

frequencia destes *traumas*, foram registados em creanças entre 6 a 12 annos. E' o periodo escolar da vida infantil, da movimentação e do psychismo mais intensos, que consideramos assim pois, periodo perigoso para as creanças.

Poucos, foram os casos de *fracturas sub-periosticas* e sómente observados, os da clavicula e as dos ossos do ante-braços e nenhum caso de *fracturas obstetricas*, isto é, da clavicula, do humero e do femur.

Concluindo estas reflexões, cumpre-nos declarar que, jamais deixamos de empregar o soro anti-tetanico, como medida preventiva indispensavel e livre de accidente de maior vulto, attenta á gravidade da infecção tetanica nos traumatismos, em que seja justificado o emprego deste soro.

Junho de 1923.

O soro diagnóstico do mal de cadeiras

pelo prof. Dr. Schmidt e Lotte Schmidt

A medicina moderna esforça-se cada vez mais para completar ou até substituir o exame directo do paciente pelos methodos aperfeiçoados de exames de laboratorio. Existem varias molestias, principalmente de evolução lenta, que escapam ao exame minucioso do clinico, mas que são facilmente diagnosticadas por reacções biologicas ou outros methodos de laboratorio. Entre os methodos diagnosticos mais empregados temos as reacções do soro sanguineo. E' sabido o valor da reacção de Wassermann no combate da syphilis, da reacção de Widal no do typho e da reacção de Ascoli na prophylasia do carbunculo verdadeiro. A melhor prova do valor dos methodos sórodiagnosticos para a medicina veterinaria foi indiscutivelmente o resultado do combate do mormo nos equideos do exercito allemão durante a conflagração. O sórodiagnostico e as devidas medidas sanitarias livraram o exercito de cavallos infectados (6).

Era de suppôr, que applicando os mesmos methodos no combate de outras molestias infecciosas, principalmente nas de marcha chronica e de symptomas pouco caracteristicos, os resultados seriam igualmente satisfactorios. O mesmo se dá com uma serie de molestias causadas por trypanosomas, das quaes a melhor estudada é indubitavelmente a dourina ou mal de coito (*Tryp. equiperdum*). Aparece em geral sob a forma chronica, que torna difficil e até impossivel o diagnostico. Nesta forma latente a molestia pode continuar por mezes e as exacerbações occasionaes escapam ao proprietario leigo, o que torna immenso o perigo de contaminação nos centros de criação.

Os methodos sórodiagnosticos empregados nadourine dividem-se em 4 grupos: a agglomeração, a agglutinação, a precipitação e o desvio do complemento com as suas varias modificações.

A agglomeração está baseada na constatação de Laveran & Mesnil (1900), que os trypanosomas vivos se agglomeram no preparado fresco si se ajuntar um pouco do soro dum animal atacado ou curado duma trypanosomiase. Hoje o processo é pouco usado.

A agglutinação segundo Lange (3) com trypanosomas em suspensões puras fornece resultados maximé nos methodos aperfeiçoados de Winkler & Wysschelesky, de Rupert e de Offermann.

A precipitação de Mayer (1905) na sua modificação de Winkler & Wysschelesky e de Dahmen, ambos superpondo os liquidos em questão (prova zonal), é muito simples e segura.

Mas o methodo preferido pela certeza dos resultados, apesar do processo um pouco mais complicado é o do desvio do complemento e as suas modificações. Foi empregado primeiramente no diagnostico do mal de coito por Landsfeiner, Mueller & Pötzl (2). Os resultados satisfactorios foram plenamente comprovados pelos autores dos diversos paizes. Melhorou ainda o valor do methodo quando se abandonou os antigenos em forma de extractos de varios órgãos e adaptou-se um antigeno preparado de trypanosomas puros. Mehler, Eichhorn & Buck (5) e egualmente Watson empregaram o methodo com bom exito no combate em grande escala contra a dourine na America do Norte. Das recentes epizootias de dourine na Allemanha são conhecidos os varios trabalhos sórologicos de Zwick, de Miessner, de Dahmen (1) etc.

O diagnostico do Mal de Cadeiras até hoje foi de pouco valor. O preço baixo dos equideos nos centros de criação não justificava a applicação de exames relativamente dispendiosos, segundo o diagnostico certo da molestia não adeantou nada em respeito sanitario, sendo desconhecido o modo de propagação, a questão dos "reservatorios do virus", os transmissores etc., factos esses em que se pode basear o combate sanitario contra a molestia. Mais ainda: a constatação precoce do Mal de Cadeiras, vantagem principal dos methodos sórologicos, foi desnecessaria, sendo a molestia incuravel até ha pouco. E' este ultimo facto que explica a absoluta falta de trabalhos sobre o sórodiagnostico do Mal de Cadeiras. Segundo o resultado favoravel dos estudos de Migone & Osma (4) no Paraguay e de Schmidt & Oliveira (7) no sul do Brasil sobre o valor therapeutico e prophylactico do remedio "Bayer 205" nos equideos naturalmente atacados do Mal de Cadeiras, está fóra de duvida que aquelle flagello da criação é curavel. Agora somos capazes de salvar quasi todos os animaes, constatados doentes com sufficiente antecedencia, pelo tratamento com "Bayer 205" e de sanear districtos infectados por applicação prophylactica do remedio.

E' sabido que o resultado dum tratamento depende em parte do estado da molestia. Quanto mais recente fôr a infecção, tanto mais facil se torna a cura. Trata-se então de fazer diagnosticos precoces sem aguardar o apparecimento de paralysisa, symptoma que torna a molestia de facil diagnostico porém de difficil cura. Tambem temos de excluir pelo diagnostico molestias com syptommas semelhantes mas de etiologia differente.

Foi o nosso proposito experimentar os methodos sórologicos convenientes para o nosso meio e applicaveis ao diagnostico do Mal de Cadeiras. Devido ás particularidades do meio foi de alta importancia para nós examinar sóros colhidos semanas antes do exame sórologico e além disso attender ás particularidades do soro de mula, cujo poder anticomplementar é conhecido (9). Todos os sóros experimentados provêm de animaes examinados e tratados no Instituto Borges de Medeiros.

O methodo mais proprio para exames em massa, como é necessario para a prophylaxia em grande escala, é o desvio do complemento. No decorrer dos nossos trabalhos verificamos tambem a longa conservação dos anticorpos especificos nos sóros positivos em questão, o que tornou este methodo mais apreciado ainda para nós. Empregamos o methodo de Schuetz & Schubert (8) em sua modificação de Dahmen (1).

1) **Antígeno.** Sangra-se um cão de 8 semanas, altamente infectado com *Trypanosoma equinum* numa solução de citrato de sodio a 2%. Pela centrifugação obtêm-se os trypanosomas puros. Collocam-se os trypanosomas num balão com agua physiologica. Agita-se esta suspensão por 48 horas. O liquido separado pela centrifugação dos trypanosomas é o extracto ou antígeno aquoso. Os trypanosomas são então extrahidos com alcool na temperatura do ambiente. O extracto sem trypanosomas é o antígeno alcoolico.

2) **Sôro hemolytico.** Como na reacção de Wassermann empregamos sôro de coelhos infectados repetidas vezes com erythrocytes de carneiro. O titulo desejado é geralmente de 4-6000.

3) **Complemento.** Sôro fresco de cobaya recém-obtido pela punção do coração. Emprega-se em diluição de 2-3%.

4) **Erythrocytes de carneiro,** 1,5% em agua physiologica.

5) **O sôro a examinar.** Obtemol-o pela punção da veia jugular, operação simples a executar com agulhas de diametro de mais de 1 mm. Para sangrias em massa, p. ex. da eriação duma grande fazenda ou dos animaes dum regimento de cavallaria precisam-se 3-4 agulhas por 100 animaes. A technica é a seguinte: collocam-se as agulhas successivamente numa bacia com agua fervida, que frequentemente deve ser mudada; em seguida em alcool de 50% e finalmente numa terceira bacia com agua fervida. sangue. Tiram-se 10-15 cm. de sangue, quantidade sufficiente para fornecer o sôro necessario. Depois da sangria deixa-se soagular o sangue, o que se dá $\frac{1}{2}$ hora depois. Então colloca-se o sangue coagulado num lugar fresco até o outro dia, para mandal-o para o laboratorio. Caso fôr necessario mandal-o pelo correio decanta-se o sôro puro num tubo menor, mixtura-se bem com glicerina pura (1:1) e bem acondicionado pode ser mandado. A glicerina mostrou-se nas nossas experiencias bom meio de conservação.

Naturalmente pode-se executar a sangria seguindo outra technica. Cortando um pequeno vaso superficial obtemos facilmente nos equideos a quantidade de sangue desejada. Recommendam-se principalmente as ramificações da arteria facial, que são bem visiveis.

O sangue é recolhido em tubos de ensaio previamente esterilizados. E' de importancia a designação segura dos tubos com numeros correspondentes aos de listas incluídas nas caixas de embalagem.

Por meio de exames systematicos não ha difficuldade em exterminar o mal nas zonas infectadas e em salvar os animaes atacados e ameaçados. Como provaram as experiencias feitas na grande guerra é possivel de sangrar 400 até 500 cavallos por dia.

TECHNICA DO DESVIO DO COMPLEMENTO

Como já dissemos empregamos o methodo de Schütz e Schubert (8) em sua modificação por Dahmen (1). As doses dos diversos materiaes são as seguintes: sôro a examinar 0,2 cm., complemento 1,0 cm. erythrocytes de carneiro e sôro hemolytico a 0,5 cm. O total então é de 3,7 cm.

Operámos exclusivamente com reagentes titulados. O mais importante d'elles é o antígeno. O extracto aquoso empregamos unicamente para a precipitação. A dosagem do extracto alcoolico faz-se da seguinte maneira: diluir o extracto com agua destillada (1 cm de extracto por 0,5 cm. agua destillada). Manter esta diluição em repouso por 1 hora. Continuar a diluição com agua physiologica até o

gráo desejado, que nos nossos extractos foi de 25-30%. Fazemos a dosagem das diversas diluições do antígeno com um sôro normal e um sôro positivo, tambem intercalamos uma estalão para ver si não ha substancias anticomplementares no extracto.

Tab. 1. Dosagem do antígeno no 12-9-23.

Controle do sôro (sem extracto)	Extracto alcoolico de				
	15%	20%	22%	25%	27%
Sôro normal	—	—	—	—	—
Sôro positivo	—	—	—	+	++
Estalão do extracto (sem sôro)	—	—	—	—	—

Nesta experiencia o titulo a empregar foi de 27%.

O complemento tambem empregamos dosado. Para a dosagem preparamos diluições de 1%, 2%, 3% e 4%. Destas diluições collocamos cada vez 1 ccm. num tubo que contem 0,5 ccm. de sôro hemolytico, 0,5 ccm. erythrocytes de carneiro a 1,5% e 1,7 ccm. de agua physiologica. Depois de manter os tubos por 15 minutos no banho-maria de 38°, julgamos o estado de hemolyse nos diversos tubos, o primeiro tubo com hemolyse completa nos indica o titulo a empregar.

Feita a dosagem dos reagentes, o proprio exame, isto é a reacção executa-se da maneira seguinte:

- Derramar em cada tubo 0,2 ccm. dos sôros a examinar e adicionar 0,5 ccm. de agua physiologica. Para testemunha derramar em outros tubos 0,2 ccm. de cada sôro em questão e mais 1,5 ccm. de agua physiologica (a 2.ª serie serve para provar si ha ou não ausencia de substancias anticomplementares nos sôros. Para inactivar os sôros mantemol-os por $\frac{3}{4}$ hora no banho-maria de 58° e dos sôros de mulas 2 tubos igualmente carregados num banho-maria de 62°.
- Depois da inactivação adicionamos 1 ccm. do antígeno e quantidade igual do complemento, ambos os reagentes em diluição previamente dosada. São mantidos os tubos no banho-maria de 38° por 15 minutos para fixação do complemento.
- Então adiciona-se 1 ccm. do systema hemolytico (0,5 ccm. de sôro coelho-anti-carneiro e 0,5 ccm. globulos de carneiro a 1,5%).

Os tubos voltam por 20 minutos (as vezes mais) ao banho-maria de 38°.

Para o resultado final da reacção ha 3 possibilidades.

- ausencia de hemolyse (++) = sôro positivo.
- hemolyse incompleta (±) = sôro suspeito.
- hemolyse completa (—) = soro negativo ou normal.

Recommendam-se manter os tubos na temperatura ambiente por uma hora e repetir o exame, sobretudo nos sôros suspeitos. Deve-se comparar os tubos de testemunha (sem antígeno). Nos casos com substancias anticomplementares não especificas, geralmente produzidas por gravidez, molestias febris etc. é necessario empregar outros methodos diagnosticos.

A tabella seguinte mostra o resultado do exame de sôros de animaes atacados do Mal de Cadeiras e de animaes sãos com o desvio do complemento, a precipitação e a agglutinação, o que permite a comparação directa do valor dos methodos.

