Antonio Canejo

Diagnostico

DO

MAL RUBRO

PELA

Reacção d'Ascoli

TYP. DE J. F. PINHEIRO
R. JARDIM DO REGEDOR, 39 E 41
LISBOA — 1912

Diagnostico do Mal rubro

pela

Reacção d'Ascoli

ESCOLA DE MEDICINA VETERINARIA

DIAGNOSTICO DO MAL RUBRO

PELA

Reacção d'Ascoli

DISSERTAÇÃO INAUGURAL

Apresentada e defendida

POR

Antonio de Jesus Canejo

Julho de 1912

LISBOA
TYPOGRAPHIA DE J. F. PINHEIRO
39, Rua do Jardim do Regedor, 41
1912

ESCOLA DE MEDICINA VETERINARIA

Director — José Verissimo d'Almeida
Secretario — Theotonio Julio Pimenta Rodrigues

Curso de Medicina Veterinaria

CADEIRAS	LENTES
Anatomia descriptiva e comparada, embryologia e teratologia	Joaquim Ignacio Ribeiro
Botanica	(D.) Antonio Pereira Coutinho
Physica agricola	Filipe de Figueiredo
Histologia e Physiologia comparada	José Antunes Pinto
Materia médica, chimica médica, pharmacologia e pharmacia	Antonio Augusto dos Santos
Chimica agricola e analyse	Luiz A. Rebello da Silva
Pathologia geral e anatomia pathologica geral	João Sabino de Sousa
Pathologia interna	Cor. José Maria Alves Tórgo
Anatomia topographica	Manoel Diogo da Silva
Pathologia externa, medicina operatoria e obstetricia	Cor. João Ferreira da Silva
Zootechnia e economia pecuaria	Antonio Augusto dos Santos
Exterior	Cor. João Ferreira da Silva
Hygiene e dietetica, bacteriologia geral, inspecção sanitaria de animaes de talho, analyse dos productos alimentares de origem animal	Miguel Aug. dos Reis Martins
Pathologia das doenças contagiosas, policia sanitaria, jurisprudencia veterinaria e deontologia	João Viegas Paula Nogueira
Hygiene, zootechnia e pathologia exoticas	»

Clinicas

Médica	Cor. José Maria Alves Tórgo
Cirurgica	Manoel Diogo da Silva
Das doenças contagiosas	João Viegas Paula Nogueira

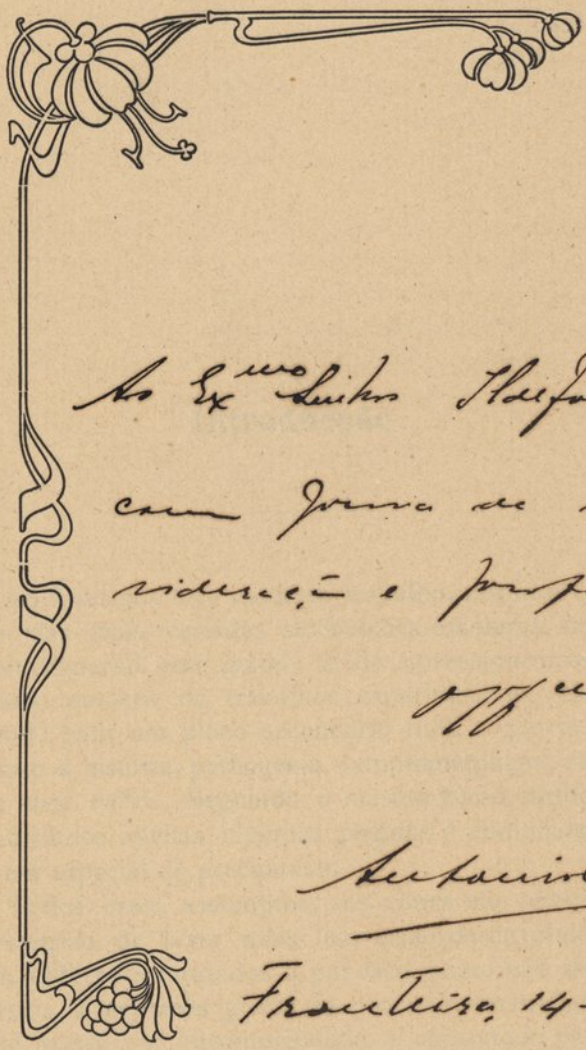
Cursos auxiliares

Microscopia	Miguel Aug. dos Reis Martins
Chimica geral	Cesar de Lima Alves
Zoologia	Godofredo da Silva Santos

Chefes de serviço

Manoel Diogo da Silva, Godofredo da Silva Santos
Miguel Augusto dos Reis Martins,
José Miranda do Valle, Antonio Carvalho da Fonseca

Esta Escola não se responsabilisa pelas doutrinas expostas nesta dissertação. (Art.º 76.º do Regulamento de 10 de setembro de 1903).



Ao Ex.mo Senhor Stelfano Borges,

com prova de muita consideração e profundo respeito

Ut.mo

Antonio Barros

Fronteira, 14-8-912

Introducção

Ao fazermos este modesto trabalho, nos intervallos das mais variadas attribuições escolares, uma preoccupação nos guiou: a de apresentarmos o maior numero de trabalhos experimentaes, relegando para um plano secundario tudo o que se ligasse á historia, pathogenia, symptomatologia, etc., do *mal rubro*. Seguindo o mesmo rumo tambem dedicámos apenas algumas paginas á immunidade e em especial ás precipitinas.

Todos estes assumptos, aos quaes não temos a pretensão de levar mais luz, estão desenvolvidos em differentes tratados e por isso, como não aspiramos á suprema gloria de produzir um trabalho que possa ser recommendado e consultado pelos vindouros, desculpar-se-ha até certo ponto o laco-

nismo com que dirigimos este trabalho, em que tão sómente visámos o indubitavel alcance pratico da *Reacção d'Ascoli,* cuja importancia ninguem poderá contestar.

Muito nos auxiliaram, embora por meios differentes, o illustre professor Alberto Ascoli e os nossos muito amigos Antonio Lebre e Perez Fernandes.

Aqui lhes consignamos a nossa gratidão indelevel e ao dr. Ascoli, em especial, uma homenagem de profundo respeito e reconhecimento.

Considerações geraes

O mal rubro, tambem chamado antigamente *mal vermelho, erysipela, typho, peste do porco, cholera,* etc., etc. (nomes estes com que designavam um grande numero de doenças tendo por symptoma commum a vermelhidão da pelle), foi estudada em 1828 por Feliz e mais tarde em 1834 por Roche-Lubin no Averon, como gastro-enterite epizootica e carbunculosa. Haubner e Schmidt, em 1846, 1858 e 1862 differenciaram clinicamente o rubro do carbunculo, considerando-o como um typho especial. Em 1869 Harms, fez a sua descripção como uma doença infecciosa (sem relação alguma com o carbunculo) consistindo essencialmente n'uma affecção gastro intestinal grave, com alterações parenchyma-

tosas no figado, rins, musculos, ganglios lymphaticos etc. Eggeling em 1882, notou que sob o nome generico de mal rubro, pretendiam designar as seguintes affecções:

1.º O rubro esporadico da cabeça (doença muito analoga á erysipela da cabeça do homem);

2.º A urticaria;

3.º A doença infecciosa rubra (muito semelhante á escarlatina do homem) que se caracterisa por manchas acobreadas do tugmento, ao nivel da larynge, entre os membros anteriores, no ventre, na face interna das coxas, inflamação da mucosa respiratoria, alterações do figado, rins, etc.;

4.º A doença epidemica dos porcos (Schweinesenche), uma variedade de septicemia bastante grave e que frequentemente ataca a especie porcina. Como facilmente se vê, divergiram bastante as opiniões dos varios sabios e experimentadores que estudavam a doença, até ao anno de 1882 em que Pasteur e Thuilier com os seus conscienciosos trabalhos começaram como que illuminando o campo scientifico para poucos annos depois (1885), caber a Löffler a gloria da especialidade da doença e o estudo completo do bacillo.

E' bem verdade que já em 1882, Pasteur, havia descripto um bacillo que se julgou ser o agente do mal rubro; mas, infelizmente a insufficiencia da sua descripção, não nos permitte identificar exactamente o micro organismo visto por elle, levando-nos a crêr

que não seria outro senão o bacillo *suisepticus* (Kolle e Hetsch).

*

* *

Actualmente o mal rubro é considerado uma septicemia, caracterisada por um exanthema formado por manchas avermelhadas mais ou menos vivas, isoladas ou confluentes. Nos casos sobreagudos, em que o animal é fortemente atacado e succumbe em poucas horas, as manchas não chegam a formar-se nem mesmo nos logares de eleição (região onde a pelle é mais ou menos coberta de pellos), e é n'estas condições que os francezes dão á doença a denominação de *rubro branco*.

E' frequente no inicio da doença apparecer a constipação que d'entre em pouco será substituida pela diarrhea. O animal apresenta uma hyperthermia accentuada (chegando a attingir 43° c.), as mucosas cyanosadas, grande abatimento e ás vezes paralysia do terço posterior.

Na necropsia encontramos derramamentos serosos nas cavidades naturaes, splenomegalia, tumefacção consideravel de quasi todos os ganglios lymphaticos, gastro-enterites hemorrhagicas, nephrites hemorrhagicas e parenchymatosas, endocardites, myocardites, etc.

Nem todos os animaes pertencentes á especie porcina, contrahem egualmente o mal rubro. São

geralmente as raças seleccionadas (raças finas) as mais receptiveis; emquanto que as selvagens, se não são refractarias em absoluto, pelo menos são difficilmente contaminadas.

Fazendo a inoculação experimental no rato, pombo e coelho, notamos que estes em breve succumbem pelo desenvolvimento d'uma septicemia, emquanto que o cavallo, boi, carneiro, gato, cão, cobaia, gallinha e pato são refractarios.

Ainda na especie porcina e entre os individuos da mesma raça, se encontram uns mais resistentes que outros á infecção natural, independentemente da idade.

A sua principal via de infecção é sem duvida a digestiva (Klein e Zundel). Os mesmos auctores pretendem mesmo vêr o apparecimento da doença, após o emprego repetido d'uma alimentação avariada ou rica em parasitas, sendo estes a verdadeira causa efficiente do mal rubro.

Klein garantiu, depois de varias experiencias, que o parasita productor do rubro ou typho do porco (como lhe chamava), podia viver e multiplicar-se fóra do animal até ao momento em que as forragens, agua, etc., o pozessem em contacto intimo com o organismo do animal.

Segundo dizem Olt, Onerbeck e Pitt, o bacillo parece existir frequentemente, como saprophyta, nas amygdalas e no intestino dos porcos, sem lhes causar perturbação, pelo menos apparentemente.

Em sessenta e seis exames sobre intestinos de

porcos que apparentemente estavam sãos, Pitt encontrou vinte e seis que o albergavam. Refere-se ainda o mesmo auctor a cincoenta exames de amygdalas, nas quaes teve occasião de encontrar vinte e oito com bacillos.

E' natural que o bacillo nestas condições espere um enfraquecimento geral do organismo e meio favoravel ao seu desenvolvimento para se reproduzir e dessiminar por toda a economia, agrupando-se de frequencia nos orgãos de eleição, e tornando-se rapidamente pathogenico para o organismo que o alberga. Chegando ao meio lymphatico, depressa attinge os ganglios, onde se desenvolve e prepara para em breve entrar na corrente circulatoria, produzindo phlebites e mesmo thromboses.

Para a especie humana não podemos dizer em absoluto, que o bacillo do mal rubro seja pathogenico. Entretanto certos factos levam-nos a crer que, em condições especiaes, o homem possa contrahir a doença, quando depois d'um trauma, em que haja dilaceração de tecidos, o bacillo fique em contacto com a superficie desnudada.

Pela via digestiva tambem a infecção póde ter logar, como prova o facto descripto por M. Jolyet, em que uma familia habitante de Knox-County contrahiu a doença depois do emprego repetido da agua proveniente d'um ribeiro em que haviam lançado cadaveres de suinos atacados pelo mal rubro.

Diagnostico bacteriologico

O agente productor do mal rubro é um pequeno bacillo, aerobio-facultativo, immovel, medindo 0,5 a 1,5 μ de comprimento, difficil de vêr quando descorado e morphologicamente semelhante ao bacillo da septicemia dos ratos *(bacillo murisepticus,* descoberto e estudado por Koch).

Toma facilmente todas as côres usuaes da anilina, o *Gram* e *Claudius*. A sua resistencia aos agentes exteriores é bastante pronunciada.

Petri, mostrou que conserva ainda a vitalidade na carne, depois d'uma cocção de duas horas e meia, e a virulencia durante trinta dias nas carnes salgadas ou defumadas. Nos cadaveres conserva a sua virulencia ainda durante alguns mezes (Lösener).

Examinando uma preparação ao microscopio, podemos encontral-o com fórmas mais ou menos differentes: recurvado, ramificado ou alongado como presenciou Lorenz nas suas innumeras preparações de culturas mixtas com outras bacterias e em particular os staphylococcus. Independentemente das associações com outras especies, podemos-lhe tambem notar mudanças de fórma, devidas á composição chimica do meio, velhice, etc.

Apparece isolado ou em grupos nos ganglios, formando curtas cadeias nas preparações de culturas em caldo. O seu numero no sangue é sempre menor em relação ao que existe nos ganglios, baço e medulla.

São os meios humidos e obscuros os mais favoraveis aos factores de virulencia; emquanto que a dissecação, o contacto do ar, da luz, as temperaturas altas e abaixo de zero, o attenuam consideravelmente. A' temperatura ordinaria, desenvolve-se em todos os meios de reacção neutra ou alcalina, mas não apresenta caracteres culturaes bem definidos. Nas culturas em gelatina, as colonias são muito delicadas, e apresentam um fraco engrossamento, um centro esbranquiçado finamente granuloso d'onde se destacam tenuissimos filamentos.

Se perfurarmos com um fio de platina préviamente infectado, a gelatina contida n'um tubo de ensaio, notam-se ao longo do sulco e perpendicularmente a elle uns tenues filamentos, que dão ao conjuncto o aspecto d'uma minuscula escova de la-

var garrafas, bem caracteristico do bacillo do mal rubro.

E' natural que, depois de bem conhecermos as exigencias do microbio, a sua morphologia e o aspecto que tomam as culturas nos diversos meios empregados nos laboratorios, tenhamos absoluta necessidade de pôr em pratica estes conhecimentos para que possamos cumprir conscienciosamente a nossa espinhosa missão.

Mas, infelizmente não são raros os dias em que o medico veterinario, embora animado de bôa vontade, não póde assegurar um diagnostico, já pela falta de material apropriado, já pela distancia que o separa dos grandes centros em que só por via de regra existem os laboratorios.

E' n'estes momentos que surgem os grandes embaraços tanto para o clinico como para o bacteriologista, principalmente na epocha dos grandes calôres do verão, em que as amostras, sendo muitas vezes colhidas um e dois dias depois do animal ter succumbido, chegam ao laboratorio em adeantado estado de decomposição.

Estas amostras que em occasião propicia nos facilitavam as preparações microscopicas, culturas e inoculações em pequenos animaes, fornecem agora uma enormissima flora microbiana que não só nos póde deixar duvidosos como tambem levar-nos a elaborar um erro.

Mas, se até hoje a rapidez e a segurança do diagnostico do mal rubro estava em grande parte de-

pendente do estado de conservação dos orgãos suspeitos, actualmente já este obstaculo é facilmente transposto, graças á recente descoberta de Alberto Ascoli, que não só nos permitte precisar se tratamos ou não com orgãos affectados do mal rubro, em um praso de tempo relativamente pequeno, mas ainda dispensando apparelhos complicados e delicados, de não facil transporte e difficeis de adquirir pelo seu elevado preço.

Immunidade

A *immunidade* é a propriedade que possuem certos individuos de serem refractarios para uma infecção á qual não podem resistir, nas mesmas condições, outros individuos da mesma especie e da mesma raça.

Esta propriedade póde ser *natural* ou *adquirida*.

A sua duração está tão ligada com outros factores, que nos impede por completo de nos manifestarmos por um determinado periodo de tempo que represente a realidade.

Assim, um determinado animal que naturalmente é immune para uma dada infecção, póde, sob a influencia de varias causas naturaes ou artificiaes, perder essa faculdade inherente ao proprio individuo.

A *immunidade natural* é ás vezes devida, em parte, á resistencia que a pelle e as mucosas oppõem aos micro-organismos, impedindo os por esta fórma de alcançar as partes mais internas da economia, onde pelo seu rapido desenvolvimento poderiam em breve triumphar do organismo.

Mas apesar de todos os auctores reconhecerem quanto é poderoso o auxilio da pelle e das mucosas na defeza do organismo, o papel que ellas desempenham deixa muito a desejar desde que se saiba o mecanismo d'estes phenomenos e nos lembremos das theorias cellular e humoral.

Tambem sabemos, por exemplo, que o homem é refractario a um certo numero de affecções para as quaes muitos animaes são bastante sensiveis (peripneumonia, peste bovina, etc.) Ainda dentro das varias especies animaes, nós encontramos uns verdadeiramente refractarios a determinadas doenças, quando outros as contrahem com extrema facilidade. Ao lado da *immunidade natural absoluta existe a immunidade natural parcial,* da qual podemos triumphar servindo-nos de certos artificios. Sendo assim, podemos fazer contrahir o carbunculo á gallinha, o tétano á rã, etc.

A theoria d'Ehrlich permitte-nos comprehender porque umas raças possuem immunidade natural para certos venenos bactericos, ao passo que outras são desprovidas d'essa faculdade.

E' evidente que, se um animal não possue receptores cellulares adaptados para uma dada toxina,

esta não poderá ser fixada pelas cellulas e nem tão pouco actuar sobre ellas.

D'aqui se conclue tambem, que os micro-organismos capazes de produzir esta toxina, não são pathogenicos para este animal. A *immunidade adquirida,* póde ser conferida espontaneamente, quer pelo desenvolvimento de uma infecção mais ou menos virulenta *(immunidade pathogenica adquirida),* quer artificialmente pelos methodos de vaccinação, etc. *(immunidade therapeuticamente adquirida ou experimentalmente adquirida).*

*
* *

A *immunidade artificialmente adquirida* póde ser: *activa* ou *passiva.* E' *activa,* quando o organismo elabora por si proprio os anti-corpos destinados a assegurar a sua defeza.

Ha n'este caso uma exaltação das differentes cellulas da economia, provocada pela presença dos elementos extranhos, que actuam com uma certa especificidade sobre os grupos de cellulas mais facilmente impressionaveis pela sua presença, determinando a formação de anti-corpos especificos.

A immunidade activa exige um periodo de incubação que póde variar entre 5 a 10 dias, para depois apparecerem os anti-corpos no sangue e nos humôres.

A immunidade chama-se *passiva* quando provocada pela introducção no organismo de productos immunisantes, provenientes da immunidade activa de outro animal. N'este caso o organismo não produz os anticorpos; unicamente reabsorve os que lhe são incorporados com o sôro de um animal immunisado activamente.

A immunidade passiva é uma propriedade humoral e não cellular, o que explica a sua duração passageira.

A sua acção deixa de existir com o desapparecimento dos anticorpos, artificialmente introduzidos no organismo, e apenas exige um curto periodo de incubação para fazer sentir os seus effeitos. Os effeitos d'esta immunisação são muito menos duradouros que os da immunisação activa, podendo mesmo dizer-se que não vão muito alem das primeiras semanas após a inoculação.

Mas, se por ventura pretendermos obter rapidamente uma bôa immunisação artificial, usamos o processo mixto que consiste no emprego de anticorpos fornecidos ao organismo por meio de injecções, para seguidamente empregarmos as culturas e as toxinas em doses relativamente elevadas mas inofensivas graças á immunidade passiva inicial.

Os varios methodos de immunisação de que nos podemos servir, podem resumir-se no seguinte quadro:

I — Immunisação activa só por microorganismos infecciosos:

1.º Microorganismos com toda a virulencia.
2.º Microorganismos attenuados.
3.º Microorganismos infecciosos mortos, dissolvidos ou não por qualquer processo chimico.

II — Immunisação activa combinada com a passiva:

1.º Migroorganismos com toda a virulencia.
2.º Microorganismos attenuados.
3.º Microorganismos mortos.
} Combinados com um sôro.

*
* *

Phagocytose.

Para Metchnikoff e outros auctores partidarios da theoria cellular, é aos elementos cellulares, e particularmente aos leucocytos e lymphocytos, que se deve a defeza do organismo, englobando e digerindo os germens infecciosos.

Estas cellulas defensoras do organismo (phagocytos), divide-as o mesmo auctor em *fixas* e *emigradoras*.

Sabemos que todas as cellulas do organismo desempenham um papel mais ou menos importante contra os agentes infecciosos, mas é ás de origem mesodermica que cabe a principal acção. As derivadas dos folhetos externo e interno, são cellulas altamente differenciadas, que, pelas suas anastomoses, bastante resguardam o organismo, mas incapazes de destruir activamente, quer microbios, quer toxinas. São portanto as cellulas mesodermicas e especialmente os leucocytos, que, em virtude da sua independencia e mobilidade, facilmente accorrem ao campo da lucta (chimiotaxismo positivo) englobando e digerindo os invasores. Acontece que, em seguida á introducção de certas substancias de origem microbiana, os leucocytos são a principio repellidos (chimiotaxismo negativo) e o seu numero é relativamente pequeno (hypoleucocytose); mas pouco depois, não só augmentam consideravelmente (hyperleucocytose), como tambem marcham definitivamente para o campo de combate.

É certamente a necessidade de englobamento e digestão das substancias extranhas que determina a leucocytose; o processo como o organismo se desembaraça d'ellas recebeu a denominação de *phagocytose*. Conhecida depois de Lieberkuhn, Hoeckel, Recklinghausen, etc., tem sido estudada em todos os seus detalhes por Metchnikoff. Este processo, como diz o mesmo auctor, encontra-se em toda a serie animal. A principio commum ás cellulas ainda pouco differenciadas, torna-se nos animaes superio-

res o apanagio quasi exclusivo de algumas cellulas mesodermicas.

Entre os protozoarios temos, por exemplo, a amiba, na qual conhecemos ha muito o poder phagocytario.

E' englobando os corpos extranhos, por meio dos seus prolongados pseudopodos, que os concentra no seu protoplasma, no qual a pouco e pouco se vae fazendo a digestão, em virtude de certos fermentos alli existentes.

Nos animaes já mais differenciados, os cœlenterados, o processo da phagocytose não é já como na amiba; são as cellulas da endoderme e intestinaes que têem o principal papel no phenomeno.

A' medida que se eleva a escala animal todas as cellulas ectodermicas e endodermicas vão perdendo a propriedade phagocytaria, mantendo se exclusivamente nas de natureza mesodermica.

Os mesmos phenomenos da phagocytose podem ser observados, ainda que menos apparentemente, nas cellulas mesodermicas fixas (Metchnikoff, Koliker, Kupffer, etc.).

São as cellulas moveis de natureza mesodermica, os leucocytos, que têem o papel predominante na phagocytose. Entre elles, são os polynucleares e os grandes mononucleares os mais importantes, pela quantidade de protoplasma de que dispõem e que tanto concorre para o aprisionamento e englobamento dos corpos extranhos.

Metchnikoff, fundando-se nas dimensões dos cor-

pusculos, sobre os quaes os polynucleares e grandes mononucleares exercem de preferencia a sua phagocytose, chamou aos primeiros microphagos, aos segundos macrophagos.

*
* *

A phagocytose pelos microphagos nas infecções agudas, tem sido seguida por Bordet em todas as suas phases, servindo-se de um cobaia inoculado com streptococcus mais ou menos virulentos. Se as doses empregadas são relativamente elevadas, nota-se a principio uma phase em que o numero dos leucocytos é bastante limitado (hypoleucocytose), para pouco tempo depois affluir grande numero de polynucleares que englobam e digerem muitos dos invasores.

Se os defensores do organismo não podem destruir por completo os inimigos, d'estes os mais vigorosos resistem ao combate e multiplicam-se prodigiosamente. Como ha n'este momento o afastamento dos leucocytos (chimiotaxismo negativo), os streptococcus invadem o organismo com tal intensidade que a breve trecho o animal succumbe.

Quando a inoculação experimental de streptococcus no peritoneu do cobaia não basta para vencer os leucocytos, os phenomenos da phogocytose são tanto mais energicos, quanto maior é a comparencia

de defensores do organismo no local da batalha, terminando o phenomeno pelo englobamento e desapparecimento completo dos microbios invasores.

A phagocytose por intermedio dos macrophagos é muito mais rara nas infecções agudas que nas chronicas, principalmente quando se trata de esporos, cujo englobamento e digestão é bastante mais difficil.

Para Metchnikoff, a digestão intracellular faz-se por intermedio de fermentos digestivos intraleucocytarios, uns pertencentes aos polynucleares (microcytases), outros aos mononucleares (macrocytases).

Ainda o mesmo auctor admitte, no caso de immunidade adquirida, a existencia de um fermento thermo resistente gosando de affinidade para uma determinada especie de bacteria, sobre a qual se fixa sem a alterar e a que passou a chamar *fixador* (sensibilisadora de Bordet e amboceptor de Ehrlich), sendo a sua principal acção a de tornar as bacterias sensiveis aos fermentos bacteriolyticos.

Embora o proprio Buchner concorde até certo ponto com o poderoso auxilio dos phagocytos, muitos ha que não seguem a sua opinião, nem tão pouco admittem a possibilidade da existencia das substancias bactericidas no interior dos phagocytos. Para Kossel, a morte dos microorganismos no interior dos leucocytos podia ser em grande parte devida ao acido nucleico segregado pelo nucleo.

*
* *

Em opposição aos que defendem a theoria cellular, pensam os defensores da theoria humoral que os humores possuem ou adquirem propriedades destructivas independentes da actividade cellular.

Nem todos os humores teem propriedade bactericida apreciavel; a sua acção impeditiva em presença dos microbios, resume-se muitas vezes n'uma acção puramente mechanica que basta n'alguns casos para privar o microbio da sua actividade pathogenica. Estão n'este caso as secreções glandulares, retenções aquosas, salinas, calcificações de tecidos, etc.

Alem da acção bactericida, os differentes humores podem ter ainda uma acção impeditiva exercendo-se nas funcções dos microbios cuja actividade embaraçam. Debaixo d'esta acção, póde o microbio perder a sua faculdade chromogenia, a mobilidade, etc. Esta acção impeditiva dos humores, e particularmente do sangue, é sensivelmente attenuada pelo aquecimento ou pela diluição.

A virulencia do microbio é muitas vezes tambem diminuida pelas culturas em soros de animaes refractarios ou immunisados artificialmente. Mas se por este meio podemos attenuar certos microbios (streptococcus, pneumococcus, etc.), já não acontece o mesmo para outros, como demonstrou Metchnikoff, Sanarelli, etc.

Ao passo que alguns humores teem uma acção exclusivamente impeditiva para certas bacterias, outros ha que sobre ellas exercem uma acção verdadeiramente bactericida. Esta acção bactericida dos humores póde ser *natural* ou *adquirida*.

Da *acção bactericida natural*, ainda que reconhecida nos soros de alguns animaes, não se sabe comtudo qual a relação que existe entre ella e a immunidade.

A *acção bactericida adquirida* para um microbio, póde apparecer ou exaltar-se depois de inoculações d'esse microbio ou dos seus productos em um determinado animal; mas nem sempre assim acontece, como se verifica com animaes immunisados contra a bacteridia carbunculosa, cujo sôro é desprovido de propriedade bactericida em presença d'este microbio.

Depois de variadissimas experiencias, Bordet admittiu que as substancias bactericidas são constituìdas por dois elementos completamente independentes, que só actuam quando reunidos.

Um dos elementos é especifico, só existe nos animaes immunisados e actua exclusivamente sobre o microbio para o qual se praticou a immunisação; resiste ao calor e não tem acção par si só.

É a *sensibilisadora* de Bordet, o *fixador* de Metchnikoff ou *amboceptor* de Ehrlich.

O segundo elemento existente nos soros, quer normaes, quer provenientes de animaes immunisa-

dos, é a *alexina* de Buchner ou *complemento* de Ehrlich, facilmente destruido a 58°.

São portanto soros activos, os provenientes de animaes immunisados, nos quaes se encontram a *sensibilisadora* e a *alexina;* são pelo contrario inactivos, todos aquelles em que existe um só dos elementos: estão n'este caso o sôro normal, e o proveniente de animaes immunisados, quando o tenhamos aquecido a 58°.

Segundo Ehrlich e os que seguem a sua theoria, as substancias bactericidas humoraes são constituidas pela associação de uma substancia *(amboceptor)* que, sem deteriorar os microbios, os prepara para soffrerem a acção da substancia bactericida *(complemento)*.

São bastante divergentes as opiniões dos varios sabios, sob o ponto de vista da composição chimica das alexinas. Sabemos entretanto que são corpos muito visinhos dos albuminoides, resistentes ao frio, emquanto que basta uma temperatura de 56 a 60° para os destruir. Se, para Buchner, as alexinas são productos de secreção dos leucocytos, para Metchnikoff são apenas um producto que só é posto em liberdade depois da sua morte.

Alem d'estes anticorpos, ha muitos outros (opsoninas, agglutininas, bacteriolysinas, etc.) que, embora de modos differentes, bastante favorecem o processo da phagocytose, mas que não podemos aqui tratar, apesar do seu alto valor.

Theoria de Ehrlich

Foi de certo inspirado pela analogia que existe entre os phenomenos de assimilação das materias nutritivas, os phenomenos da immunidade e a lei estabelecida por Weigert, que Ehrlich enunciou a sua theoria, tão pertinazmente defendida pelos que seguem a sua escola, a que consagrou toda a sua attenção admirando a superioridade dos humores na defeza do organismo.

Em opposição á theoria humoral, e com alicerces não menos solidos, levantou Metchnikoff a sua theoria, já hoje defendida (em parte) por Buchner, conciliador das duas escolas. Assim como as substancias nutritivas, para fazerem parte dos differentes tecidos, soffrem primeiramente varias alterações, tambem as substancias toxicas só depois de assimiladas por certas cellulas pertencentes aos varios

systemas (principalmente o systema nervoso), produzem os seus effeitos.

Ehrlich admitte no protoplasma cellular a existencia de varias molleculas, constituidas por um nucleo funccional e cadeias lateraes, ás quaes deu o nome de *receptores,* e nas toxinas um grupo *toxophoro* e outro *haptophoro.*

E' aos receptores que, do mesmo modo por que fixam e assimilam as varias substancias nutritivas, cumpre tambem fixar e assimilar as toxinas. O envenenamento de uma ou muitas cellulas, após a introducção de qualquer substancia toxica no organismo, só póde realisar-se, depois da fixação do grupo haptophoro ao receptor, sem o qual o grupo toxophoro permaneceria incapaz de comprometter a vida cellular.

Após a entrada da toxina no organismo, duas hypotheses podemos formular: ou as cellulas ficaram saturadas pelos toxophoros da toxina, ou não. No primeiro caso, ha a morte de varias cellulas, e, conforme o numero é maior ou menor, assim a vida do animal está mais ou menos compromettida. No segundo caso, as cellulas regeneram os seus elementos em excesso, pela mesma razão que o phenomeno se dá nos seres inferiores e no homem (lei de Weigert). Mas como se torne inutil a superabundancia, esta é lançada na corrente circulatoria e nos humores, onde se encontra apta para fixar e neutralisar nova quantidade de toxina que entre no organismo.

Sendo assim, os receptores livres ou antitoxinas deverão ter, como os que estão ligados ás cellulas, a propriedade de fixar e neutralisar pelo seu grupo haptophoro a toxina para a qual possuem affinidade especifica.

Assim como as toxinas provocam a producção de antitoxinas, tambem as bacterias provocam a producção de outros anticorpos, como agglutininas, bacteriolysinas, etc.

Os *receptores*, segundo a classificação de Ehrlich, podem ser de *primeira, segunda* e *terceira ordem*,

Os primeiros, que são as mais simples cadeias lateraes, providos exclusivamente de um grupo haptophoro sobre o qual se fixa o grupo correspondente da toxina, existindo em liberdade no sangue constituem as antitoxinas.

Os segundos, alem do grupo haptophoro, possuem o grupo zymophoro, ao qual se deve a acção agglutinante ou precipitante.

Os terceiros, de constituição analoga aos segundos, distinguem-se d'elles pela presença de dois grupos haptophoros.

Precipitinas

As precipitinas bactericas descobertas por Krauss em 1897 encontram-se no sangue de todos os animaes immunisados, assim como as antitoxinas, bacteriolysinas, etc.

Mais tarde, os numerosos trabalhos de Bordet e Tschistovitch puzeram em evidencia que, alem d'estes anticorpos, outros havia com as mesmas propriedades e a que chamaram *albumino-precipitinas,* existentes nos soros de animaes previamente injectados com substancias albuminoides soluveis.

É ás primeiras que devemos a precipitação quando estabelecemos o contacto intimo de um sôro especifico com um caldo ou extracto que contenha elementos homologos.

A especificidade dos soros com a homologia dos

elementos é muito facilmente demonstrada, se misturarmos o mesmo sôro com um caldo proveniente de uma cultura heterologa. N'estas condições a precipitação não se dá, por falta de combinações entre as precipitinas do sôro especifico e a substancia precipitavel do caldo bacterico.

Não obstante ser até hoje desconhecida a verdadeira constituição chimica das precipitinas, bem como a dos outros anticorpos, podemos comtudo incluil-as na classe das pseudo-globulinas, e dizermos de uma maneira geral que são corpos muito instaveis, embora apresentem uma certa resistencia a temperaturas relativamente altas. Mas, desde que esta temperatura chegue a attingir 60 a 70° c. o seu poder precipitante é destruido, mantendo-se apenas a acção fixadora.

As precipitinas possuem, alem do agrupamento funccional thermolabil, um agrupamento haptophoro mais resistente.

Quando se dá a destruição do seu grupo funccional, as precipitinas são transformadas em *precipitinoides,* os quaes teem uma afinidade especial para a substancia precipitavel. Muitas vezes acontece que em virtude d'esta acção ou da facil dissociação, as experiencias, que até então eram animadoras, passam a dar resultados tão differentes que nos impedem quasi por completo de chegar a uma conclusão racional.

Em todo o caso podemos em parte obviar este inconveniente muitissimo deploravel, pela addição

de chloroformio ou phenol ao sôro, preservando-o ao mesmo tempo do calôr e da luz.

Desde então, o sôro que em condições normaes não poderia ir alem de algumas semanas, sem que se alterassem os seus componentes, continúa agora mantendo as suas propriedades primitivas, tão importantes sob o ponto de vista da medicina legal.

O seu incontestavel valôr pratico data de 1897, quando Tschistovitch deu á luz da publicidade o resultado obtido com o sôro de um coelho, ao qual havia injectado sangue de cavallo, e que ao contacto d'este mesmo formava um precipitado. Como tal assumpto se prestasse a duvidas de momento, foram repetidas as experiencias por Bordet, Wassermann, Schütz e Uhlenhuth que, alem da confirmação do exito obtido anteriormente, tambem affirmaram a possibilidade e a subida vantagem da differenciação das varias albuminas pela reacção das precipitinas.

E' usando este processo que muitas vezes se consegue desvendar crimes que permaneceriam encobertos á sombra de uma mancha de sangue existente n'um estôfo ou vestido. Para isso basta-nos dissolver o sangue n'uma solução de chloreto de sodio a 0,85 %, filtrar o liquido e addicionar-lhe a quantidade de sôro necessario (sôro de coelho precipitante para o sangue do homem). Se passado algum tempo não apparecer precipitado, podemos deduzir que não se tratava de sangue pertencente á especie humana. Se o clinico ou encarregado da ex-

periencia tiver á sua mão soros precipitantes de varios animaes, poderá, pelo seu emprego successivo, fechar o seu trabalho pela determinação da especie animal a que pertencia o sangue accidentalmente encontrado.

Conhecido por consequencia o merito das albumino-precitinas, facilmente se deprehende a sua importancia pratica, em pesquizar nas carnes fumadas as innumeras falsificações por meio de outras mais ordinarias e portanto de menor preço.

N'este caso, resume-se o processo ao emprego dos soros de varios animaes previamente immunisados, para que n'um determinado chouriço (por exemplo) de que se suspeite, se possa dizer se, alem da carne de porco, existe carne de cavallo, boi, cão, etc. Embora a especificidade das precipitinas não seja absoluta para cada albumina, entretanto sabemos que um sôro de carneiro só póde formar precipitado com as albuminas de um outro carneiro ou cabra e nunca com as de especies muito afastadas.

E' baseando-se n'isto que todos os auctores são unanimes em recommendar a immunisação em especies animaes differentes d'aquellas que hão-de fornecer-nos os extractos destinados ás experiencias. Mas, se quizermos ser rigorosos em precisar uma determinada reacção, bem o podemos fazer, servindo-nos de soros cuja actividade seja conhecida e cujo poder especifico tenha sido determinado rigorosamente para as diversas albuminas.

*
* *

Emquanto á origem das precipitinas, teem sido varios os sabios experimentadores que se dedicaram a este assumpto e, como tal, são muitas as opiniões.

Assim, das experiencias de Pfeiffer e Max, Wassermann e Levaditi, deduz-se que são os orgãos lymphoides (baço, ganglios e medulla ossea) que representam o logar de formação dos anticorpos bacteriolyticos, orgãos estes que Metchnikoff, e mais tar-Tarassevitche, reputaram tambem formadores de anticorpos cytolyticos, e em particular de hemolysinas, que parecem ter nascença, sobretudo, nos orgãos ricos em macrophagos (baço, ganglios e epiplon), como lhes permittem assegurar os resultados dos seus trabalhos.

Dungern, estudando a formação das precipitinas especificas nos coelhos, conclue que é aos elementos figurados do sangue que se póde attribuir esta propriedade, com o que Krauss e Levaditi não concordam, dizendo estes serem os leucocytos que têem aquella propriedade, como lhes pareceu demonstrado depois do exame do epiplon do coelho que recebeu na cavidade peritoneal uma injecção de sôro de cavallo, e que forneceu um extracto precipitante para o antigeno, n'um momento em que o sangue não continha ainda precipitinas. Krauss e

Schiffmann, estendendo estas pesquizas aos orgãos lymphoides, nunca os seus extractos se mostraram com propriedade alguma precipitante, o que os fez admittir que «a génese das precipitinas se opéra no systema vascular», provavelmente nos endothelios.

Não estando ainda d'accordo os diferentes experimentadores sobre este assumpto, limitamo nos apenas a registar as suas opiniões tão controversas, cuja apreciação nos não compete fazer.

Diagnostico com a precipitina

A precipitina do mal rubro, já observada por Vanney, foi preparada por Ascoli, immunisando varios animaes de especies differentes.

Reconhecendo o mesmo auctor que o precipitogenio do mal rubro é thermostavel, isto é, corresponde a uma das condições *sine qua non* para que a reacção tenha logar, experimentou o poder precipitante dos sôros obtidos, sobre extractos fervidos de varios microorganismos (mal rubro, carbunculo hematico, septicemia, adenites, etc.), e a reacção da thermoprecipitina praticada com o sôro precipitante do mal rubro resultou especifica.

O mesmo professor nos seus ensaios fazia repousar, durante meia hora, os sôros precipitantes do mal rubro em contacto com os extractos suspeitos

e de contraprova, ficando positivos os do primeiro caso, emquanto que se mantinham negativos os segundos.

As experiencias foram praticadas sobre o rato, coelho, pombo e porco. As provas sobre o rato não foram concludentes por não ser possivel obter uma quantidade sufficiente de extracto para que pudesse instituir todas as provas exigidas. O coelho deu resultados bastante persuasivos, mas como lhe surgisse certa difficuldade de affirmar o diagnostico microscopico, obrigou o a praticar a maior parte dos seus trabalhos em pombos experimentalmente infectados.

Com os extractos obtidos d'estes animaes, a reacção zonal foi sempre caracteristica e proporcional ao conteudo microbiano, empregando quer o coração, quer os rins ou os musculos. Sobre os orgãos, (coração, rins e baço), provenientes de porcos naturalmente infectados com o mal rubro, sempre a reacção foi positiva, não só pouco depois da morte dos animaes, em que não havia decomposição, mas tambem depois de putrefactos ; emquanto que as provas de comparação com os orgãos normaes dos porcos e sobre o baço carbunculoso dos bovideos resultaram negativas.

Soros precipitantes

Foi só depois dos trabalhos de Nocard, Waillard e Roux, que a technica da preparação dos soros se tornou mais favoravel aos usos clinicos.

São geralmente os cavallos e burros os animaes que mais se prestam a esta operação, não só pela quantidade de sôro que fornecem de cada vez, como tambem pela sua extrema resistencia e docilidade e porque os soros são menos toxicos.

O animal destinado a produzir o sôro deve ser são, vigoroso e manso, preferindo-se de quatro a sete annos de idade.

Os animaes escolhidos pelo professor Ascoli para as pesquizas sobre o poder precipitante dos sor os,na diagnose do carbunculo, foram, alem dos animaes de laboratorio, cavallos, bois, burros e ove-

lhas, que immunisou por injecções intravenosas e subcutaneas, utilisando doses differentes de cultura.

Para obter os soros sufficientemente activos, isto é, providos de um intenso poder precipitante para o protoplasma do bacillo productor do mal rubro, Ascoli preparou uma ovelha e treze cavallos, os quaes forneceram soros que precipitavam em diversos graus, mas de uma maneira evidente, como teve occasião de verificar durante as suas experiencias.

No decorrer dos seus ensaios, em que empregava o sôro d'estes animaes, manifestou-se o poder precipitante com intensidade tão variavel que o inhibiu de assegurar a superioridade, quer do modo de immunisação, quer da dose de cultura a empregar. Como não sabemos as doses minimas nem maximas, empregadas pelo professor Ascoli no decorrer do processo de immunisação, somos levados entretanto a deduzir que não só são variaveis com a receptividade ou refractariedade do animal que tomamos, mas ainda com a virulencia da cultura empregada, estado de diluição, etc.

No seguimento das suas experiencias verificou Ascoli que, em um sôro sufficientemente activo sob o ponto de vista therapeutico, não havia producção de precipitina, e que esta só se encontra após a injecção de vaccina em dose relativamente superior áquella que se emprega para a obtenção do sôro therapeutico.

Foi assim que o mesmo professor teve occasião

de verificar, quer no cavallo quer no burro productores de sôro therapeutico, que, depois d'uma vaccinação em dose maior, houve rapidamente a producção das precipitinas, como consequencia da presença exaggerada de protoplasma introduzido e não da virulencia da cultura.

E tanto assim é, que, depois de immunisar a ovelha e o coelho com extractos concentrados de culturas de carbunculo em *agar*, previamente filtradas pela véla de Chamberland e ficando negativas as provas cultural e experimental, a producção das precipitinas foi evidente nos sôros provenientes d'esses animaes.

Desde então preferiu Ascoli, durante o processo de immunisação, o emprego, embora moroso mas pratico, das inoculações de culturas não virulentas, e repetidas em doses successivamente crescentes, ao emprego das culturas virulentas que não raras vezes conduzem a resultados funestos, provenientes da grande receptividade individual para uns determinados agentes microbianos.

Technica da thermo-precipitação

Apparelho de diagnostico

Parece-nos desnecessario indicar aqui o material primitivo de Ascoli e Valente, destinado ao diagnostico do carbunculo bacteridio e que bem podia servir-nos para diagnosticar o mal rubro, depois de haver sido simplificado e preferido pelo primeiro dos auctores.

A simplicidade do *diagnosticador (Thermo-præcipitin diagnosticum* ou *thermodiagnosticum),* tem por fim tornar a reacção precipitante accessivel ao veterinario, mesmo quando este se encontre no campo, onde por via de regra faltam em absoluto os mais rudimentares utensilios laboratoriaes.

Sendo este o fim do diagnosticador, contem elle necessariamente todo o material apropriado para obter o extracto filtrado e estabelecer o seu con-

tacto com o sôro, reunidos em um pequeno volume.

O unico elemento susceptivel de variar é o sôro, que será um sôro precipitante para o carbunculo, quando se trate de fazer o diagnostico do carbunculo bacteridio, ou o sôro precipitante para o mal rubro, quando se procure esta ultima doença. Este estôjo comprehende:

a) Uma provêta cylindrica com pé, medindo sete centimetros de comprimento por sete millimetros de largo, provida de um funil com filtro de amianto, que termina por um tubo adelgaçado, recurvado e cortado em bico de flauta ou bisél, para poder contactar com a parede interna da provêta e facilitar a estractificação lenta sobre o sôro.

b) Pipêtas alongadas e fechadas á lampada nas duas extremidades, nas quaes existe o sôro destinado á reacção. Devemos conserval-as em posição vertical, para que os precipitados que accidentalmente se formem, se depositem na extremidade inferior.

c) Um tubo de ensaio provido de um bico para auxiliar o escoamento, destinado a ferver um fragmento do orgão sobre o qual se quer fazer recahir o ensaio.

d) Um pequeno tubo com pastilhas de sal marinho.

E' conveniente que dentro do estôjo haja espaço para uma pinça ou lima com que possamos abrir as pipêtas, e para uma reserva de algodão e de amianto destinado ao renovamento dos filtros.

*
* *

A technica resume-se no seguinte :

a) Quebram-se com a lima as duas extremidades da pipêta que contém o sôro, que se introduz na provêta, á qual se adapta em seguida o funil com amianto ou algodão.

b) Lança-se uma pastilha de sal marinho no tubo de ensaio em que se deitou agua até meio e aquece-se levemente.

c) Depois de ter ajuntado no mesmo tubo alguns grammas da substancia a analysar, faz-se ferver a solução salgada approximando o tubo de qualquer lampada, ou mergulhando-o durante alguns minutos em qualquer recipiente que contenha agua a ferver ; tira-se em seguida o tubo do banho-maria e deixa-se arrefecer, podendo abreviar-se o resfriamento por meio de um jacto de agua fria.

d) Deita-se no funil do apparelho o extracto assim obtido, e, pegando na provêta com a mão direita, examina-se a superficie de separação dos dois liquidos, para o que se faz anteparo com o braço esquerdo.

Se o material em exame provém d'um animal victimado pelo mal rubro, devemos vêr no limite de separação dos dois liquidos o annel caracteristico da reacção zonal.

Reacção de Ascoli

Thermo-precipitina

A thermo-estabilidade do precipitogeneo do mal rubro e a simplicidade do material exigido pela operação, permittem-nos diagnosticar a doença, mesmo que estejamos afastados dos centros em que existem os laboratorios, quer a substancia suspeita esteja fresca ou em decomposição.

Devemos dizer que durante as nossas experiencias nunca empregámos o diagnosticador d'Ascoli, mas um material preparado *ad hoc,* que satisfazia a todos os requisitos da operação, embora pouco apresentavel. Resumia-se o nosso improvisado material em quatro tubos de ensaio medindo cada um sete millimetros de largura aproximadamente (que substituiam a provêta), tres pequenos funis pouco mais ou menos iguaes ao do diagnosticador, um

tubo d'ensaio vulgar (em que lançavamos a substancia organica), um frasco com sôro physiologico e um pouco de algodão e amianto. Não indicamos aqui a maneira como procediamos ás nossas experiencias, porque seria repetir o que dissemos quando descrevemos a technica recommendada pelo professor Ascoli.

Seguindo as suas regras, ensaiou o dr. Pio Silva os soros precipitantes para o mal rubro, empregando orgãos frescos e em via de putrefacção, pertencentes a suinos affectados de mal rubro. Os soros foram ainda ensaiados sobre orgãos de suinos que succumbiram a pneumo-enterite infecciosa, com um baço de bovino carbunculoso e sobre orgãos de animaes sãos. Estes soros eram provenientes d'uma ovelha e de dois cavallos, e as pesquizas foram praticadas com extractos em concentração de 1 : 15, 1 : 30, 1 : 50. Das suas experiencias, tirou o dr. Pio as seguintes conclusões:

a) O sôro Ascoli para o mal rubro é dotado de acção precipitante especifica.

b) Este sôro dá a reacção zonal ainda com extractos obtidos de material em via de decomposição, isto é, é capaz de fixar-se ainda com os productos da dissolução do *bacillus rusiopathiæ suis.*

Durante as suas pesquizas observou ainda o seguinte:

1º. O sôro de ovelha é o mais fraco, o n.º 7 é bom e o n.º 5 o mais activo.

2.º O grau de intensidade e a rapidez da reacção

precipitante, estão na razão directa da concentração do extracto e do poder precipitante do sôro usado.

Para mais facilmente interpretarmos as conclusões tiradas pelo dr. Pio Silva, ácerca da reacção d'Ascoli na diagnose do mal rubro, lembramo-nos de copiar os seus quadros que, pelos resultados obtidos durante as suas minuciosas investigações, tanto nos ajudam na nossa tarefa, occultando as muitas deficiencias, peculiares aos inexperientes.

		Orgãos usados e seu estado de conservação	Concentração dos extractos			Sôro Ascoli		
						5	7	S.O.
Suinos atacados com mal rubro	Suino I	Baço (estado fresco)	1:15	1:30	1:50	F P	F P	P
		Rim » »	»	»	»	F P	F P	P
		Coração » »	»	»	»	P	P	P
		Sangue » »	»	»	»	P	P	P P
	Suino II	Baço » »	»	»	»	F P	F P	F P
		Rim » »	»	»	»	F P	F P	P
		Coração » »	»	»	»	P	P	P P
		Sangue » »	»	»	»	P	P	P
	Suino III	Baço » »	»	»	»	F P	F P	F P
		Rim » »	»	»	»	F P	F P	F P
		Coração » «	»	»	»	P	P	P
		Sangue » »	»	»	»	P	P P	P P
	Suino I	Baço (putrefac. de 17 dias)	»	»	»	P	P	P P
		Rim » 17 »	»	»	»	P	P	P P

S.O. = Sôro d'ovelha. P P = Pouco positivo. P = Positivo. F P = Fortemente positivo.

Orgãos usados no estado fresco		Concentração dos extractos			Sôros Arcoli		
					5	7	S.O.
Baço ...	De suino são	1:15	1:30	1:50	N	N	N
Rim	»	»	»	»	N	N	N
Coração.	»	»	»	»	N	N	N
Sangue .	»	»	»	»	N	N	N
Baço....	»	»	»	»	N	N	N
Rim	»	»	»	»	N	N	N
Coração.	»	»	»	»	N	N	N
Sangue .	»	»	»	»	N	N	N
Baço	De suino affectado de pneumo-enterite infecciosa.	»	»	»	N	N	N
Rim	»	»	»	»	N	N	N
Coração.	»	»	»	»	N	N	N
Sangue .	»	»	»	»	N	N	N
Baço....	»	»	»	»	N	N	N
Rim	»	»	»	»	N	N	N
Coração,	»	»	»	»	N	N	N
Sangue .	»	»	»	»	N	N	N
Baço....	De bovino carbunculoso ..	»	»	»	N	N	N

S.O. = Sôro de ovelha. N = Negativo.

Infelizmente durante o nosso trabalho nunca o acaso permittiu ensaiarmos os soros precipitantes do mal rubro em orgãos provenientes de suinos atacados por este processo morbido, obrigando-nos a limitar as nossas experiencias n'um diminuto numero de animaes de laboratorio, servindo-nos de contraprova os que morriam no hospital da nossa Escola.

Tanto d'uns como d'outros, utilisamos varios orgãos para obter os extractos sobre os quaes recahia o exame.

A concentração dos extractos, quer dos animaes supeitos, quer dos de contraprova, foi geralmente de 1 : 5, independentemente do estado de conservação do orgão a examinar. Não foi exclusivamente sob este titulo de diluição dos extractos que experimentámos os soros precipitantes do mal rubro, mas tambem n'um rato branco a 1 : 10 e em tres pombos a 1 : 10, 1 : 20, 1 : 50 e 1 : 500.

Devemos dizer que um pombo em que fizemos os primeiros ensaios, 24 horas depois da morte, foi em seguida enterrado por um servente que o considerou abandonado, e, como tivessemos a certeza de que esta operação fôra accidental, deixámos permanecer alli o pombo por algum tempo, para depois repetirmos as experiencias que fizemos no primeiro dia. Seis dias depois desenterrou-se o animal, que já estava em decomposição bastante adeantada e preparámos extractos com o figado, coração e musculos peitoraes em concentração de 1 : 5.

Empregámos então alguns sôros que deram a re-

acção no primeiro dia, para assim avaliarmos o seu poder precipitante em presença do protoplasma microbiano contido nos orgãos putrefactos, e certificarmos se a reacção n'estas condições era tão facil de obter como com os orgãos ainda em perfeito estado de conservação.

Effectivamente a reacção foi caracteristica, e o unico embaraço que tivemos foi uma pequena turvação do filtrado que, a não se evitar, póde mascarar-nos o annel, tornando-o pouco apparente. Para assegurarmos d'uma maneira decisiva a existencia do annel caracteristico da *reacção zonal,* fizemos o seguinte: A substancia destinada a produzir o extracto foi primeiramente triturada n'um almofariz e addicionámos-lhe em seguida dez centimetros cubicos de chloroformio com o qual ficou em contacto durante cinco horas. Decorrido este tempo voltámos ao laboratorio para decantar o excesso, mas não o praticámos por se haver evaporado. N'este momento juntámos ao extracto cinco centimetros cubicos de soluto physiologico, agitámos durante alguns segundos e deixamos repousar durante duas horas. Voltámos novamente e filtrámos a mistura, que nos forneceu um liquido que, posto em contacto com o sôro, nos permittiu vêr mais claramente o annel caracteristico da *reacção.*

Mas, quando estivermos no campo e que não tenhamos o chloroformio necessario para proceder a esta operação, evitamos em grande parte a colora-

ção demasiada do liquido reforçando o algodão e amianto; tendo ao mesmo tempo o cuidado de apertar dentro do filtro estas duas substancias, podemos por esta fórma tão simples obter um filtrado que nos facilita extraordinariamente a experiencia, facultando-nos o fim que temos em vista.

Por este processo a filtração só se realisa passadas algumas horas, mas não ha duvida que o resultado é satisfatorio, como tivemos occasião de verificar durante os nossos trabalhos.

Eram geralmente os extractos provenientes de orgãos em decomposição que forneciam o filtrado mais corado, e foi sobre estes que experimentámos com bom exito o que ha pouco dissemos.

Como os animaes com que trabalhámos eram pequenos, e infectados experimentalmente, nunca tivemos occasião de os poder conservar por muito tempo, como era nosso desejo, visto que decorridos os primeiros oito dias após a morte já se encontravam em adiantada decomposição.

Em todo o caso, confrontando os resultados obtidos com os orgãos no estado fresco e com os mesmos depois de putrefactos, não nos parece grande o atrevimento se esperarmos a reacção positiva com extractos provenientes de animaes grandes, quinze ou vinte dias depois da sua morte, quer fiquem abandonados no campo, quer sejam enterrados.

Parece-nos que é isto que os nossos quadros mais ou menos indicam e nos auctorisam a deduzir, visto os phenomenos de putrefacção serem pre-

cisamente os mesmos, independentemente da corpolencia do animal.

O poder precipitante dos soros empregados no diagnostico do mal rubro foi sempre o mesmo, quer se empregassem os extractos frescos de animaes atacados por esta doença, quer depois de putrefactos.

Sobre a maior ou menor riqueza em precipitinas nos differentes orgãos, nada podemos dizer com segurança, attendendo ao resumido numero de experiencias feitas, o que foi devido não só ás reparações em que estava o nosso laboratorio, que nos impediram muitos dias de trabalhar, mas tambem á ausencia de animaes naturalmente infectados.

Para nos ser permittido assegurar a especificidade dos soros precipitantes para o mal rubro, ensaiámos estes com os extractos dos orgãos sãos e de animaes mortos por varias doenças (tuberculose, carbunculo, diphteria, Kala-azar, etc.), sendo os resultados sempre negativos, como indicam os nossos quadros, que não são mais que o resumo das experiencias que fizemos.

Animaes	Substancia empregada	Sôro d'Arcoli			Microscopio	Culturas	Diagnosticos	Dias decorridos da morte ao exame.	Observações
		2	3	6					
Porco.....	Baço	—	.	—	.	.	Pneumonia contagiosa	3	
»	Coração.....	—	.	—	.	.	»	2	
Pombo.....	»	+	.	++	+	+	Mal rubro..	1	
»	Figado.....	+	.	++	+	+	»	1	
»	»	.	.	+	.	.	»	6	Em putrefacção
»	Coração.....	.	.	+	+	+	»	6	
»	Musculo peitoral	.		±	.	.	»	6	
»	Rins.....	.	.	++	.	.	»	6	
Vacca.....	Baço	—	.	—	+	+	Carbunculo.	2	Positivo com o sôro precipitante para o carbunculo
Boi.....	»	.	—	.	.	.	Tuberculose	4	
»	Ganglios.....	.	—	—	+	.	»	4	
Cabra	Baço.....	.	—	—	—	—	Carbunculo.	3	Positivo com o sôro precipitante para o carbunculo
Rato branco	Coração e figado	+	++	*+	+	+	Mal rubro..	2	Concentração do extracto 1 : 10
Cabra.....	Baço.....	.	—	.	—	—	Carbunculo.	3	Positivo com o sôro precipitante para o carbunculo
Pombo.....	Figado.....	++	**++	++	+	+	Mal rubro..	3	Concentração do extracto 1 : 20.

*+ = Fracamente positivo. **++ = Francamente positivo com pouca duração. + = Positivo
++ = Francamente positivo. ± = Incerto. — = Negativo.

Animoes	Substancia empregada	Sôros d'Areeli			Microscopio	Culturas	Diagnostico	Dias decorridos du morte ao exame	Observações
		2	3	6					
Pombo.....	Coração	++	+	+	—	.	Mal rubro..	4	Concentração dos extractos 1 : 20.
»	Musculo peitoral	++	+	+	+	+	»	4	
»	Coração.....	+	* +	+	+	+	Mal rubro..	8	Em putrefacção
»	Figado	+	* +	+	+	+	»	8	Concentração dos extractos 1 : 10
»	Musculo peitoral	* +	* +	+	+	+	»	9	
Porco.....	Baço	—	—	—	±	—	.	3	Pelo exame microscopico e inoculações reconheceu-se que não era mal rubro nem pneumonia contagiosa.
»	»	—	—	—	±	—	.	4	
Rato branco	Figado e coração	—	.	—	.	.	.	3	
»	Rins, baço, figado	—	.	—	.	.	Scpticencia.	3	
Pombo.....	Figado	.	—	—	+	.	Diphteria..	2	
Porco.....	Baço	—	.	—	—	—	.	5	Verificou-se que não era mal rubro nem pneumonia contagiosa.
»	Figado	—	.	—	.	.	.	5	
Cão	Baço	—	.	—	+	.	Kala-azar..	2	
Pombo.....	Rins.....	—	.	—	+	.	Diphteria..	3	
»	Pulmão.....	—	.	—	+	.	»	3	

* + = Fracamente positivo. ** ++ = Francamente positivo com pouca duração. + = Positivo.
++ = Francamente positivo. ± = Incerto. — = Negativo

Animaes	Substancia empregada	Sôro d'Arcoli			Microscopio	Culturas	Diagnosticos	Dias decorridos da morte ao exame.	Observações
		2	3	6					
Vitella.....	Tecido muscular	—	—	—	.	.	Sã	1	
Carneiro...	Baço	—	—	—	.	.	São	1	
»	Figado.....	—	—	.	.	.	»	1	
Cabra	Sangue.....	—	—	—	.	.	Sã	1	
Pombo.....	»	.	.	.	+	+	Mal rubro..	1	
»	Baço	++	+	+	+	+	»	1	Concentração dos extractos 1 : 5.
»	Coração.....	+	+	.	+	+	»	2	
»	Musculo peitoral	++	.	.	+	+	»	3	
»	Figado.....	±	±	.	+	+	»	3	
»	Coração.....	+	.	.	+	+	»	3	Concentração dos extractos 1 : 50,
»	Musculo peitoral	+	.	.	+	+	»	3	
»	»	.	*+	.	+	+	»	3	
»	»	—	.	.	+	+	»	3	Concentração doo extractos 1 : 500.

*+ = Fracamente positivo. *++ = Francamente positivo com pouca duração. + = Positivo.
++ = Francamente positivo. ± = Incerto. — = Negativo.

Conclusões

I

Os soros precipitantes para o mal rubro são especificos.

II

O apparecimento da reacção zonal é independente do estado de conservação dos orgãos.

III

A intensidade e rapidez da reacção é proporcional ao titulo de concentração dos extractos.

IV

O diagnostico do mal rubro pela *Reacção d'Ascoli* é incontestavelmente o mais simples e rapido de que hoje dispomos.