

Artigo originariamente publicado na
Revista Médica da Aeronáutica, ano 1, número 3, setembro de 1949

DO SÔRO-DIAGNÓSTICO DE LUES (*)

**Considerações gerais. Conduta técnica seguida no
laboratório do H. C. Aer.**

HARVEY RIBEIRO DE SOUZA

No que concerne ao estudo do sôro-diagnóstico de lues, há ainda muitos pontos obscuros a serem esclarecidos, desafiando argúcias e aptidões tanto de clínicos como de sorologistas, se bem que grandes passos já tenham sido dados nestes terrenos da investigação científica, como mui bem atesta o grande vulto de trabalhos os mais variados, quando pretendemos compulsar bibliografia sôbre o assunto.

Estamos caminhando, em verdade, para um ponto onde estarão de acôrdo algum dia tanto a clínica como o laboratório, desejosos que somos de uma uniformidade de anotações de resultados e de uma interpretação segura dos achados, ante uma padronização das condutas dos âmbitos da técnica sorológica. Mas ainda não atingimos o fim colimado e a convergência de pontos de vista ainda não se deu, desde que sob êsse prisma ainda há discrepâncias entre clínica e laboratório ou em qualquer dêsses dois setores em separado, mau grado a realização de congressos ou de conferências especializadas do mais alto valor científico.

Sem pretendermos conseguir isoladamente aquilo que forças conjugadas não lograram até agora, nada de mal haverá, entretanto, na tentativa de congregarmos nossas energias parciais com o intento de uma padronização das nossas tarefas, colocando dêsse modo a clínica a par da conduta laboratorial e vice-versa, estreitando mais e mais os laços de afinidade que prendem êsses dois setores da medicina, que tanto se atraem e se completam.

(*) — Trabalho executado no Serviço de Análises e Pesquisas Clínicas do Hospital Central da Aeronáutica, Rio de Janeiro, Brasil, e apresentado em sessão ordinária do Centro de Estudos do H. C. Aer.

Inspirados neste conceito foi que traçamos as normas que de longa data vimos seguindo no Serviço de Análises e Pesquisas Clínicas do Hospital Central da Aeronáutica e que levamos ao conhecimento do meio médico, mormente do H. C. Aer., animados do firme propósito de angariarmos os dados que deverão aperfeiçoá-las, corrigindo suas imperfeições, através de sugestões ou de críticas construtivas, para que clínica e laboratório, num conjunto harmônico, palmilhem a mesma estrada, de modo quiçá mais elegante e suave, objetivando suas finalidades.

Como é sabido, denomina-se **sorologia** o capítulo da propedêutica complementar ou laboratório que tem como finalidade exclusiva o diagnóstico das infecções através de processos especiais e definidos ditos de **imuno-diagnóstico**, desde que se referem a pesquisa de anticorpos ou entidades correlatas no meio circulante.

Com dois tipos capitais de reações joga a sorologia para o preenchimento de suas cabais finalidades: as reações de **fixação do complemento** e as de **floculação, precipitação** ou de **clarificação**.

A história dessas reações começa em 1894, com os memoráveis trabalhos de Pfeiffer, quando da descoberta do fenômeno que lhe tomou o nome ou “fenômeno da bacteriólise específica”, marco ou ponto de partida de uma grande série de pesquisas do mais alto valor científico que, rasgando novos e amplos horizontes nos campos da imunologia, escreveu um novo capítulo da mais real importância nos setores da propedêutica complementar, destinado, em sua aplicação na prática, ao diagnóstico sorológico das infecções no homem e nos animais.

Na verdade, Pfeiffer verificou que o desenvolvimento de propriedades imunitárias de um animal (o cobaio) contra uma dada bactéria (o vibrão colérico), permite que seus humores adquiram a propriedade de “dissolverem essa bactéria”, isto é, que se processe uma lise bacteriana. Suas conclusões decorreram dos seguintes fatos:

1) a inoculação, por via peritonal, de uma grande dose de suspensão de vibrões no cobaio, determina a morte do animal em poucos dias;

2) a imunização do cobaio com pequeninas doses da mesma suspensão permite que, posteriormente, esse animal receba por via peritonal doses excessivas e outrora consideradas mortais de suspensão de vibrões, sem que se apresentem sinais patentes de infecção; ocorre, entretanto, no seu peritônio, a formação e coleção de um exsudato de defesa;

3) o exame microscópico, entre lâmina e lamínua, dêsse exsudato em tempos variáveis, mostra a existência de vibrões dotados de alto grau de motilidade ativa, motilidade essa que ao fim da primeira hora passa a se reduzir, para se extinguir finalmente, quando se aglutinam em extensas massas que mais tarde vêm a sofrer um processo de desintegração ou lise e, numa etapa mais avançada e final, se apresentam como “pequenos grânulos” ou mesmo “dissolvidos”.

Metschnikoff, entretanto, tendo sua atenção voltada para tão interessante fenômeno, foi quem patenteou sua viabilidade “in vitro”, realizando-o em tubo de ensaio.

Tais fatos, aguçando o espírito de curiosidade científica dos pesquisadores da época, levaram Bordet a estudos mais avançados relativos à razão de ser desses processos. E assim veio a descobrir que as experiências “in vitro” se processavam, mesmo quando em vez de exsudato peritonal se lançava mão do sôro de cobaia imunizado; e foi mais adiante, constatando o seguinte:

1.º) que o aquecimento dêsse sôro a 56° C durante meia hora fazia com que êle perdesse a sua capacidade de lise dos vibrões;

2.º) que a **adição de gotas de um sôro fresco**, de outra cobaia não imunizada, ao sôro imunizado aquecido e misturado com vibrões, permitia a ocorrência do fenômeno de Pfeiffer; e

3.) que o aquecimento do sôro imune a 60°C não mais permitia que ocorresse a bacteriólise, ainda que fôsse acrescido de grandes quantidades de sôro fresco de cobaia.

Estas constatações permitiram as seguintes conclusões de Bordet:

a) que, nos soros das cobaias imunizadas ou não contra determinada bactéria, há uma **substância termolábil**, que se destrói ou que é **inativada** pelo aquecimento a 56° C, durante meia hora, substância essa a que chamou de **citase**, correspondendo ao **complemento** de Erlich ou à **alexina** de Buchner; e

b) que nos soros de cobaias imunizadas, além da citase ou complemento natural, há uma **substância termostável**, só destruída por temperaturas mais elevadas e que em face do complemento é a responsável verdadeira pelo fenômeno de lise, substância essa com tôdas as características peculiares aos anticorpos, a que Bordet denominou de **sensibilizadora** ou **sensibilisina**, correspondendo ao que Erlich chamou de **substância intermediária** ou **amboceptor**, e Metschnikoff de **fixadora**.

Prosseguindo em suas pesquisas em colaboração com Gengou, em 1901 Bordet, experimentando com glóbulos de carneiro, com os quais imunizara um coelho, caracteriza um fenômeno de hemólise "in vitro". E aqui nasce o "fenômeno de Bordet e Gengou" ou da "hemólise", que através memorável estudo foi naquela época publicado nos Ann. Inst. Pasteur, 1901, 15: 289, em trabalho intitulado "Sur l'existence des substances sensibilatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens".

Estribados nesses conhecimentos, em 1906, verdadeira era do nascimento do sôro-diagnóstico da sífilis, Wassermann, Neisser e Bruck, denominando de **sistema hemolítico** a mistura de substância antigênica (glóbulos de carneiro usados na produção de sôro hemolítico) e anticorpos (hemolisina ou sôro de coelhos contra glóbulos de carneiro), idearam o processo reacional que empregaram pela primeira vez para o sôro-diagnóstico de lues, processo esse que tomou o nome de **Reação de Wassermann**, para o qual as escolas francesa e belga, com tôda a razão e justiça, reivindicam o nome de **Reação de Bordet-Wassermann**.

Para levarem a cabo as suas pesquisas, aquêles experimentadores idearam colocar ante o "sistema hemolítico" uma mistura adequada de sôro humano, suspeito de conter reagentes luéticos, e um antígeno representado por extrato aquoso de fígado de feto heredo-sifilítico, desde que tal víscera era rica em "T. pallidum", germens difíceis de serem cultivados.

Nestas condições, entravam em jôgo **dois sistemas** aos quais, posteriormente, seria adicionado o complemento do qual previamente teriam sido privados:

1.º sistema: sôro suspeito inativado mais extrato de fígado de heredo-sifilítico;

2.º sistema: sôro de coelho contra glóbulos de carneiro mais glóbulos de carneiro.

Haveria, então, para a posse do complemento, que em uma outra etapa de reação seria apresentado, uma competição entre os dois sistemas: a reação seria positiva, patenteando a existência de reagentes sifilíticos, se o complemento se fixasse ao 1.º sistema e neste caso **não haveria hemólise**; a reação seria negativa quando dela **resultasse hemólise**, porque a falta de reagentes luéticos, ao lado do extrato de treponemas, não permitia que o 1.º sistema utilizasse o complemento na primeira fase do processo reacional e, nessas condições, êle, indo agir sobre o 2.º sistema, determinaria a lise dos glóbulos de carneiro em face do sôro hemolítico.

Como vemos, o que se constata na **Reação de Bordet-Wassermann** é uma **fixação de complemento**, possibilitada a qualquer dos dois sistemas em fases distintas dum mesmo processo reacional, e **não um desvio de complemento**, como se poderia supor a uma análise mais superficial dos fatos, o que tem permitido que, errôneamente e com tôda a impropriedade, sejam feitas referências à reação como de **desvio** ou de **fixação** do complemento, possivelmente também por cópia de referências nada recomendáveis de escolas francesas, que ao fenômeno de Bordet e Gengou chamam de “phenômène de deviation du complément”, desvirtuando totalmente sua categoria e confundindo-o com o “fenômeno de Neisser e Weichberg” — o verdadeiro fenômeno denominado de **desvio de complemento** — reservado o fato imunológico completamente diferente do de Bordet-Gengou e relativo a processo de bacteriólise específica de mecanismo obscuro, possivelmente decorrente dum excesso de emprêgo de amboceptor que, desviando o complemento, não permitiria a ocorrência de fenômeno de lise bacteriana.

A análise ou o estudo crítico do processo reacional de Bordet-Wassermann feito por Levaditi em 1907, mostrando que poderiam funcionar como antígenos não só o fígado de heredo-luético mas também o de indivíduos normais, certas vísceras de mamíferos (como o coração de boi, cavalo, cobaio) e mesmo entidades químicas de natureza fixa e definida (sais biliares, colesterol, lecitina, etc.), criaram ambiente propício a certo grau de descrédito da reação, quanto à sua especificidade em função do antígeno. E se tais fatos não fôsem contrabalançados e mesmo suplantados pelas concordâncias observadas entre dados clínicos e laboratoriais, certamente não ocuparia a reação de Bordet-Wassermann o lugar que ora ocupa no cenário da propedêutica complementar, constituindo ponto de apoio ponderável da clínica para o diagnóstico, terapêutica e prognóstico das afecções luéticas em suas mais variadas manifestações ou modalidades.

Em 1918, numa referência dos estudos procedidos neste campo da sorologia, outro capítulo é aberto com os trabalhos e experimentos de Michaelis, Jacobsthal, depois Sachs-Georgi, Vernes, Meinick e tantos outros, que constataram a evidência de floculação ou precipitação de pequeninas partículas, com clareamento do líquido de suspensão, quando da mistura de soros luéticos com extratos aquosos ou alcoólicos de órgãos ricos em lipóides tissulares. Foi nesta época, pois, que nasceram e surgiram as primeiras reações destinadas ao sôro-diagnóstico de lues, baseadas no **fenômeno da floculação micelar**, que, pela simplicidade de execução e

leitura rápida de resultados, tantos adeptos ou partidários angariaram, culminando hoje com a apresentação da microfloculação com o antígeno de Pangborn, à base de cardiolipina, colesterol e lecitina, precedida pelas reações, já hoje universalizadas em sua aceitação, de Kahn e de Kline, que tantos serviços têm prestado à medicina em geral.

E assim foi que, entre os fins do século passado e o comêço do presente, se demarcaram os campos da sorologia da sífilis, culminando na metade do século XX pela tendência franca da universalização de um único processo sorológico que, padronizado, deverá se caracterizar por fornecer resultados 100% sensíveis e 100% específicos.

Entende-se por **sôro-diagnóstico de lues** o processo ou o conjunto dêles, que tem como finalidade precípua evidenciar em soros suspeitos a existência ou não de reaginas luéticas.

Se aceitarmos êsse conceito como certo, em obediência a uma terminologia mais exata e racional, diremos que a denominação **sôro-diagnóstico de lues** só deverá ser aplicada à pesquisa imunológica que tiver o sôro sanguíneo como material. Nessas condições, julgamos haver grande impropriedade nas especificações ou denominações como as seguintes: sorologia do liquor ou reações sorológicas no líquido ascítico, etc.. Achamos mais razoável e mais exata as solicitações de **imuno-diagnóstico de lues** ou **sífilis** no liquor, no líquido ascítico, etc., porque as especificações de pedidos dessa natureza, segundo acreditamos, traduzem de uma maneira correta exatamente aquilo que desejamos seja executado em determinado material, seja êle o liquor, transudatos outros ou exsudatos.

Desde que, de princípio, admitimos o sôro-diagnóstico de lues como pesquisa levada a cabo em material representado pelo **sôro sanguíneo**, estarão fora dos âmbitos de nossas cogitações, tôdas as investigações imunodiagnósticas que não tenham o sôro como material analítico, mesmo que os fins colimados sejam os do diagnóstico laboratorial da sífilis.

Por essa razão mesma não diremos “imunodiagnóstico de lues” ao empregarmos o sôro como material, porque ao referirmo-nos a sôro-diagnóstico de lues, compreendemos que se cuida de pesquisa imunológica levada a cabo em material perfeitamente especificado: — **o sôro**. Não obstante essas considerações ligeiras, estaremos de acôrdo em que a especificação imuno-diagnóstico de lues, com seu caráter genérico ou geral, é certa, ainda que seja o sôro sanguíneo o material

de pesquisa, correspondendo as requisições desse tipo, exatamente, àquilo que desejamos quando, com solicitações específicas e de uma só vez, dizemos **sôro-diagnóstico de lues**.

Seria natural que, depois das referências atrás feitas, falássemos nos tipos de requisições onde os solicitantes especificam as reações sorológicas que desejam. Assim, ao lado de requisições outras como “reações sorológicas para a lues” encontramos não raras vezes pedidos onde os médicos requisitantes especificam as reações de Wassermann, de Kahn e de Kline que desejam, ou então pedem uma ou duas reações apenas para um determinado doente.

Nós, particularmente, não apoiamos tais tipos de requisições, pelas razões seguintes:

1.º) a denominação “reações sorológicas” importa em se acreditar na obrigação de execução de **mais de uma reação**; e isso nem sempre acontece quando da rotina fazem parte as reações de exclusão;

2.º) encaramos o pedido isolado de “reação de Wassermann” como sinônimo de sôro-diagnóstico de lues, ainda que consideremos o fato como impróprio se bem que de regular divulgação, contrariando normas de conferências especializadas sobre o assunto;

3.º) achamos desarrazoável que a clínica determine ao laboratório o tipo de reação ou reações que deseja, quando lhe falta ponto de apoio para uma tal seleção. Ao laboratório, de acôrdo com suas posses, com o tirocínio de seu corpo técnico, capacidade técnica, etc., é que deve caber a escolha da reação ou reações executáveis, de modo a informar com o máximo de segurança ao clínico se seu portador é ou não sorologicamente um luético. Que importa ao médico saber se a pesquisa de glicose na urina foi feita com a reação de Benedict ou de Feheling? Que importa ao clínico saber se a pesquisa de malária em seu doente foi feita com o emprêgo do corante de Wright ou de Giemsa? O que querará saber o clínico? Não é se seu doente é um diabético ou um palúdico? O que querará, então saber um clínico quando solicita um sôro-diagnóstico de lues? Nada mais nada menos que ficar ao par da existência ou não de lues em causa! Porém, os métodos que permitem atingir essa finalidade são da alçada do laboratorista; a êle compete, depois de estudo crítico construtivo em sua especialidade, escolher o processo ou processos de pesquisa, com os quais se familiarizará para atender à clínica de modo seguro e perfeito; só ao laboratorista compete, de acôrdo com o seu senso de responsabilidade e espírito de investigação, traçar o roteiro do qual farão parte duas, três ou mais reações imuno-diagnósticas.

Êste é o nosso ponto de vista.

Muito se tem discutido a propósito do valor dos informes do sôro-diagnóstico de lues. Mesmo entre os leigos, certo grau de descrédito campeia. Por exemplo: é comuníssimo, em clínica privada ou não, ouvirmos de leigos a crítica com que, sem conhecimento de causa, asseveram saber que, “se seu sangue fôr negativo, não quererá dizer que não têm sífilis, porque sabem que há uma sífilis hereditária, etc.”. Não sabem a diferença que vai entre sôro-diagnóstico de lues e diagnóstico clínico de sífilis e, nesse caso, de nada nos valeria explicar que informes trazem os diagnósticos sob o ponto de vista **sorológico** e em que casos se sobrepõem ou não à clínica.

Por outro lado, também, sabemos o quanto, dentro dos limites da relatividade, é dado de valor ao sôro-diagnóstico de lues na clínica, desde que seus resultados são aureolados às vêzes de algumas causas de êrro, certas delas sanáveis, fato que tem preocupado o meio médico em geral desde o advento da reação de Wassermann e que persiste até o momento atual, a isto correspondendo a grande messe de investigações e trabalhos ininterruptos sôbre o assunto, onde clínica e laboratório se têm conjugado para colimarem o mesmo fim.

Com o intuito de reduzirmos ao mínimo o grau de precariedade que podem encerrar os informes do sôro-diagnóstico de lues é que traçamos as normas que de longa data seguimos no laboratório em que trabalhamos e que passamos a expor, normas essas baseadas na experimentação e crítica de resultados obtidos na nossa rotina no Serviço de Análises e Pesquisas Clínicas.

Sob o ponto de vista técnico, como é sabido, dividem-se as sôro-reações para a lues, quanto ao princípio em que se baseiam, em:

A) — Reações de fixação do complemento:

- a) com inativação do complemento e
- b) com complemento inativo ou ativo.

B) — Reações de floculação, clarificação ou precipitação:

- a) do tipo macroscópico e
- b) do tipo microscópico.

Conforme se destinem a **pesquisas** de reaginas ou à eventual **dosagem** das mesmas, se dizem **qualitativas** ou **quantitativas**, sendo que as reações de floculação do tipo qualitativo ainda podem admitir as variedades denominadas de **reações de exclusão**, **reações de verificação** e **reações diagnósticas** ou “**standards**”.

As reações de **exclusão**, também denominadas **presuntivas**, são as efetuadas com antígenos hipersensíveis e do-

tadas de reduzido grau de especificidade. Com elas, tôdas as reações positivas, mesmo as mais fracas, são evidenciadas, e algumas reações inespecíficas ocorrem como positivas; entretanto, tôdas as reações negativas ao teste de exclusão correspondem a soros tipicamente negativos.

As **reações de verificação**, denominação especialmente dada a uma das modalidades de macro-floculação de Kahn, se destinam ou se propõem à diferenciação entre reações falso-positivas, reações positivas e negativas. Se efetuam em função de concentrações variáveis de salina e de variações de temperatura, evidenciando reações biológicas, luéticas e mistas.

As chamadas **reações diagnósticas** são as executadas com antígenos que teoricamente deveriam ser 100% sensíveis e 100% específicos, características essas ainda não obtidas com as técnicas atuais, se bem que atingidas em bons graus de intensidade, consoante as últimas e recentes pesquisas de M. Pangborn, com o seu antígeno à base de cardiolipina, colesterol e lecitina.

Afora, porém, tais variedades, na dependência do princípio em que se baseiam, fins a que se propõem, etc., várias dezenas de condutas técnicas são conhecidas, tôdas elas baseadas nos dois princípios capitais, que respondem pelos dois tipos gerais de reação: fenômeno da floculação micelar e fenômeno de Bordet-Gengou ou de fixação de complemento.

A lógica leva-nos a acreditar que o grande acervo de contribuições que têm surgido nesse campo da sorologia, se deve à nossa incapacidade técnica, teórica e científica, em relação à resolução de determinados problemas, especialmente daqueles que se referem à especificidade das soro-reações. E por isso surgem a cada passo novas condutas técnicas, novas modificações de técnicas anteriores, mais pormenorizados estudos dos diversos fenômenos em que se baseiam as atividades reacionais...

Qualquer, entretanto, que seja o tipo, a espécie, a variedade ou sub-variedade a que pertença a conduta técnica, há sempre a possibilidade de três eventualidades pelo menos:

- 1.^a) suspeita clínica de lues ou lues comprovadamente existente sob ponto de vista clínico com S. D. L. negativo;
- 2.^o) ausência de lues sob o ponto de vista clínico, com existência de S. D. L. positivo;
- 3.^a) concordância perfeita entre dados clínicos e laboratoriais.

Se êsse fato ocorre com uma reação isolada, o problema pode parecer complicado quando no curso do emprêgo de duas ou mais reações, onde haverá concordância entre clínica

e laboratório para uma espécie de reação e divergência para outra ou outras; enfim, ocorreria em o mesmo sangue a possibilidade de uma reação ser positiva e outro tipo ser negativo. E isto não é raro.

Êstes fatos, preocupando analistas e clínicos, têm fixado as atenções particularmente no estudo dos itens principais, a saber:

- a) sensibilidade e especificidade das reações;
- b) uniformização nas anotações dos resultados;
- c) estudo comparativo dos informes de várias técnicas e tipos de reações;
- d) unificação da técnica para o preparo e standardização dos diversos antígenos; e
- e) estudo e controle das chamadas falsas reações positivas.

Para o estudo dessas questões capitais, a Sociedade das Nações promoveu duas Conferências Internacionais: uma em Copenhague em 1928, e outra em Montevideu em 1930. Ao lado dessas, porém, em outras conferências regionais se tem debatido o assunto. Assim é que, no Rio de Janeiro, em 1940, realizou-se uma Conferência Nacional de Defesa Contra a Sífilis, para não falarmos na Reunião dos Sorologistas Americanos do Comité de Avaliação das Provas Sorológicas Para a Sífilis, ocorrida em Washington, em 1941, sob os auspícios do Departamento de Saúde dos Estados Unidos.

Nas Conferências de Montevideu e Copenhague ficou estabelecido o seguinte:

- 1.º) superioridade dos métodos de floculação sobre os baseados na fixação do complemento, **quanto à sensibilidade**, e igualdade **quanto à especificidade**;
- 2.º) a reação "standard" de Kahn é extremamente sensível e verdadeiramente específica;
- 3.º) a reação de floculação de Müller (modificação II) e a de Kahn presuntiva dão maior número de reações positivas que a "standard" de Kahn em casos de sífilis comprovada;
- 4.º) as reações podem ser negativas apesar da presença de sífilis; uma reação positiva sem antecedentes ou manifestações luéticas, entretanto, só deverá ser aceita depois de conduta técnica para confirmação ou eliminação de falso-positivas;
- 5.º) a reação de Kahn e a de Wassermann, feitas por Wyler, foram as únicas que não deram falso-positivas; a de Wassermann é porém menos sensível;
- 6.º) há necessidade do emprêgo de pelo menos dois métodos de sôro-diagnóstico;

7.º) há conveniência na anotação das reações como: positivas, negativas ou duvidosas, nada significando o número de cruces nas reações qualitativas.

As conclusões chegadas pela Conferência do Rio de Janeiro, em linhas gerais, foram as seguintes:

- 1) a reação "standard" de Kahn pode ser considerada padrão para o sôro-diagnóstico de lues;
- 2) há necessidade de um antígeno padronizado oficialmente entre nós;
- 3) os resultados das reações qualitativas deverão ser dados como: positivas (+), negativas (—) ou duvidosas (\pm);
- 4) há conveniência em se mencionar, apenas sôro-diagnóstico de lues em vez de reação de Wassermann; e
- 5) há necessidade do emprêgo de três tipos de reações:
 - a) fixação do complemento;
 - b) macrofloculação; e
 - c) microfloculação.

Ante o conhecimento de tais informes, e nêles baseados, foi que orientamos nossa conduta técnica no Serviço onde trabalhamos, seguindo uma mesma meta há mais de dois anos.

Como os problemas que se nos depararam necessitando solução mais imediata fôssem o da resolução dos casos de reações falso-positivas, o da expressão correta dos pedidos e expedição padronizada dos resultados e, finalmente, o da escolha de condutas técnicas capazes de nos fornecerem o máximo de segurança nos achados, traçamos as seguintes normas para nossos trabalhos:

a) Colheita de sangue com material esterilizado e sêco, preferentemente na véspera da execução das reações, afastando possíveis causas de erros redundantes da estocagem do mesmo em geladeira, onde perdas de títulos das reaginas podem ocorrer, muitas vezes respondendo por resultados pouco concludentes ou duvidosos (\pm).

b) Colheita do material estando o paciente, preferentemente, **em jejum e sem ter fumado**. Esta conduta permite afastar a eventualidade de reações falso-positivas decorrentes da colheita do material em indivíduos em período digestivo e em atividade física no decorrer do dia, porque a tomada de sangue será procedida em período matinal após o repouso prolongado da noite; evita, também, eventuais reações duvidosas ou falso-positivas, vigentes em indivíduos fumantes inveterados, desde que como trabalhos americanos provaram que o fumo ou a fumaça do tabaco são responsá-

veis por erros nas reações de floculação, as quais tornam falso-positivas (“tobacco fume”); além do mais, as colheitas se processando de modo padronizado, sempre no período da manhã e nas condições descritas, permitirão comparações mais seguras de dois resultados obtidos em épocas diferentes.

c) O sangue logo após a colheita deverá fornecer a formação do coágulo em temperatura ambiente e em seguida colocado em estufa a 37° C, para facilitar a retratibilidade do coelho e formação do sôro que, tão depressa quanto possível, preferentemente neste mesmo dia, deverá ser separado por centrifugação dos elementos celulares e fibrina; esta conduta ao ser observada à risca, fornecerá sempre sôro límpido, transparente e **isento de hemólise**, caracterizando o material como nas melhores condições para os trabalhos. Os soros francamente hemolizados deverão ser rejeitados.

d) Aquecimento do sôro a 63° C, **durante 3 minutos**, obtendo-se com vantagem, pelo menos de tempo, os mesmos resultados obtidos com uma inativação do material a 65° C, durante meia hora; êste fato, que tem constituído ponto de estudo de vários pesquisadores, foi por nós constatado como verídico e seguro, sendo por nós empregado e indicado há mais de cinco anos.

e) Execução da micro-reação de floculação preconizada por Boerner, Jones e Lukens, com a nossa adaptação como “teste de exclusão”, enviando-se imediatamente para a expedição os **resultados obtidos como negativos**. Nestas condições, cada partida de 50 soros é, muitas vezes, reduzida a 10 ou 12 soros suspeitos, que serão trabalhados e testados com outras reações, desde que os restantes foram expedidos com o resultado de **negativos**.

f) Execução da micro-floculação diagnóstica segundo a técnica de Kline, com o antígeno de Pangborn (cardiolipina, colesterol e lecitina), preparado por B. S. Kline, e da reação de Kahn “standard”, empregando-se extrato controlado pelo próprio Dr. R. Kahn; as reações **positivas** ou **negativas** dêste item terão seus resultados expedidos, de acôrdo com as normas preconizadas por congressos ou conferências especializadas sôbre o assunto, e os **soros duvidosos** terão a expedição de seus resultados retida, devendo o fato ser comunicado ao clínico requisitante, para a tomada de providências relativas à repetição dos testes. Se novas reações se evidenciarem, ainda, como duvidosas, os “testes de verificação” segundo Kahn deverão ser executados, aconselhando-se, outrossim a **prova de reativação com “Arsenox”** tôdas as vezes em que se chegue a resultados de curva **biológica** ou **mista**, expedindo-se, apenas, os resultados que à ve-

rificação de Kahn corresponderem a de **soros luéticos** ou de curva luética. É importante que todos os pacientes, em quaisquer circunstâncias, que foram portadores de soros duvidosos, a uma segunda tomada de sangue e antes dos testes de verificação, tragam ao laboratório história clínica circunstanciada de seu caso, que permita ao analista estar a par de relações de causa e efeito entre seus achados e dados da propedêutica médica.

g) Todos os soros positivos, na dependência de solicitação clínica, passarão por teste quantitativo, segundo a técnica de Kahn, sendo os resultados expressos em **unidades reativas de Kahn**.

Nas normas por nós preconizadas e seguidas em nosso Serviço no que toca à parte da conduta laboratorial, como vimos, nos evidenciamos partidários francos das reações de floculação em qualquer das suas variedades ou tipos. É certo que para tanto nos baseamos em informes de congressos especializados; mas devemos também dizer que assim procedemos por imperativos de uma preferência pessoal.

Ao confessarmo-nos, entretanto, apologistas sinceros das reações de floculação, fazemos questão de frisar que longe estamos de pretender menosprezar ou relegar a plano de secundarismo o valor dos informes prestados pelas reações baseadas no fenômeno de Bordet-Gengou, nas quais reconhecemos reais méritos técnico-científicos e valor propedêutico, apurados através seguros e abalisados experimentos de pesquisadores de renome universal como Eagle, Kolmer, Boerner, etc..

Apenas achamos que as reações de fixação do complemento são mais complexas, mais custosas, jogando com elementos de mais difícil obtenção e em número maior que o das reações de floculação; são mais demoradas, mais sujeitas a causas de erros... A sensibilidade e especificidade delas ante as das reações de floculação é ponto ainda hoje discutido. Finalmente: não julgamos, em absoluto, que seus atributos positivos suplantem os das reações de floculação, que são mais simples, rápidas, menos dispendiosas e mais fáceis de serem executadas por qualquer laboratório. E se não passasse, pelo menos para nós, esse conceito, bastariam os informes e conclusões de congressos sobre sífilis e padronização de técnicas sorológicas, sobre os quais já tivemos oportunidade de falar.

Ao concluirmos nosso trabalho levando ao conhecimento geral o ponto de vista que esposamos a propósito do soro-diagnóstico de lues e para que se saiba como temos proce-

didado e procedemos em nosso laboratório, permitimo-nos as seguintes conclusões gerais:

1) Nossa conduta técnica aceita e obedece ao que dispõe a Conferência Internacional da Liga das Nações, no que se refere à reação básica diagnóstica empregada, que é a **reação de Kahn**. Neste ponto está de acordo com um dos itens prescritos pela Conferência Regional do Rio de Janeiro.

2) Nossa conduta técnica, empregando duas reações, ainda que ambas de floculação, está de acordo com o que prescreve a Liga das Nações e, em parte, com o que indica a Conferência do Rio de Janeiro, desde que não executamos reações de fixação do complemento.

3) O método que empregamos, das "reações de exclusão" precedendo as diagnósticas, se evidencia econômico, prático e seguro, desde que a exclusão das negativas reduz o campo de trabalho a um mínimo sobre as reações positivas, economizando tempo e reativos.

4) O emprego de "testes de verificação" é indispensável nas reações duvidosas ou nas falso-positivas, devendo ser solicitados ao laboratório, sempre que possível, ao lado de dados clínicos pormenorizados.

5) A standardização de normas para a requisição de exames e expedição dos resultados, obedece às indicações de congressos ou conferências especializadas sobre a matéria, consoante linguagem escrita, correta, segura e científica.

R E S U M O

O estudo, se propõe a sugerir normas de padronização para o sôro-diagnóstico de lues, abordando desde a maneira pela qual o A. julga ser a correta para a solicitação dos exames até a conduta técnica que é observada no Serviço de Análises e Pesquisas Clínicas do Hospital Central de Aeronáutica.

Numa parte geral aborda o conceito de sorologia, o de sôro-diagnóstico de lues, o histórico sucinto das reações sorológicas e princípios em que se baseiam. Sob o ponto de vista da conduta técnica, como partidário das reações de floculação, depois de se referir a tipos e variedades deste tipo de testes, preconiza as reações microscópicas de exclusão com antígeno de "B.J.L." para reduzir o campo de trabalho, admitindo que as reações "diagnósticas" só devem ser feitas, pelo menos nos grandes serviços, nos soros que ao "teste de exclusão" se evidenciarem positivos ou duvidosos. Todas as reações positivas devem passar por "teste quantitativo" de Kahn e as duvidosas, depois de repetidas, deverão passar pelos "testes de verificação".

Obedecendo em suas linhas mestras aos diversos itens preconizados por Conferências ou Congressos sobre sôro-diagnóstico de sífilis, define a sua conduta no Serviço do H. C. Aer. concluindo pela excelência dos resultados que assim tem colhido.

B I B L I O G R A F I A

- 1) BOERNER, F. and LUKENS, M. — "New method for preparing "B.J.L." flocculation antigen" — Am. J. Clin. Path., in Tech. Sec., 15:71-72, 1945.
- 2) BOERNER, F., JONES, C. A. and LUKENS, M. — "Simplified microscopic and macroscopic flocculation tests for the diagnosis of syphilis" — Am. J. Clin. Path., in Tech. Sec., 10:141-151, 1940.
- 3) BAYARRI, V. S. — "Elementos de inmunidad" — F. Garcia Muñoz Edt., 1.^a Ed., España, 1948.
- 4) KOLMER, J. A. — "Infection, Immunity and Biological Therapy" W. B. Saunders, 3 th. ed., London, 1925.
- 5) MACIEL, H. — "Noções clínicas de laboratório" — Freitas Bastos Ed., 3.^a ed., Rio de Janeiro, 1940.
- 6) PHILIBERT, A. — "Manuel de bacteriologie medical" — Masson Ed., Paris, 1928.
- 7) REIN, C. R. and HAZAY, C. — "Rapid heating of serum for the KLINE tests for syphilis" — Am. J. Clin. Path., 10: 288-292, 1940.
- 8) SOUZA, H. R. e PÓVOA, E. — "Sorologia da sífilis" — Comunicação à Soc. Bras. Patol. Clín. e à Soc. Méd. Cirg. do Rio de Janeiro, 1948.
- 9) SOUZA, H. R. — "Sobre conduta técnica simplificada na micro-reação de Kline" — Em publicação.
- 10) SOUZA, H. R. — "Subsídio ao sôro-diagnóstico da lues pela reação de floculação com antígeno de "B. J. L." " — Comunicação à Soc. Bras. Patol. Clín., 1948.

