

Fixação de complemento na blastomicose.

pelo

DR. ARTHUR MOSES.

(Assistente interino).

Auxiliares preciosos da clinica, os metodos biologicos de diagnostico tem utilidade muito maior nas infeções, em que constituem o unico caminho que possui o laboratorio para elucidacão do diagnostico; não são, entretanto, poucas as vantagens que deles advem, quando, embora conhecido o causador da infeção, é difficil a pesquisa do germe, quer pela tecnica exigida, quer pelo fato de não ser o germe acessivel ao pesquisador em algum dos estadios da molestia, como acontece na sífilis.

Mesmo nos casos, que escapam ás condições mencionadas, são sempre necessarios, como instrumento complementar de propeudeutica.

Datam os primeiros estudos de imunidade nas infeções determinadas por levedos e cogumelos, de 1884, quando METSCHNIKOFF se occupou da defesa da daphnia contra a *monospora bicuspidata*. São muito mais recentes os estudos de RIBBERT, CHARRIN, OSTROWSKY e ROGER e somente depois das pesquisas de WIDAL e ABRAMI, que examinaram doentes diversos, acometidos de afeções micosicas, reconhecendo que o soro adquire propriedades analogas ás determinadas pelas infeções bacterianas, é que se lançaram as bases do soro-

diagnostico nas infeções causadas por cogumelos.

A ação aglutinante do soro de animais inoculados com *oidium albicans* e a presença de aglutininas e anticorpos fixadores de complemento no soro de esporotricoticos, são fatos verificados e aceitos.

Nos ensaios de fixação de complemento na esporotricose, WIDAL e ABRAMI empregaram a seguinte tecnica: A 0,5cc de emulsão de esporotrico adicionavam 1cc de soro de paciente, 0,2cc de soro de cobaia, diluido com igual volume de solução fisiologica e finalmente 1/2cc de solução fisiologica, mantendo os tubos em banho maria na temperatura de 37 grãos durante 4 horas, para depois acrescentar 0,3 de soro hemolitico e 0,1 de globulos lavados em suspensão em 0,5 de solução salina a 0,6%.

Conseguiram assim resultados positivos de fixação de complemento mesmo nos casos, em que era negativa a aglutinação.

Embora facil a pesquisa do esporotrico, tem vantagem pratica estes ensaios nos casos atipicos e para o diagnostico retrospectivo, quando o paciente apresenta cicatrizes esporotricoticas.

Em 1902 MALVOZ se lembrou de ensaiar a reação de Bordet na blastomicose e

mais tarde, RICKETTS, fazendo estudos sobre esta infecção, pesquisou em cobaias inoculadas, precipitinas e anticorpos de Bordet.

Para isto empregou culturas de 3 anos, em agar glicosado a 1%, caldo glicosado a 1%, agar ácido e caldo ácido a 1%. Além deste material empregou ainda um extrato de oidiomiceto, usando de cultura de três semanas a um mez, que depois de retirada do meio de cultura era levada ao secador. Pesado o material seco, agitava com igual volume de areia esterilizada e com bolas de porcelana, para depois preparar emulsão com 10cc de solução salina a 0,85%.

Aos poucos adicionava solução salina até completar o volume de 50cc, centrifugava e retirava o líquido que era conservado em vidro esterilizado e de novo agitava o sedimento com outra solução salina até que não existisse célula que não estivesse destruída. Nesta ocasião emulsionada cada grama de germe morto em 100 cc de veículo, garantida a esterilidade do produto, que é amarelado e opalescente, com 0,5 % de ácido fenico e 0,3% de cloroformio, estava preparado o antígeno.

As pesquisas de aglutininas, substâncias liticas, e anticorpos fixadores de complemento resultaram sempre negativas mesmo em cobaias de recente imunização.

Na pesquisa de precipitinas verificou, após 24 a 96 horas de permanência na geladeira, dos tubos, que passaram antes 2 horas na estufa a 37 graus, resultados, que considerou positivos, porque os testemunhas continuavam claros. Encontrou o maior número de resultados positivos entre os animais inoculados exclusivamente com extrato, sendo raro, este resultado nos inoculados unicamente com germe. Estes resultados são entretanto prejudicados por um ensaio positivo verificado em 96 horas com soro de cobaia normal diluído a 1/10.

Nos ensaios de fixação de complemento RICKETTS empregou 0,1 de emulsão de oidiomiceto, moderadamente turva, 0,1 de extrato recente ou 0,15 cc de precipitado

alcoólico de extrato, depois diluído com solução fisiológica.

Para ilustração própria, fizemos verificações de aglutinação e de fixação de complemento com soro de cães e coelhos, inoculados no laboratório com diversos escantilhões de esporotrico, com blastomyces e outros cogumelos e de que talvez falaremos em outra publicação mais detalhada; pois o que nos leva a publicar o presente artigo é a série de resultados positivos em ensaios de fixação de complemento em diversos doentes, em que a pesquisa clínica e o exame microscópico firmaram o diagnóstico de blastomicose.

Não são simples verificações, e sim, os primeiros resultados neste sentido publicados em casos de infecção humana e, por isto, não deixam de ter interesse e merecer rejisto.

Logo ao iniciar, e mais tarde, no correr dos trabalhos, preparamos quantidade suficiente de antígeno, que conservado na geladeira, permitiu nos realizar durante muito tempo as pesquisas e, se assim não procedessemos, veríamos tolhidos nossos esforços, porque perdemos a cultura, que nos prestou excelentes serviços e que foi isolado por GASPAR VIANNA de um doente que observou em companhia do Prof. MIGUEL PEREIRA. É verdade que, depois disto, recebemos do Dr. A. PEDROSO, de S. Paulo, escantilhões de blastomyces, por ele isolados, e que mantidos durante algum tempo no laboratório, tiveram igual aplicação em nossas pesquisas.

Aproveitamos a ocasião para agradecer a gentileza com que atendeu a nosso pedido.

Para preparo do extrato empregamos culturas bem desenvolvidas, que nunca eram de menos de seis mezes, em agar de Sabourad, contendo maltose umas, e glicose outras e, em geral esterilizado, trituramos longamente a cultura em suspensão em solução fisiológica a 0,85 %. Depois disto, agitamos a emulsão com bolas de porcelana em vidro esterilizado durante 24 horas e em seguida filtramos em papel Chardin e, às vezes, em vela Berkefeld, adicionando ao filtrado 0,5 % de ácido fenico. Para preparo da emulsão empregamos a mesma técnica quanto á trituração, excluimos a agitação e filtramos em algo-

dão, diluindo a emulsão até que não exercesse ação impediante sobre o poder complementar do soro de cobaia.

Refere se o presente trabalho a 10 observações, estudadas nos anos de 1912, 1913, 1914 e 1915. Destes morreram 7: dois tiveram alta melhorados após tratamento por injeções intravenosas de iodeto de sódio e um teve desfecho ignorado.

9 dos observandos estiveram hospitalizados na enfermaria do Prof. TERRA, a cuja gentileza devemos a liberdade com que colhemos material de estudo em seu serviço clínico e o decimo era doente da enfermaria do, Prof. MIGUEL PEREIRA a cuja benevolencia e interesse científico devemos a permissão que mais de uma vez merecemos para acompanhar doentes de seu serviço.

Em 8 dos doentes foi positiva a reação e nos outros dois negativa, mesmo quando elevada a quantidade de soro empregada. A substituição do antígeno blastomicético ou do soro do paciente por antígeno esporotricótico e soro de individuo normal ou tuberculoso dava sempre lugar a resultado negativo.

A quantidade de emulsão ou de extrato empregada dependia de ensaio previo para

evitar a ação impediadora dos mesmos: a quantidade de soro variava de 0,1 a 1 cc: 0,1 de soro de cobaia era quantidade fixa. Após 2 horas de incubação adicionavamos soro hemolítico de acordo com o título do mesmo e 0,5 de suspensão de globulos a 5%.

Nestas condições podemos asseverar que em doentes de blastomicose com diagnóstico confirmado pelo exame microscópico foram positivos os resultados de fixação de complemento, quando o antígeno empregado era emulsão ou extrato de blastomiceto. Não podemos garantir a rigorosa especificidade da reação; para isto precisaríamos trabalhar com diversos cogumelos, que pela classificação se aproximassem dos blastomyces; podemos, no entanto, assegurar que constitue mais um meio a nosso alcance para confirmar ou elucidar o diagnóstico de blastomicose, quando, por qualquer motivo, este se tornar difícil.

Antes de terminar queremos assinalar que foram negativas todas as pesquisas de precipitinas no soro dos doentes com blastomicose.

Manguinhos, 3 de Fevereiro de 1916.