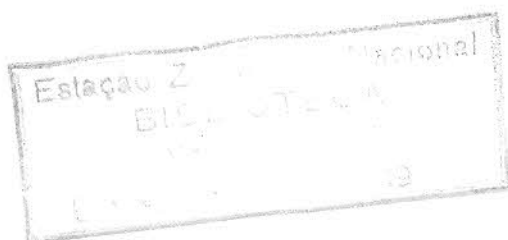


ANO XXXIV - N.º 2



# BOLETIM PECUÁRIO

1966

APRECIÇÃO DO PODER IMUNIZANTE  
DO SORO DO MAL RUBRO

ESTUDO COMPARATIVO NO RATINHO  
(método de Marx) E NO POMBO (método de Gerlach)

*Por*

JOSÉ CRISTINA AFONSO

## INTRODUÇÃO

Vários métodos são preconizados para apreciar o poder imunizante do soro do mal rubro, quase todos assentes em provas biológicas, quer no pombo, quer no rato, GERLACH (1934), BRAGA (1943), KELSER (1946), FLÜCKIGER (1950). Do emprego de um ou outro método resultam diferenças no valor atribuído a um mesmo soro, isto sem entrar em conta com outros factores de variabilidade, como seja a estirpe de *E. rhusiopathiae* utilizada na contraprova, LOURENS (1934). É de esperar que, de futuro, com o emprego do soro padrão internacional do mal rubro N., estabelecido em 1964, de harmonia com o processo de apreciação proposto (WHO/BS/738.65), terminem, finalmente, os inconvenientes que derivam da diversidade do valor atribuído ao mesmo produto pelos diferentes laboratórios que tiverem de o apreciar. No serviço oficial de contraste, a apreciação do soro do mal rubro vinha sendo feita segundo o método de Gerlach (GERLACH — 1934) no pombo, e durante bastante tempo foi o único utilizado e adoptado. Havia uma certa uniformidade nos resultados de apreciação e o método satisfazia às exigências do momento. O comportamento do pombo nos ensaios mostrava-se bastante regular. Mas, a partir de dada altura, começaram a surgir anomalias dificultando a apreciação do soro. A reacção do pombo nos ensaios era anormal e a causa dessa anormalidade foi, após estudo realizado nos anos de 1950 a 1953, atribuída a parasitismo, (CRUZ e AFONSO). Os pombos para os ensaios eram adquiridos no mercado, visto o Laboratório Nacional de Investigação Veterinária não possuir criação própria. O aumento do número de soros do mal rubro

submetidos oficialmente a contraste, tornou necessária a aquisição de pombos de várias zonas do País, facto que contribuiu ainda mais para as irregularidades de comportamento observadas. A irregularidade de comportamento do pombo, nos ensaios de apreciação do poder imunizante do soro de mal rubro, fora já reconhecida, KELSER (1946), FLÜCKIGER (1950). Perante este facto, e na impossibilidade de obter, para os ensaios, pombos de criação própria, em boas condições hígio-sanitárias, houve que proceder à apreciação do soro do mal rubro segundo um método que utilizasse o ratinho branco — animal de criação própria deste Laboratório Nacional. Na falta de método internacional de apreciação escolheu-se para efeito o de Marx (GERLACH — 1934), (BRAGA — 1943), que utiliza o ratinho branco de 15 gramas de peso, e que serviu de base, possivelmente, ao método internacional de apreciação do soro do mal rubro actualmente proposto e já referido.

De acordo com o método de Gerlach, os soros destinados à profilaxia do mal rubro, deviam proteger o pombo na dose de 0,25 cc. e os soros com a indicação de «curativo», na dose de 0,10 cc. Desconhecia-se, contudo, a relação de valores de apreciação entre os métodos de Gerlach e Marx. Um ensaio prévio mostrou que só os soros protectores para o pombo na dose de 0,10 cc. protegiam o ratinho na dose de 0,01 cc., condição exigida oficialmente pelas autoridades sanitárias alemãs (soro com 100 U. I. por cc.). Houve, por conseguinte, que estabelecer a correspondência do valor protector entre a dose de 0,25 cc. do método de Gerlach, no pombo, e a obtida com o método de Marx, no ratinho, a qual passaria, de futuro, a ser considerada na prática do contraste oficial dos soros do mal rubro.

Este estudo comparativo é o assunto desta nota.

## MATERIAL E MÉTODOS

Soros do mal rubro: — Os soros ensaiados eram de produção nacional e estrangeira. A maior parte dos primeiros provinha do Laboratório Nacional, principalmente aqueles soros que protegiam o pombo na dose de 0,10 cc. e o ratinho na dose de 0,01 cc. Raramente os soros destinados ao mercado, protegiam o pombo na dose de 0,10 cc., havendo-se recorrido para conseguir tal protecção a soros individuais de animais produtores dos efectivos deste Laboratório.

Estirpe de *E. rhusiopathiae*: — Nos ensaios realizados, a fim de tornar mais uniforme os resultados, foi apenas utilizada uma estirpe de *E. rhusiopathiae*, a designada sob o n.º 484 da nossa colecção. Esta estirpe vinha sendo usada nas provas de apreciação do valor do soro do mal rubro — método de Gerlach — dada a regularidade da sua acção patogénica para o pombo. O meio de cultura era o caldo glucosado a 1 ‰, pH 7,4. Nos ensaios utilizava-se uma cultura de 24 horas à temperatura de 37° C. A dose de 0,001 cc. desta cultura, em 0,50 cc, inoculada por via intramuscular no pombo, matava-o, normalmente, em 72 horas, e a de 0,0001 cc, em 0,25 cc, inoculada por via intraperitoneal no ratinho, vitimava-o, na generalidade dos casos, em 4 a 5 dias. A diluição da cultura era feita em soluto fisiológico e a inoculação logo a seguir, para evitar a acção desvitalizadora do soluto sobre *E. rhusiopathiae*, o que verifiquei em ensaios realizados nesse sentido, à semelhança do ocorrido com a *Pasteurella*, DANIELSON (cita CARTER — 1950), e *B. anthracis*, SÁ VIANA e CALDAS FERRAZ (1945).

Método de Gerlach (1934): — O pombo utilizado nos ensaios era, como se disse, adquirido no mercado. Apenas eram ensaiadas as doses de 0,25 cc. e 0,10 cc. de soro, contidas em 0,50 cc. e inoculadas por via intramuscular. Simultaneamente, os pombos eram inoculados, pela mesma via, nos músculos peitorais, lado oposto, com 0,50 cc. da cultura de 24 horas de *E. rhusiopathiae*. Nas provas utilizavam-se dois grupos de pombos inoculados, respectivamente, com as doses individuais citadas, de 0,25 cc. e 0,10 cc. Um terceiro grupo de 4 pombos — grupo testemunha — era, na mesma altura, inoculado, pela mesma via, apenas com a dose individual de 0,50 cc. da mesma cultura do *E. rhusiopathiae*. A letalidade dos pombos no grupo testemunha, verificava-se, geralmente, das 48 às 72 horas. O período de observação era de 15 dias. A dose de soro que, nestas condições, protegia pelo menos 50 % dos pombos inoculados, era considerada como dose protectora média.

Método de Marx (GERLACH — 1934): — Nele se utilizava o ratinho branco de peso médio de 15 gramas, procedente da criação do Laboratório Nacional, em boas condições higio-sanitárias. Nos ensaios referidos apenas duas doses de soro foram experimentadas — 0,025 cc. e 0,01 cc. — contidas em 0,25 cc. e inoculadas por via subcutânea. Ratinhos, em grupos de 10, eram inoculados com a dose individual do soro a estudar — 0,025 cc.

e 0,01 cc. Uma hora depois, os ratinhos eram inoculados, por via intraperitoneal, com 0,01 cc. da cultura de *E. rhusiopathiae*, de 24 horas, contida em 0,25 cc. Na mesma ocasião, cada um de 5 ratinhos — grupo testemunha — era inoculado apenas com dose idêntica da cultura e por igual via. As diluições da cultura e as do soro eram feitas em soluto fisiológico. A letalidade dos ratinhos no grupo testemunha verificava-se, geralmente, das 48 às 96 horas — praticamente às 72. — O período de observação era de 8 dias. A quantidade de soro que, nestas condições, protegia pelo menos 50% dos ratinhos inoculados, era considerado dose protectora média.

## RESULTADOS

Alguns ensaios realizados mostraram que à dose de 0,01 cc. do soro que protege o ratinho segundo o método de Marx, corresponde a de 0,01 cc. que, no de Gerlach, produzia no pombo, efeito protector idêntico. Por sua vez, os soros que protegiam o pombo na dose de 0,25 cc. conferiam apenas protecção ao ratinho com o mesmo método, na dose de 0,02 cc. e 0,03 cc. Contudo, estes soros, destinados à profilaxia do mal rubro, eram aprovados de harmonia com o método de Gerlach. Daqui se infere que da adopção de um ou outro método resultavam divergências quanto à apreciação dos soros em causa, dado que alguns deles, profiláticos, podiam ser aprovados visto protegerem o pombo na dose do 0,25 cc., segundo o preceituado por Gerlach, enquanto teriam de ser regeitados por no método de Marx, não conferirem protecção ao ratinho na dose estipulada de 0,01 cc. Para que fosse mantido o mesmo critério de apreciação em relação à dose protectora de 0,25 cc. no método de Gerlach, realizaram-se os ensaios cujos resultados, transcritos no quadro 1, mostram o grau de correspondência das doses protectoras nos dois métodos — 0,25 cc. e 0,10 cc. no pombo (Gerlach) para 0,025 cc. e 0,01 cc., no ratinho (Marx). A dose de 0,025 cc., utilizada no método de Marx, resultou da média de 0,02 e 0,03 cc. que, normalmente, protegiam o ratinho, como se verificara previamente em relação aos soros profiláticos — protecção com a dose 0,25 cc. no pombo, segundo Gerlach. Deste modo se verifica a constância entre os valores representativos dos poderes protectores no pombo e ratinho, nas condições de experiência, a

qual se processa na relação 10 × ,ou seja, discriminadamente, 0,25/0,025 cc. e 0,10/0,01 cc. Leve discordância de resultados dos dois métodos pode ser verificada quando soros, de valor protector de cerca de 50 %, são ensaiados simultâneamente. Mas esta discordância pode verificar-se nos dois sentidos em relação à dose protectora média — 50 % — nos dois métodos.

Como se disse foi a irregularidade dos resultados dos ensaios no pombo, motivada pelas infestações parasitárias, que justificou o estudo de apreciação do soro do mal rubro no ratinho. Este estudo foi bastante prolongado dada a dificuldade em conseguir lotes de pombos em condições sanitárias, que permitissem eficiente apreciação, havendo, portanto, que seleccioná-los devidamente. Para o conseguir, socorriamo-nos dos dados de observação pessoal decorrente do emprego da cultura de 24 horas da estirpe avirulenta de *E. rhusiopathiae* de Staub, a qual, inoculada na dose de

#### QUADRO I

#### APRECIÇÃO DE SOROS DO MAL RUBRO NO RATINHO (MARX) E NO POMBO (GERLACH) SIMULTANEAMENTE. ESTUDO COMPARATIVO

Número de Soros	Método de Marx			Método de Gerlach		
	Dose de soro inoculado		Testemunhas	Dose de soro inoculado		Testemunhas
	0,01 cc	0,025 cc		0,10 cc	0,25 cc	
1	3/10	0/10	5/5	3/6	2/6	4/4
2	4/10	1/10	5/5	3/6	1/6	4/4
3	3/10	1/10	5/5	2/6	1/6	4/4
4	3/10	0/10	5/5	3/6	2/6	4/4
5	4/10	2/10	5/5	3/6	2/6	4/4
6	2/10	0/10	5/5	2/6	1/6	4/4
7	7/10	2/10	5/5	5/6	2/6	4/4
8	8/10	3/10	5/5	4/6	2/6	4/4
9	8/10	5/10	5/5	5/6	3/6	4/4
10	7/10	3/10	5/5	5/6	2/6	4/4
11	8/10	4/10	5/5	5/6	3/6	4/4
12	7/10	2/10	5/5	4/6	2/6	4/4
13	10/10	7/10	5/5	6/6	5/6	4/4
14	9/10	7/10	5/5	6/6	4/6	4/4
15	8/10	6/10	5/5	5/6	4/6	4/4
16	10/10	8/10	5/5	6/6	5/6	4/4

Numerador = ratinhos mortos.

Denominador = ratinhos inoculados.

