacção.

E' claro que estas noções indispensaveis ao analista são-no ainda mais ao médico pratico para êste as pôr em prática fazendo a devida interpretação, quando o laboratório classifique positivo fraco, o resultado duma reacção.

Em conclusão, a interpretação das reacções nitidamente positivas ou negativas é fácil, e a harmonia quási absoluta nos resultados dessas reacções por processos diferentes, mostra já o alto valor da reacção.

O quadro adeante indicado é extraído da comparação recíproca dos resultados nitidamente averiguados dos diferentes métodos que ensaiei.

Embora quási insignificantes, as aparentes divergencias existentes por ex. para os soros inactivados, são facilmente explicadas pelas noções já enunciadas. Quanto ás reacções positivas fracas, tendo em vista os principios formulados, também nos é facil interpreta-las.

Antes de terminar êste parágrafo devo ainda dizer que a boa interpretação duma reacção de Wassermann depende também de pequeninas noções, que só a prática confere; e era a isto que queria referir-me, quando dizia que a Wassermann me parece mais delicada que difficil. Já dissemos por ex. ser indispensavel material

perfeitamente limpo, reagentes de confiança, sôro límpido e não antigo, etc. Os tubos e pipetas não devem

	Observ. comuns	Resultados divergentes	Resultados diverg. %
Mét. ^o de Was. com sôro activo e sôro inactivo	150	5	3,0 ^o
» » » » » in. ^o e mét. ^o de Bauer	80	7	8,7 ^o / ₀
» » » » » » » » do Hosp. S. Luiz	107	3	2,8 ^o / ₀
» » » » » » » » Benard-Joltrain .	121	6	4,9 ^o / ₀
» » » » » ac. ^o » de Bauer	81	0	0 ^o / ₀
» » » » » » » » do Hosp. S. Luiz	111	1	0,9 ^o / ₀
» » » » » » » » Benard-Joltrain .	123	1	0,8 ^o / ₀
» » Bauer e mét. ^o do Hosp. S. Luiz	59	2	3,3 ^o / ₀
» » » » » de Benard-Joltrain	72	1	1,4 ^o / ₀
» do Hosp. S. Luiz e mét. ^o de Benard-Joltrain . .	165	1	0,6 ^o / ₀

conter os menores traços de ácidos ou alcalis, porque estas substâncias podem ter influência no resultado das reacções.

E é talvez fundado nisto que dizia há pouco um jornal médico o uso de pipetas de vidros diferentes ser ás vezes sufficiente para mudar o sinal duma reacção.

Com bom material julgo a afirmação demasiado gratuita. Fiz muitas reacções aos mesmos soros nos 2 laboratórios da Faculdade, com material diferente portanto, sendo sempre idênticos os resultados. Igualmente em centenas de reacções feitas simultaneamente

por mim e pelos empregados dos respectivos laboratórios os resultados foram concordes, como se pode verificar nos livros de registo dos mesmos laboratórios, para o que menciono nas minhas observações o respectivo número da reacção.

O que é preciso é boa técnica, operar com uma dosimetria rigorosa, ter em conta a intensidade da hemolise, relacionar bem a hemolise do testemunha e dos outros tubos, ter em conta a demora na estufa, etc...

E' também conveniente seguir a marcha da reacção durante a última meia hora da hemolise; o excesso de hemolisinas em presença mesmo de pouco complemento, quando um pouco mais tempo na estufa, pode hemolisar as reacções pouco intensamente positivas, hemolisando então o testemunha muito mais cedo; pode dar-se o inverso, ou seja a hemolise incompleta, um ligeiro atraso ao fim da meia hora de estufa, em reacções que alguns minutos mais a 37° se mostram nitidamente negativas. Nestes casos, embora raros, a intensidade da hemolise como vemos, tem grande significação, em relação ao testemunha. Em fim, e á face de todas as noções expressas, podemos deduzir facilmente o resultado duma reacção, e assim attribuir-lhe o valor clínico, de que vamos falar no parágrafo que segue.

II -- Do valor clínico da reacção

Estudaremos aqui a percentagem de reacções posi-

tivas nos indivíduos sífilisados, e o grau de possível existência das mesmas reacções fóra da sífilis.

Aquela percentagem varia um pouco com as diferentes «etapes» da doença, e para as sífilis primárias é conveniente saber só terem significação as reacções, 15 a 30 dias após a manifestação inicial.

Com o antigénio de Desmouliere parece conseguir-se mais cedo a reacção de fixação positiva, 11 e 13 dias por vezes, após o aparecimento de cancro. Mesmo nos casos gerais este período varia um pouco com os autores, como vemos do quadro seguinte:

Para Jadassohn	do 15.º ao 25.º dia
» Oltramare	» » » 20.º »
» Audry	pelo 25.º dia
» Wassermann e Noguchi	» 21.º »
» Finger	» » »

Em média é pelo 21.º ao 25.º dia após o acidente inicial não tratado, que, bruscamente no dizer de Joltrain, aparece a reacção positiva.

Em qualquer dos casos a reacção positiva mostra a generalisação da infecção, com que parece estar em harmonia.

Joltrain apresenta dois factos concludentes neste sentido: No primeiro trata-se dum homem portador dum cancro de 6 semanas acompanhado de adenite inguinal indolor onde foi possível encontrar o treponema; não ha roséola, placas mucosas, etc., e a Wassermann deu negativa; 10 dias depois rebentando sífilides papulosas e placas, a Wassermann faz-se rapi-

damente positiva. O segundo refere-se á rapidez com que aparece a Wassermann positiva nos cancros do lábio, onde pela riqueza da vascularisação linfática, se faz uma generalisação muito mais rápida.

Quando á proporção de reacções positivas nestas sífilis primárias, a percentagem varia um pouco com os autores como veremos num quadro adiante, além da técnica pelo grau variavel da infecção no momento do exame.

E' na sífilis secundária que existe a maior percentagem de reacções positiva ; Boas, Gaucher, Paris e Sabareau encontraram então 100 %₀ dessas reacções em casos examinados com acidentés em evolução e sem prévio tratamento. O tratamento prévio com efeito, o estado do doente e o desprezo pelas reacções fracamente positivas e duvidosas, são em geral neste período a causa dos resultados negativos dalguns autores.

Bruck deixou de acusar destes resultados empregando antigénios perfeitos e fazendo as reacções pelas duas técnicas, de Wassermann e Stern.

Como afirma Noguchi, neste período da doença a reacção é relativamente constante, e pode dar uma certeza sôbre a existência de anticorpos no sôro dos doentes examinados.

E não se diga que nestes casos é em geral suficiente o diagnóstico clínico. As mulheres com a manifestação inicial a maior parte das vezes ignorada, os casos atípicos, os casos de cancro mixto, os casos de secunda-