

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN MARCOS

RAUL REBAGLIATI



SOBRE LA SERO-REACCION
DE LA SIFILIS.
(Tesis para el bachillerato en Medicina)

The seal is circular with a double-line border. The outer ring contains the text 'FACULTAD DE MEDICINA DE SAN FERNANDO U.M.M.S.M.' in a serif font. The center features a heraldic crest with a shield, a crown on top, and a banner at the bottom. The shield is divided into four quadrants with various symbols. The banner contains the motto 'SALUS ET VITA'. The crest is flanked by two figures, possibly representing health and medicine.

L I M A - 1910.

Señor Decano,

Señores catedráticos:

La sífilis ha sido, en todo tiempo, campo de observación para los hombres de ciencia. Sus variadas manifestaciones, su desconocida etiología, su resistencia al tratamiento, hicieron de esta enfermedad el cetro de la patología.

Mas, en la última década, la enfermedad de Fracastor ha entrado en una nueva faz, muy fecunda en observaciones y deducciones prácticas, que ha revolucionado totalmente el concepto de su naturaleza.

Se inicia esta época con los estudios de Metchnikoff y Roux, quienes, en 1899, después de numerosas tentativas, prueban la inoculabilidad de la sífilis á los monos antropoides, siendo este el punto de partida para una serie de investigaciones que aclaran notablemente las ideas de inmunidad, de vacunación, de seroterapia y de profilaxia de esta enfermedad.

El descubrimiento del parásito de la sífilis por Schaudinn y Hoffmann, en 1905, dió margen á estudios muy profundos acerca del germen encontrado, quedando demostrada su especificidad y desde luego posible, por la observación directa del treponema *pallidum*, el diagnóstico de ciertas formas de la lés.

En 1906, Wassermann, como consecuencia de este descubrimiento, llegó á aplicar los procedimientos de sero-diagnóstico, inaugurados por Bordet y Gengou, á la diagnosis de la sífilis, estableciendo la reacción que lleva su nombre y que proporciona muy buenos servicios en el estudio clínico de la enfermedad social.

Es el breve estudio de este medio de diagnóstico el objeto del presente ensayo de investigación, que entrego á vuestro benévolo juicio y cuya parte técnica he llevado á cabo en el Instituto de Higiene de esta ciudad.

Siendo la reacción de Wassermann, como todo sero-diagnóstico, un fenómeno biológico que guarda, para su explicación teórica, relaciones con los fenómenos de inmunidad, me ha parecido útil comenzar este trabajo por un capítulo destinado á exponer, muy someramente, los conocimientos que, sobre ese asunto, son generalmente aceptados. En un segundo capítulo estudio los fenómenos de hemolisis, cuestión ligada íntimamente á la práctica del procedimiento. El último contiene la exposición del método, mi modesta contribución personal y las consideraciones que de su estudio se desprende.

ALGUNAS CONSIDERACIONES
SOBRE EL CONCEPTO DE
INMUNIDAD.

Las últimas conquistas de la ciencia biológica, referentes al conocimiento de las propiedades humorales y celulares del organismo, han sido de tal modo importantes, que han hecho variar por completo el concepto de la Inmunidad, fijando sus atributos y asentando sus fundamentos.

La cuestión de la resistencia natural (Buchner) — que envuelve el gran problema clínico de la predisposición más ó menos marcada de los individuos á las infecciones — ha sido objeto, en estos últimos tiempos, de muchos estudios y, á pesar de que aún no puede ser estimada como resuelta, hay hechos que permiten formarse cierto concepto de su mecanismo. Aparte la defensa mecánica que efectúan la piel y las mucosas, con la integridad de sus epitelios, y la acción bio-química que las secreciones ejercen sobre la penetración ó el desarrollo de los agentes morbígenos, está dotado el organismo de propiedades particulares destinadas á destruir ó neutralizar los efectos de la infección (1).

(1) — Hoy se admite como infección la penetración de una sustancia, cualquiera que sea su naturaleza, en el organismo.

Al principio de estos estudios, las teorías celular de Metchnikoff y humoral de Buchner, fueron aceptadas, exclusivamente una de otra, por los autores. Hoy esa intransigencia de escuela ya no existe, las dos teorías han ido armonizándose y tanto la fagocitosis que se opera en las células, como la acción química que los humores ejercen son universalmente aceptadas. Últimamente, con las experiencias de Wright y Douglas, referentes al estudio de las opsoninas que el suero contiene—que corresponden á las estimulinas de Swatchenko— y que, como se sabe, necesitan, para actuar, del concurso del glóbulo blanco, esas teorías se han hermanado aún más y se admite que las reacciones de las células y de los humores se complementan.

Es noción vulgar que un primer ataque de una enfermedad infecciosa transforma al organismo en campo inadecuado para otra infección de la misma naturaleza. "La viruela no repite" se ha dicho siempre y este concepto era el que guiaba en la China y otros países para seguir la práctica in conveniente de la varioloización preventiva y que subsistió hasta el descubrimiento de Jenner, quien demostró la posibilidad de inmunizar, sin inconvenientes, para la viruela, por medio de la inoculación del "cow pox" de los bóvidos. Quedaba, de este modo, erigida la vacunación como método profiláctico.

No fué, sin embargo, fundamentado científicamente este método de inmunización, hasta el establecimiento de la doctrina microbiana. La Bacteriología, en efecto, no se redujo á des-

cubrir los agentes patógenos, sino que dirigió sus esfuerzos hacia la creación artificial de la inmunidad y á la investigación del tratamiento de las enfermedades infecciosas.

Así, Pasteur descubrió las vacunas anticarbórea (1882) y antirábica (1884) y, por consiguiente, ya en esa época se tuvo la idea de que la introducción de un agente infeccioso determinaba en el organismo la creación de propiedades particulares antimicrobianas y cuando la seroterapia fué creada, merced á los trabajos de Behring y Kitasato (1890)—quienes mostraban las propiedades preventivas y curativas del suero de los animales inmunizados contra el tétanos y la difteria—pudo extenderse este principio general, mostrando el poder antitóxico que se procuraba, de este modo, á los diversos humores del organismo.

El conocimiento del fenómeno de Pfeiffer estaba destinado á dar al asunto un nuevo aspecto. Si se inoculara en la cavidad peritoneal de un animal inmunizado contra la infección cólera, algunas gotas de cultivo del vibrión específico, el líquido peritoneal, examinado después de diez á quince minutos, muestra los microbios inmóviles, granulosos, en forma de bolas, en vía de destrucción. Es la aglutinación, seguida de la bacteriolisis de los vibriones.

Este fenómeno, repetido por Charrin y Roger (1889) con el bacilo picrocánico, por Metchnikoff (1891) con el *Vibrio metchnikovi*, por Issaief (1895) con el neumococo, fué generalizado

por Gruber (1895) experimentando con el bacilo tífico y permitiendo á Vidal (1896) el establecimiento del sero-diagnóstico de la fiebre tifoidea, procedimiento que después se hizo extensivo á otras enfermedades microbianas.

Gruber y Barhan aproximaron este poder aglutinante del poder bactericida de los humores de los animales inmunizados y denominaron aglutinina la sustancia hipotética que ejerce esta acción.

Por otra parte, las investigaciones de Bordet (1898) dieron á conocer que el suero de animales inoculados con sangre desfibrinada proveniente de un animal de especie diferente, manifiesta propiedades activas y que consisten en aglutinar y luego disolver con energía glóbulos semejantes á aquellos que fueron inyectados; poseyendo, además, en ciertos casos, el poder de precipitar un precipitado en el suero (ó la sangre desfibrinada) semejante á aquel que sirvió para la inoculación; se admite, en este caso, que se ha formado en el suero activo (seroserum) sustancias denominadas precipitinas. Esta reacción, de relativa especificidad, es de gran importancia en Medicina legal, pues permite identificar manchas de sangre humana.

Partiendo de estos estudios de Bordet, Metchnikoff, Landsteiner, Moxter, &c. hicieron á animales inoculaciones de diversos tejidos, obteniendo sueros que, bajo ciertas condiciones, podían destruir, específicamente, los elementos celulares de esos tejidos. Estos sueros recibieron la denominación de citotóxicos

y es así que prepararon dichos autores un suero capaz de destruir los espermatozoides de cierto animal (suero espermotóxico), el epitelio vibrátil (van Dungern), los leucocitos (Metchnikoff), el epitelio renal (Metchnikoff, Hindermann, &).

Observaciones semejantes hicieron con diversas sustancias Ehrlich. (1891) empleando sustancias de origen vegetal (abrinina, ricina), Calmette y Frazer (1894-95) con sus investigaciones sobre el veneno de las serpientes, & llegando en todo caso á obtener sueros de acción antagónica á la de la sustancia inculcada.

Existe, pues, gran similitud entre todos los fenómenos que se observan en los sueros de animales preparados con diferentes sustancias, ya sean estas los microbios (sueros aglutinantes, bacteriolíticos), sus toxinas (sueros antitóxicos: antitetánico, antidiftérico), ya células animales (sueros citotóxicos: neurotóxico, hepatotóxico, espermotóxico, hemolítico, &) ó bien sustancias de origen celular (albuminas del huevo y del suero, que provocan la aparición de sustancias precipitantes) y hasta toxinas de origen vegetal ó animal (abrinina, ricina, sueros antivenenosos, &).

De modo, pues, que podemos establecer á este respecto, una ley biológica de carácter general diciendo: que todo organismo vivo posee la natural condición de responder á la introducción, en su seno, de sustancias extrañas á él reaccionando merced á la creación de ciertos elementos específicos de defensa, que circulan en su medio sanguíneo y humoral y que gozan del poder de destruir, neutralizar ó modificar las sustancias ino-

culadas ó la acción biológica que producen.

Estas sustancias han sido denominadas con el término genérico de anticuerpos y análogamente, se designa con el nombre de antígenas á todas aquellas sustancias ó elementos figurados capaces, por su penetración en el organismo, de provocar la aparición de anticuerpos.

Esta acción que los sueros ejercen sobre las sustancias extrañas que los organismos de donde provienen han recibido, es decir, los factores de la inmunidad que el organismo opone á la acción de aquellas, se efectúa según la hipótesis de Bordet, merced á la presencia de dos elementos que el suero contiene, independientes uno de otro, pero que no actúan sino cuando se encuentran reunidos.

Uno de estos elementos solo existe en el suero de los animales inmunizados, de acción específica para la sustancia con la cual se ha efectuado la inmunización, resiste á la acción de una temperatura de 55° (termo^{tu}ble), pero, por sí solo es incapaz de producir ninguna acción. Este elemento, al que Bordet denominó materia preventiva ó sensibilizadora, tiene una vasta sinonimia: Inmunicina (Buchner), preparador (Gruber), Zwischenkörper (cuerpo intermediario), anboceptor (Ehrlich, Levaditi), dásmen (London), fixador, filocitasa (Metchnikoff), anticuerpo; denominaciones todas, que están en relación con el papel que, según las diversas teorías para explicar su acción, se han emitido.

El otro elemento, al que Buchner denominó alexina,

existe tanto en el suero normal como en el suero de los animales inmunizados, no tiene acción específica, sus efectos son destruidos por una temperatura de 55° (termolábil) y tampoco produce acción alguna, considerado aisladamente. Ha recibido, además, las denominaciones de citasa (Metchnikoff), por considerársela de origen celular, y complemento 6 adimento (Harlich).

En el suero de los animales inmunizados existe, á la vez, la sensibilizatriz y el complemento. Si este mismo suero es calentado á 55°-56°, solo la sensibilizatriz subsiste y, por consiguiente, el suero resulta inactivo.

En el suero normal, es decir, en aquel proveniente de animales que no han sufrido ninguna preparación, solo el complemento existe y este suero es, igualmente, inactivo.

Ahora, si se mezcla el suero calentado de los animales inmunizados y que no contiene sino la sensibilizatriz, que es inactiva, al suero normal, que no contiene sino el complemento, inactivo igualmente, vuelven á ponerse en contacto las dos sustancias cuya presencia es necesaria y suficiente para que la acción específica pueda manifestarse.

Así queda demostrada la dualidad de acción de las dos sustancias en referencia.

No entraré á discutir la génesis de estas sustancias que, por otra parte, no está todavía completamente dilucidada. Según todas las probabilidades, son de origen leucocitario, pero el mecanismo de su producción varía según el modo de ver de los

autores. Por ejemplo, tratándose del complemento, mientras Buchner sostiene su presencia en la sangre circulante, como producto de secreción de los leucocitos vivos, para Metchnikoff solo sería puesto en libertad á la muerte de estas células, en el momento de la coagulación de la sangre.

Se debe á Bordet la explicación más plausible respecto al mecanismo de acción de estas sustancias y, para comprenderlo, un ejemplo que ofrece fenómenos muy ostensibles es el siguiente: glóbulos rojos de una especie animal dada, puestos en contacto con un suero hemolítico específico, calentado, no conteniendo, en consecuencia, sino la sensibilizadora, toma esta sustancia, despojando de ella al suero específico; en efecto, centrifugada la mezcla, la parte líquida no puede ya ser reactivada por un suero nuevo; por el contrario, la antigena ó sea los glóbulos sedimentados, conservan fijada á ellos, aún después de lavados, la sensibilizadora, pues que, trasportados á un suero nuevo, que no contiene sino complemento, inactivo por sí solo, sufren la hemólisis.

De estas experiencias y otras semejantes se ha deducido que la sensibilizadora sirve de lazo de unión entre la antigena y el complemento, teniendo más afinidad por la primera que por el segundo; de manera que admitiendo, por ejemplo, que el fenómeno hemolítico sea semejante al de digestión realizado por un fermento, la sensibilizadora, colocada entre la antigena y el complemento, sirve como medio conductor de la acción disolvente del fermento (complemento) sobre la antigena/. Es lo que expresó

Ehrlich en la conocida representaciⁿo esquemática siguiente, de los tres elementos: antígena, sensibilizatriz y complemento, antes y después de la reacción:



De modo, pues, que el complemento no se fija sobre la antígena sino cuando una sensibilizatriz lo sirve de intermedio ó, para emplear la comparación de Bordet, el complemento no actúa sobre la antígena sino á la manera de un tinte que, para teñir una tela, tiene necesidad de una sustancia mordiente (la sensibilizatriz). Esto es lo que se denomina reacción de fijación del complemento.

Tratando de penetrar en la esencia misma de la inmunización, ha ideado Ehrlich una teoría muy original, que tiende á hacer de la inmunidad un fenómeno natural de los cambios de constitución de la molécula viva. Expondré brevemente, para terminar el presente capítulo, esta teoría que ha sido denominada de las cadena^s laterales.

Ehrlich considera las células vivas, las moléculas protoplásmicas, como constituidas á la manera de ciertas moléculas químicas que poseen, en la representación de su fórmula des-

arrollada, un núcleo central y varias valencias laterales, algunas de las cuales no están saturadas. El núcleo central es invariable y de este modo asegura el mantenimiento de los caracteres particulares á cada célula. Las valencias no saturadas de las cadenas laterales constituyen, en la molécula viva, lo que Ehrlich llama Receptores.

Por otra parte, toda antígena, tal por ejemplo una toxina, presenta también dos elementos: uno, el núcleo activo, que es la parte esencial, el elemento propiamente tóxico, este es el grupo toxóforo; el otro, grupo aptóforo, destinado solamente á establecer comunicación entre el elemento tóxico y el exterior.

En estas condiciones, y considerando en presencia una célula viva y una antígena, sus elementos centrales activos, este es, el grupo central de la célula y el grupo toxóforo de la antígena, no podrán actuar uno sobre otro, sino cuando las cadenas laterales y el grupo aptóforo se han adaptado íntimamente; es lo que se verifica durante el proceso de la inmunización; en el caso contrario no podrán entrar en relación y todo pasa como si estos elementos no existieran, pues la antígena no tendrá acción alguna sobre la célula. De este modo estaría explicada la resistencia natural.

¿Como se efectúa la inmunización?

Desde el momento de la fijación de la antígena, la célula viva tiene enagenadas sus cadenas laterales, por la acción de los grupos aptóforos; crea entonces una gran cantidad de nuevas

cadena, que se ponen en libertad en los humores del organismo, listas para neutralizar los efectos de una nueva introducción de la antígena. Estas cadenas laterales, circulando en el organismo con los diversos humores, constituyen de este modo los verdaderos anticuerpos específicos.

Vemos, pues, que el fenómeno de la inmunidad, en apariencia tan complejo, se manifiesta de una gran simplicidad al aceptar estas teorías, á tal punto que se podría pensar con Armand-DeLille, queriéndose explicar la inmunidad natural, que el organismo ha sufrido, en el curso de su desarrollo ancestral ó individual, una serie de infecciones y, por consiguiente, ha almacenado una cantidad considerable de anticuerpos contra diferentes agentes nocivos. Ahora, según que el organismo, en el momento de la infección, posea ya los anticuerpos, ó no los posea, ó tenga el tiempo de multiplicarlos, habrá, según los casos; no-infección, infección con curación ó infección mortal.

BIBLIOGRAFIA.

- Armand-Delille.-Contrib. a l'étude des sérums nevrotiques et des lésions qu'ils provoquent.-Ann.Inst.Past.1906p.838
- Bordet. -Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés.-A.I.P.1895 p.225.
- " Sur le mode d'action des sérums preventifs.-A.I.P. 1906 p.193.
- " Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang defibriné (1^{er} mem.) A.I.P.1898.p.685.- " " (2^e mem.) A.I.P. 1899 p.273.
- " Le mecanisme de l'agglutination.-A.I.P.1899-p.225.
- " Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines A.I.P.1903-p.161.
- " Les propriétés des antisensibilisatrices et les théories chimiques de l'immunité. A.I.P.1904 p.593.
- Bordet y Gay.-Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine.A.I.P.1906. p.467.
- Besredka.-La leucotoxine et son action sur le systeme leucocytaire.A.I.P.1900.p.390.
- Calmette.-Contrib. à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques A.I.P.-1895.-p.225.
- " Sur le mécanisme de l'immunisation contr les venins. A.I.P.1898.p.343.
- Calmette y Delarde.-Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les sérums antitoxiques.- A.I.P.1896.-p.675.
- Chauveau.-Sur le mécanisme de l'immunité.) A.I.P.-1888.p.66.
- Danysz.-Contr. a l'étude de l'immunité.-A.I.P.1899.p.581.y A.I.P. 1902.-p.331.
- Delexenne.-Sérums nevrotiques.-A.I.P.-1900.-p.686.
- Dubois.-Sur la dissociation des propriétés agglutinante et sensibilisatrice des sérums spécifiques.A.I.P.1902.p.690.
- Fallose.-Contr. a l'étude des serums precepitants.AIP/1902p.833
- Gengou.-Sur les sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes.- A.I.P.1902 p.734.
- Krauss y Schiffmann.-Sur l'origine des anticorps, precipitines et agglutinines.-A.I.P.-1906.-p.225.
- Levaditi,-Contr. a l'etude de l'origine des anticorps.-A.I.P. 1904.-p.511.
- Lindermann.-Sur le mode d'action de certains poisons rénaux.- A.I.P.-1900.p.49.
- Malvoz.- Le chimiotaxisme des leucocytes et l'immunité.- A.I.P. 1898.p.321.
- Metchnikoff,-Etude sur l'immunité (autre memorias).A.I.P.-1899-p.289,1890-p.65y,p.195.,1891-p.465.,1892-p.289.,1895-p.433.
- " L'état actuel de la question de l'immunité,A.I.P.- 1894.-p.706.

- Metchnikoff.-Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines (cysto-memorias). A.I.P.-1897-p.801., 1898-p.81, y 263., 1900-p.1.
- " Etudes sur la résorption des cellules. A.I.P. 1899-p.737.
- " Sur les cytotoxines.-A.I.P.1900-p.269.
- " L'immunité dans les maladies infectieuses.-Paris-1901.
- Metalnikoff.-Etudes sur la spermotoxine.-A.I.P.1900-p.577.
- Nicolle Une conception générale des anticorps et de leurs effets. A.I.P.1908-p.26., p.132., p.237.
- Rémy.- Contr.a l'étude des substances actives des sérums normaux sur la pluralité des alexines. A.I.P.1903-p.343.
- Roux.- De l'immunité acquise et de l'immunité naturelle. 1891p517.
- " Sur les sérums antitoxiques.-A.I.P.-1894-p.721
- Salazar.-Inmunidad. Higiene y terapéutica de las enfermedades infecciosas.-Madrid.1907.
- Sanarelli.-Moyens de défense de l'organisme contre les microbes après vaccination et dans la guérison.-A.I.P/1903-p.225.
- Swatchenko.-Contr.a l'étude de l'immunité. A.I.P.1897-p.865.
- " Du rôle des immunités dans la phagocytose. A.I.P/1903p106.
- Schmidt.-Un sérum toxique pour les nerfs périphériques. A.I.P.1906. p.601.
- Sleeswijk.-Contr.a l'étude des opsonines. A.I.P.1907-p.983.
- Tarassévitch.-Sur les cytases.-A.I.P.1902-p.127.
- Vaillard.-Sur l'hérédité de l'immunité acquise. A.I.P/1896-p.65.
- Verigo.-Les globules blancs comme protecteurs du sang. 1892-p.478.
- Widal y Sicard.-Etude sur le sero-diagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. A.I.P.1897-p.353.
- Zabolotnoff.-Sur l'existence d'un fixateur dans l'organisme de l'animal jouissant de l'immunité naturelle. A.I.P/1904p.527.

LOS BUEROS HEMOLITICOS -

HEMOLISINAS .

De todas aquellas fenómenos que han sido tratados en la primera parte de este trabajo y que responden á la ley biológica general de la producción de anticuerpos, uno de los más importantes, sobre todo por el papel que desempeñan en las experiencias de sero-diagnóstico, es el referente á la hemolisis.

El glóbulo rojo está constituido por un estroma protoplásmico, condensado en su periferia á guisa de membrana de envoltura. Considerado desde el punto de vista químico, está formado por una proteína coagulable, una materia colorante de naturaleza albuminoidea y que juega el papel principal en su fisiologismo: la hemoglobina; grasas fosforadas ó lipoides y cierta cantidad de sales que contribuyen á mantenerlo en la sangre bajo cierto equilibrio osmótico. Sabemos, por otra parte, que varias de estas sustancias se encuentran en estado coloidal y poseen, por este hecho, propiedades físico-químicas particulares.

La hemolisis es la destrucción de este cuerpo. Las sustancias que lo constituyen se difunden en el líquido en que están contenidos y la hemoglobina, una de ellas, lo tiñe de un color rojo cereza, más ó menos subido, característico.

Esta cuestión data del año 1667, en que Denis practicó la primera trasfusión de sangre, efectuándola de un animal al hombre, con resultado favorable. Con los trabajos de Roufick, Landois y otros se da al asunto un aspecto más científico y se reconoce la diferencia de acción de la trasfusión de sangre efectuada entre individuos de la misma y de diferentes especies; notándose que mientras que la sangre de la misma especie es relativamente bien soportada por el organismo, la sangre de una especie extraña determina una serie de accidentes ~~harto más~~ ~~gravados~~ ~~cuanto~~ ~~más~~ ~~alejados~~ en la escala zoológica son los animales entre los que se realiza la experiencia.

En vista de estos hechos, dejó de ser aplicada la trasfusión de sangre extraña para el tratamiento de las anemias; por eso el asunto disminuyó en interés, aún desde un punto de vista puramente teórico y hubiera llegado á abandonarse si trabajos más recientes no le hubieran dado otro alcance.

Daremberg y Buchner (1891) fijan los factores de la hemolisis y comparan su producción á los fenómenos de bacteriolisis. Belfanti y Carbone (1898) muestran que el suero de un animal inoculado con sangre de especie diferente á la suya, adquiere propiedades tóxicas para los glóbulos rojos de esa especie.

Por su parte Metchnikoff y Bordet (1899) llegan á las mismas conclusiones mostrando, además, que el fenómeno puede producirse in vitro tan bien como en el organismo y que la sustancia que produce su acción sobre los glóbulos rojos es doble (alexina y sensibilizatríz).

Ehrlich y Mongenroth (1899) establecen los mismos hechos que Bordet, fijando mejor el respectivo papel de la sensibilizadora y el complemento. Posteriormente (1900) estudian las isolisinas, es decir, sustancias que ejercen su acción sobre los glóbulos sanguíneos de la misma especie. Las tentativas que hicieron estos autores para obtener autolisinas, que disolverían los glóbulos del mismo animal, no tuvieron efecto.

El fenómeno de la hemólisis puede ser producido por diversos agentes. Entre los de orden físico el principal es el referente a la ósmosis. El cambio de concentración molecular de los líquidos en que los hematíes se hallen contenidos tiene, en efecto, una acción muy marcada sobre estos elementos. En la sangre está el glóbulo rojo en equilibrio osmótico, por el grado de concentración molecular de el suero sanguíneo; pero si se hace variar este grado de concentración, el glóbulo tiende inmediatamente a destruirse y la hemólisis se efectúa. Es por esto que en todas las experiencias que se verifique en este sentido, debe emplearse la solución fisiológica (soluc. de NaCl al 8,5 %) que es isotónica con el suero sanguíneo.

Otros agentes físicos tales como la electricidad, los cambios de temperatura, la presión mecánica y químicos como la acción de los ácidos, álcalis, soluciones salinas, alcoholes, éteres, algunos lípidos, & muchas sustancias de origen animal ó vegetal, son capaces de producir la hemólisis, pero son las acciones de orden biológico las que nos interesan más especialmente

y, sobre todo, aquellos que residen en las propiedades de los sueros. Se denomina hemolisinas ó hemotoxinas á las sustancias que tenidas en estos sueros y que producen tal acción.

El suero de ciertas especies animales posee propiedades hemolíticas espontáneas para los glóbulos rojos de otras especies diferentes. Es así que el suero de caballo puede hemolizar los glóbulos de conejo, cuy y gallina; el suero de perro ejerce la misma acción sobre los hematíes de caballo, conejo, cuy, paloma y gallina y el suero de anguila es hemolítico para los glóbulos de todos los mamíferos, &c. Estos fenómenos se realizan en virtud de la existencia normal de hemolisinas en el suero de dichos animales y que, por esta razón, han recibido la denominación de hemolisinas fisiológicas.

Esta clase de hemolisinas ofrece un gran interés teórico y es necesario, como veremos más adelante, tener presente su existencia; pero son las hemolisinas adquiridas aquellas cuyo estudio nos interesa más especialmente.

método de inmunización. Para determinar en un animal la aparición de un anticuerpo hemolítico con acción hacia una especie animal dada, es necesario inyectarle sangre de esta especie animal. Este es el principio que ha guiado á todos los experimentadores que se han ocupado de la cuestión. Sin embargo los procedimientos seguidos por los diferentes autores varían en ciertos detalles de la técnica. Bordet, Cantacuzéne, Schultze y otros, inyectan sangre desfibrinada; Ehrlich y Mongenroth emplean

la sangre simplemente lacada por el agua destilada. Nolf inyecta los glóbulos sanguíneos obtenidos recibiendo la sangre en solución fisiológica y lavando el depósito en la misma solución.

Respecto al número y frecuencia de las inyecciones, Bordet, Schutze y otros inyectan la sangre en pequeñas dosis y frecuentemente repetidas; Ehrlich y Mongenroth prefieren una sola inyección pero masiva; Cantacuzene, dosis crecientes de sangre en cuatro veces y con doce días de intervalo.

En cuanto á la vía para la inyección, algunos autores escojen el tejido celular subcutáneo, otros el sistema venoso y, los más, la cavidad peritoneal.

Todos estos métodos presentan sus ventajas é inconvenientes y su elección debe variar según los casos. Así, por el empleo de la sangre defibrinada se obtiene una reabsorción lenta del producto inoculado; una reabsorción más rápida se obtiene inyectando sangre lacada; una dosis masiva y única se preferirá cuando se desee obtener rápidamente la acción hemolítica; las dosis fraccionadas son preferibles cuando el animal no soporta bien las inyecciones.

Después de haber empleado casi todos los procedimientos indicados y apreciado sus inconvenientes, creo que debe seguirse la siguiente técnica en vista de obtener un suero de conejo hemolítico para los glóbulos de carnero (suero de conejo anti-carnero), que es el más corrientemente empleado en los procedimientos de sero-diagnóstico.

Glóbulos de carnero.-Se recibe la sangre de una vena yugular, ya sea directamente, ya por medio de un trócar delgado, provisto de un tubo de caucho, en balones que contienen pequeñas bolitas de vidrio; se agita durante diez minutos para hacer total la desfibrinación y se decanta la masa líquida roja, que contiene los glóbulos, en balones que encierran cierta cantidad de solución fisiológica. La mezcla es centrifugada tres ó cuatro veces, renovando en cada una la solución isotónica.

Es conveniente, á fin de no repetir la sangría, extraer la sangre en cantidad; la falta de 150 ó 200 c.c. de este tejido es bien soportada por el animal. Por otra parte, los glóbulos suspendidos en solnc. isotónica se conservan durante mucho tiempo, siempre que se tenga cuidado de esterilizar todo el material que se emplee.

Preparación de los conejos.-Cinco á diez cc. de estos glóbulos, bien lavados, son inyectados cada cinco días, más ó menos en la cavidad peritoneal del conejo. Generalmente 3 á 4 inyecciones bastan para obtener un buen suero. La razón de ser de los lavados y centrifugaciones de los glóbulos es impedir la aparición de los fenómenos, antes desconocidos, de anafilaxia sérica á que pueden dar lugar las inyecciones repetidas del suero de carnero en el organismo del conejo.

He podido comprobar en un caso, durante el curso de estas investigaciones, los accidentes anafilácticos en referencia, y que costaron la vida al animal que había ya recibido la última

inyección preparadora, por la vía hipodérmica. En otra conejo he ensayado con éxito la prevención de los accidentes de anafilaxia experimental, siguiendo el procedimiento de Besredka, que emplea para ello, en forma de enemas, el suero anafilactizante diluido en soluc. fisiológica (aa. 10cc.).

Las inyecciones en la cavidad peritoneal dan los mejores resultados, teniendo cuidado de observar, en cada operación, la más rigurosa asepsia; según mis experiencias, son también las que suministran un suero de mayor poder hemolítico. Las inyecciones subcutáneas dan lugar, frecuentemente, á induraciones y enquistamientos de la materia inyectada. Dada la tenuidad de las venas del conejo, la vía venosa es difícil de emplear.

Ocho á diez días de la última inyección, el conejo está preparado, es decir, apto para suministrar el suero hemolítico y se puede, en consecuencia, proceder á la sangría. Algunos autores aconsejan extraer la sangre de la vena marginal de la oreja, previamente congestionada por el xilol, pero se logra así escasa cantidad de sangre. Mejor es obtenerla de la vena yugular, recibiendo en tubos para coagulación; estos tubos se mantienen en un lugar en que su inmovilidad esté asegurada, pues de lo contrario se obtendría un suero ya algo hemolizado y esto alteraría el resultado de las observaciones posteriores; se recoge el suero al día siguiente en tubos esterilizados, para cerrarles luego al completo.

Antes de pasar adelante haremos notar que es inconducente aumentar el número de las inyecciones con la esperanza de obtener un suero de gran poder hemolítico. La experiencia muestra, en efecto, que, después de un número de inyecciones más ó menos fije para cada especie, el poder hemolítico del suero permanece estacionario para decrecer después progresivamente, sin llegar, sin embargo, á desaparecer del todo.

Constatación de la hemolisina.—Para poner en evidencia la presencia de una hemolisina, se procede, corrientemente, poniendo en contacto el suero hemolítico con los glóbulos de la sangre, obtenidos del modo ya indicado y observando á la simple vista ó al microscopio, la disolución de la hemoglobina. Siguiendo los consejos de London, he empleado con este objeto, la sangre desfibrinada, diluida en 20 partes de soluc. fisiológica. Esta emulsión de glóbulos (al 5%) se mezcla, en cantidades determinadas, con dosis, igualmente determinadas, de suero hemolítico; estas mezclas son luego llevadas al termóstato, durante 15 á 30 minutos, á 37°-38°; de tiempo en tiempo se observa la reacción tanto macroscópica como microscópicamente, notándose en este caso, además de la difusión de la hemoglobina que tinte el campo de un color ligeramente anaranjado, la alteración globular: los hematíes toman un aspecto dentado, irregular, después se aglutinan, se resuelven en pequeñas masas que luego se disuelven en el líquido.

El dosaje del poder hemolítico se efectúa empleando pequeñas probetas ó tubos de ensayo de 5 cc. Generalmente diez

tubos son suficientes; se pone en cada uno la misma dosis de la emulsión globular (1 cc.) y un número de gotas, progresivamente creciente, del suero hemolítico, empleando para esto pipetas bien fabricadas, que den 20 gotas por cc. y llevando ^{luego} estos tubos al termóstato á 37-38°. El resultado varía, naturalmente, con el poder de acción del suero que se emplee. Si la hemolisina falta, es decir, si no se ha producido la inmunización— lo que solo sucede raras veces— la mezcla se separa en dos capas: una superior, incolora y límpida, otra inferior, coloreada, opaca y que contiene un depósito de los elementos sólidos de la emulsión. Si la hemolisina del suero en cuestión posee un poder débil, en los tubos que ~~poseen~~ ^{contienen} pocas gotas de suero la capa superior queda trasparente, para adquirir en los tubos siguientes un tinte cada vez más rojo y la capa inferior, al contrario, más pálida. Frecuentemente en los últimos tubos de la serie, la sangre es destruida completamente y la emulsión se transforma en un líquido uniformemente rojo y límpido. Si esto no tiene lugar se recomienza la experiencia empleando mayores dosis de suero, hasta llegar á determinar la dosis en que actúa.

Un poder hemolítico enérgico en el suero, efectúa la hemolisis completa desde el primer tubo de la serie; en este caso se diluye el suero al 1/10 en solución fisiológica y se repite la experiencia anterior.

Hay que notar que en estas experiencias se obtiene distintos grados de hemolisis. En ciertos tubos se observa el fe-

nómeno solo en el nivel más inferior de la capa superior, aquel que está en contacto con la masa globular y en cada serie se observa una gradación entre esta hemolisis débil y la hemolisis total, es decir, aquella que se efectúa dando á toda la columna líquida el color rojo uniforme. De modo que es conveniente fijar entre que límites se efectúa el fenómeno, es decir la determinación del poder hemolítico del suero.

London, que á este respecto ha hecho un estudio muy completo, designa el poder hemolítico por medio de dos números separados por una línea horizontal; mostrando el número que está situado encima de la línea la proporción en que es preciso mezclar el suero y la emulsión para obtener el más débil efecto hemolítico; el número inferior expresa la cantidad más pequeña que es preciso agregarle para obtener el efecto hemolítico máximo. Ejemplo: V_h (vis haemolitica) = $\frac{0.10}{0.25}$ — indica que los primeros signos de hemolisis, en el suero estudiado, se efectúan empleándolo en la proporción de 2 gts (cada gota = $1/20$ cc. ó sea 0.10cc.) por 1 cc. de emulsión globular al 5 %; y 5 gts. para obtener la destrucción completa (5 gts. = $5/20 = 0.25$).

Su especificidad es el carácter más importante de este fenómeno, es decir, que el suero de un animal preparado con glóbulos de una especie animal dada, adquiere la propiedad de destruir solo los hematies de esta especie y no los de otra especie animal cualquiera. Es verdad que esta especificidad de las hemolisinas no es completamente absoluta, como tampoco lo

es la de las aglutininas, ni las bacteriolisinas, pues si bien el máximo de su acción hemolítica se realiza sobre los glóbulos de la especie con la cual se efectuó la inmunización, obran también, aunque con menos intensidad, sobre los glóbulos procedentes de especies cercanas. Pero esta especificidad se muestra tal por el hecho de que la acción hemolítica se manifiesta con sueros diluidos en proporción que es insuficiente para repetir el fenómeno con las otras especies.

Ya señalamos el mecanismo de acción de los sueros inmunizados. Siguiendo la ley general, el poder hemolítico resulta de la acción combinada de las dos sustancias, sensibilizadora y complemento, que el suero contiene y que es posible separar porque son destruidos por el calor a temperaturas diferentes.

Tomemos un suero de conejo, preparado, según la técnica establecida, hemolítico para los glóbulos de carnero. Si este suero es calentado a una temperatura de 55-60° durante media hora, y puesto luego en presencia de glóbulos de carnero, el suero en estas condiciones es incapaz de efectuar la hemólisis. El complemento del suero específico ha desaparecido por la acción del calor y solo la sensibilizadora, que no es destruida sino a 70°, existe; de modo que para reactivar este suero hay que agregarle un complemento y esto se consigue por la adición de un suero nuevo y fresco—pues el complemento se altera con el tiempo a la temperatura ordinaria—y que no haya sufrido la acción del calor.

Como el complemento no tiene acción específica, puede ha-

cese uso de un suero proveniente de una especie animal cualquiera, teniendo siempre en consideración la presencia de hemolisinas naturales. De preferencia se emplea el de cuy, porque no presenta esta acción hemolítica espontánea, por lo menos á las dosis en que es empleado para la reacción.

Para terminar esta sección, expondré las conclusiones del trabajo de Rémy sobre los sueros hemolíticos y que pueden ser estimadas como leyes á que está sujeta esta reacción:

1a.-Dada una cantidad de glóbulos rojos, la intensidad del fenómeno de hemolisis es proporcional á las dosis de suero hemolítico empleado.

2a.-En presencia de un exceso de complemento, la intensidad del fenómeno de hemolisis es proporcional á las dosis de sensibilizatriz que han intervenido en las reacciones.

3a.-En presencia de un exceso de sensibilizatriz, la intensidad del fenómeno de hemolisis es proporcional á las dosis de complemento empleadas.

4a.-En presencia de la cantidad mínima de complemento, capaz de provocar la globulolisis, la intensidad del fenómeno de hemolisis es proporcional á las dosis de sensibilizatriz; es decir, que la cantidad constante de complemento, en su límite de actividad, se une á dosis variables de sensibilizatriz.

5a.-En presencia de una cantidad mínima de sensibilizatriz, capaz de provocar el fenómeno de la hemolisis y de dosis variables de complemento, la intensidad del fenómeno hemolítico es proporcional á las dosis de complemento, es decir, la dosis constante de sensibilizatriz, en su límite de actividad, puede combinarse á dosis variables de complemento.

Ya veremos más adelante, toda la importancia que tienen estas leyes en la práctica del soro-diagnóstico.

BIBLIOGRAFIA.

- Besredka.-Du traitement préventif de l'anaphylaxie (anti-anaphylaxie).Bull.Inst.Past.1909-p.720f
- Bordet.- Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang defibriné.(Des memorias)Ann.Inst.Past.1898-p.687 y 1899-p.273.
- " Les sérums hemolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques.A.I.P.1900-p.257.
- Camus y Gley.-Nouvelles recherches sur l'immunité contre le sérum d'anguille.A.I.P.1899-p.779 (notas).
- Cantacuzene.-Sur les variations quantitatives et qualitatives des globules rouges, provoqués chez le lapin par les injections des serum hemolytique A.I.P.1900 p.378.
- Gengou pa Recherches sur le agglutination des globules rouges par les precipites chimiques et sur la suspension de ces precipites dans le milieu colloidaux A.I.P.1904 p.678
- Laidau.-Etudes sus l'hemolyse.A.I.P.1903-p.52.
- London.-Contr. a l'etude des hemolysines.Ann.des Sciences Biologiques de St.Petersburg.1900-p.885 y siguientes.
- mioni.-Contr.a l'etude deshemolysines naturellesAIP/1903;p.84.
- Nelf.- Contr. a l'etude des sérums antihematiques.AIP.1900 p297.
- Rémy.- Contr.a l'etude des sérums hemolytiques.A.I.P.1905 p766 y 1906 p.1018.

LA DESVIACION DEL COMPLEMENTO)

REACCION DE BORDET Y GENGOU

SERO-REACCION DE LA SIFILIS .

En los capítulos anteriores hemos fijado el papel que, respectivamente, juegan la antígeno, la sensibilizadora y el complemento. Sabemos que cuando estos tres elementos se encuentran reunidos, se realizará su combinación (reacción de fijación del complemento) y que, inversamente, cuando la reacción se produzca, esto indicará que los tres elementos se han puesto en relación.

Bordet y Gengou han utilizado estos principios al fundar las bases de los procedimientos de sero-diagnóstico.

Con las nociones que poseemos podemos darnos cuenta de que, teniendo á nuestra disposición dos de los tres elementos — antígeno, sensibilizadora y complemento— es fácil investigar el tercero. Se trata, por ejemplo, de conocer si un líquido X contiene complemento. No hay más que agregar á este líquido una antígeno y su sensibilizadora específica para que la reacción de fijación del complemento se produzca.

Se desea investigar en un suero la presencia de un anticuerpo determinado. El problema se reduce á calentar el suero á 55-55f, durante media hora, para conservarle solo la sensibilizadora y, en seguida, ponerlo en presencia de su antígeno y del

complemento , que lo suministra un suero fresco.

Así se procede para el diagnóstico de la naturaleza de ciertas infecciones ó bien de la calidad de ciertas antígenas.

Pero si son muchos los casos en que las reacciones son tangibles, hay otros en que los efectos de la reacción de fijación son poco aparentes y, entonces, se hace intervenir, para apreciar su realización, un método de investigación indirecto.

Según lo expuesto en el capítulo anterior, el suero de un animal inmunizado contra los glóbulos rojos de otra especie, calentado y puesto en presencia de glóbulos semejantes á aquellos con que se efectuó la inmunización, realizarán la fijación de la sensibilizadora sobre los glóbulos. Por la adición de un suero fresco de cuy, los glóbulos sensibilizados fijarán el complemento y se producirá la hemólisis.

Esta reacción puede servir, pues, para investigar el complemento, pues el fenómeno hemolítico se producirá ó no según que el líquido con que se mezcle los glóbulos sensibilizados, contenga ó no el complemento. Es lo que se verifica en el caso siguiente: El suero de un animal inmunizado contra la infección colérica, calentado y puesto en presencia de vibriones coléricos, realizará la fijación de la sensibilizadora sobre los vibriones. Si se agrega un suero nuevo de cuy, los vibriones sensibilizados fijarán el complemento.

Ahora, para darnos cuenta de este fenómeno agreguemos á este sistema, glóbulos sensibilizados/ Como estos glóbulos no encuentran complemento en la mezcla, pues este elemento ha sido

fijado por los vibriones sensibilizados, no puede efectuarse su hemolisis. En este caso se dice que los vibriones han desviado el complemento.

Si, en esta reacción, en lugar de emplear un suero anticelérico, se hubiera empleado otro suero cualquiera, el complemento del suero de cuy, no fijándose sobre los vibriones—por la falta de sensibilizadora específica del suero empleado—se hubiera encontrado libre, es decir, que no habría sido desviado, pudiendo entonces realizarse la hemolisis al agregar á la mezcla los glóbulos sensibilizados.

Tenemos pues de este modo un nuevo procedimiento de investigación que ha sido denominado método de desviación del complemento ó método de Bordet y Gengou.

Puede decirse, de manera general, que para investigar en un suero dado ^{la presencia} de determinado anticuerpo, es suficiente poner en relación una muestra de este suero, calentado á 55 á 56° grados ^{la} con antígena correspondiente, agregar un suero nuevo y, después, glóbulos sensibilizados. La desviación del complemento, revelada por la ausencia de hemolisis, manifestará la existencia de tal anticuerpo .

Invirtiendo los términos de la reacción, es posible también, investigar una antígena determinada, siempre que se posea un suero que contenga el anticuerpo correspondiente.

Este método fue empleado por primera vez por Bordet y Gengou (1901), quienes llegaron á encontrar en ciertos sueros específicos, anticuerpos en relación con el bacilo pestoso, el rouget del puerco, la vacuna anticarbonosa, el bacilo tífico y el *Proteus vulgaris*. Posteriormente Neisser y Sachs se han servido de la desviación del complemento para la determinación de la especie animal de donde procede la sangre de una mancha, Wassermann y Bruck han utilizado también esta reacción para investigar en los órganos de animales tuberculosos la tuberculina, como antígeno tuberculosa, y la antituberculina, es decir, un anticuerpo antituberculínico. Uhlenhuth, por medio de la reacción de Bordet y Gengou, ha podido hacer la diferenciación de la albúmina de la sangre y Bruck ha podido efectuar un sero-diagnóstico de la tuberculosis miliar aguda y de la meningitis cerebro-espinal. Por su parte Miller y Hoppensheim lo han empleado para investigar la presencia de un anticuerpo en el suero de un enfermo atacado de una artritis gonocócica y Bruck en una infección de la misma naturaleza.

Después se ha ensayado la reacción de Bordet y Gengou en casi todas las enfermedades infecciosas, tanto del hombre como de los animales, en muchos casos con resultados favorables. Widal y Le Sourd en la fiebre tifoidea, Negrida y Joff con el cólera Kerschum y Lebfreid con la fiebre recurrente, Cohen con la meningitis cerebro-espinal y otros autores con diferentes infecciones, han llegado á generalizar el método, habiendo aplicado Ganchov y Abram, con la lepra y Ganchov, Bin y Polheim, con la *psittacosis*, *fringilla*, *strabismus*, *steomyia* las necrosis son igualmente tributarias de las leyes biológicas generales. Widal, Bruch, Poltrain y Weil han

podido encontrar, por medio de la reacción de fijación del complemento, sensibilizatrices específicas en el suero de los individuos atacados de sporotricosis, actinomicosis y muguet.

Weiberg Weinberg, Laubry y Parvu han encontrado ~~asimismo~~ que el suero de individuos atacados de equinococosis contenía anticuerpos específicos, fáciles de poner en evidencia por la reacción de Bordet y Gengou empleando ^{como} antígeno el líquido del quiste hidático del carnero.

Según parecen las enfermedades producidas por proteozos no dan lugar a la aparición, en el suero sanguíneo, de anticuerpos específicos, a juzgar por los resultados ^{han} que ^{han} llegado De Blas experimentando con el paludismo humano y Della Vida con las tripanosomiasis experimentales.

Entre nosotros Tamayo y Gastiaturán ^{han} llevado a cabo trabajos de esta especie con la Enfermedad de Carrión, sirviéndose como antígeno del bacilo simil-tífico, germen de contaminación secundaria de este ^{estado} infeccioso.

Punto muy importante de esta cuestión es el que se refiere a la especificidad de los anticuerpos que intervienen en las reacciones que, a este respecto, siguen las mismas condiciones que sus congéneres las precipitinas, aglutininas, hemolisinas, etc., esto es, que su acción no siempre ~~parcial~~ se dirige exclusivamente hacia la antígeno respectiva, habiendo algunos casos en que, además, ejercen acción sobre antígenos de naturaleza vecina. La acción de los sueros típicos por ejemplo, no solo se efec-

tía con los bacilos de Eberth, es decir, para la antigena tífica, bajo ciertas condiciones esta acción se hace también efectiva con los gérmenes paratíficos.

La utilización de la desviación del complemento como medio de diagnóstico exige, pues, que se realicen ciertas condiciones relativas á las propiedades de los anticuerpos. Por otra parte, tiene importancia el momento de la evolución clínica de la enfermedad en que estos anticuerpos existen en el suero. Se sabe que es en el curso mismo de la infección que esta condición se realiza; hecho de gran interés cuando de infecciones agudas se trata.

Conocida esta reacción y en posesión de los últimos descubrimientos en materia de sífilis, especialmente de su germen patógeno, Wassermann y sus colaboradores, Neisser y Bruck, trataron de aplicar la desviación del complemento al diagnóstico de esta enfermedad infecciosa, investigando, en el suero de los sífilíticos la existencia de anticuerpos específicos.

En la imposibilidad de obtener una antigena pura, por no haber sido posible, hasta hoy, cultivar el treponema—á pesar de todas las tentativas hechas en este sentido—buscaron, para emplearlos como antigena, tejidos que contuvieran este germen en abundancia. Así, hicieron uso de tejidos extraídos de chaneros y productos sífilíticos secundarios, obteniendo los mejores resultados con el hígado de heredo-sífilíticos recién nacidos que, examinado al microscopio, muestra una cantidad de parásitos considerable.

No quedaba con esto resuelto el problema. Es sabido que los elementos figurados desvían mecánicamente el complemento, cuando están presentes en una reacción de esta naturaleza; por consiguiente la antigena preparada por emulsión de tejidos sifilíticos, contenía esos elementos en gran proporción.

Resulta de las primeras experiencias de Wassermann y Bruck (1905) que, en los procedimientos de desviación del complemento, se puede reemplazar las antigenas organizadas, es decir, las emulsiones de cuerpos bacterianos, que empleaban Bordet y Gengou, por antigenas no organizadas, ó sea extractos microbianos. Emplean en su práctica, como antigena, el líquido que resulta después de centrifugar esas emulsiones y que no contiene, en consecuencia, cuerpos microbianos. Posteriormente (1906) estos autores han investigado, de esta manera, anticuerpos específicos en los individuos tuberculosos, empleando como antigena tanto la tuberculina bruta de Koch como la nueva tuberculina BE (emulsión bacilar). De este modo han mostrado que extractos de órganos tuberculosos del hombre y de ciertos animales son capaces de fijar el complemento sobre estas antigenas.

Es posible, pues, á falta de cultivos microbianos, y aún de los extractos de estos cultivos, emplear como antigena los extractos de órganos infectados. Así procedieron Wassermann, Meisser y Bruck al aplicar la reacción al diagnóstico de la sífilis. Menos inoculados con productos sifilíticos de origen humano ó simio, suministraron sueros en los que estos autores demostraron

la existencia de anticuerpos sensibilizadores. En efecto, los sueros fijaban el complemento, empleando como antigena extractos de órganos sifilíticos de diversa procedencia: órganos de niños ó de fetos heredo-sifilíticos, placentas de sifilíticas en el periodo secundario, gomas órganos de menos sifilizados. El suero de menos normales se mostró, al contrario, inactivo, así como las antigenas preparadas con órganos normales. Repitiendo estas experiencias con sueros humanos específicos, llegaron estos autores á conclusiones semejantes y la reacción de Wassermann quedó erigida como método de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis.

Conocidos estos preliminares, voy á exponer detalladamente este método, tratando de no apartarme, en conjunto, de la técnica establecida por Wassermann.

Como para todo procedimiento de sero-diagnóstico que utiliza la reacción de Bordet y Gengou, tenemos necesidad de disponer de una antigena, el suero sospechoso, complemento y un sistema hemolítico. Según la exposición hecha precedentemente, parecería, a priori, que para ejecutar esta reacción no habría más que procurarse los ^{elementos} que en su realización concurren, pero las dificultades comienzan á presentarse desde que se reconoce que, para la exactitud de los resultados, todos los términos de la reacción deben estar perfectamente dosados y en proporcionada relación entre sí. Vimos ya que la intensidad de los fenómenos de hemolisis guarda relación con la proporción de los elementos que concurren á determinarla. Frente á eso, mucho más complicado, por el

mayor número de factores que en la reacción intervienen, se requiere mayor exactitud, pues cualquier aparte de técnica puede falsear el resultado.

La circunstancia de haber tratado algunos de los elementos de la reacción en los capítulos anteriores, me permite ser breve aquí.

En la reacción de Wassermann se emplea como antígeno el extracto de un tejido sífilítico, generalmente el hígado de un feto ó de un recién nacido heredo-sífilítico. El autor del método prepara la antígeno moliendo el tejido y agregándole después Soluc. fisiológica fenicada á 0,5 p.100, en la proporción de 1 p. 4 partes. Esta emulsión es intróducida en un frasco de color oscuro y agitada fuertemente durante 24 Horas. El líquido que resulta después de centrifugación, de un color bruno, opalescente, constituye la antígeno sífilítica, que deberá ser conservada en la nevera, en frasco bien tapado.

Levaditi prepara un extracto de polvo de órgano y aconseja proceder de este modo: se muele finamente el órgano fresco ó, cuando no se posee un aparato destinado á este objeto, se corta en muy pequeños fragmentos, sometiéndolo después á la desecación en el vacío. Esta desecación debe hacerse en capa delgada para no prolongar mucho la operación, sirviéndose para esto de un recipiente de gran superficie, una placa de Petri v.gr. El producto, bien seco, es pulverizado finamente y conservado en la nevera. Para emplearlo, se pone en maceración, durante 24 horas, una pequeña cantidad de este polvo en soluc. fisiológica, en la proporción de

1 p.15 á 20 partes. El líquido que se obtiene después de centrifugación es la antígena.

De ambos modos la antígena se altera fácilmente, pudiendo calcularse que su duración, en buen estado, no excede de un mes.

El polvo del órgano, preparado según el procedimiento de Levaditi sirve también para preparar un extracto alcohólico (1 p. per 30 de alcohol absoluto). Después de 24 horas de contacto, se decanta; el extracto es diluido al 1/10 en soluc. fisiológica, para su empleo como antígena. El extracto alcohólico tiene la ventaja de no alterarse con facilidad.

Suero sospechoso. - Por medio de una aguja provista de un tubo de caucho, asépticos, se toma la sangre directamente de una vena. A veces los enfermos oponen resistencia á la punción venosa; en este caso no hay inconveniente para obtener la sangre delidido, efectuando una incisión. De uno á otro modo se depositará la sangre en tubos para coagulación, extrayendo el suero al día siguiente y cuidando de mover el tubo lo menos posible á fin de poder usarlo claro, sin hemolisis del coágulo. Se le coloca en tubos cerrados al soplate, para hacerles sufrir después, durante media hora, la acción de una temperatura de 55-56° á fin de destruir el complemento cuya presencia, en cantidad desconocida, alteraría el resultado de la reacción. Además Boas ha probado que los sueros no calentados pueden, aún siendo normales, dar la reacción de Wassermann. En las condiciones señaladas, puede el suero ser conservado indefinidamente.

Vamos a complementar se emplea el suero fresco de cuy, que no tiene acción hemolítica espontánea, en la proporción en que se emplea, para ninguno de los animales de laboratorio. Se observan las precauciones señaladas para extraer la sangre y obtener el suero, el que puede ser empleado durante la semana que sigue a su obtención; después, el suero se altera, perdiendo poco a poco sus propiedades aléxicas. Hay necesidad, sin embargo, de efectuar una prueba práctica para cerciorarse de que no realiza espontáneamente la hemolisis.

Ya conocemos como se obtiene el sistema hemolítico. Corrientemente se emplea una emulsión al 5 % de glóbulos de carnero, lavados en soluc. isotónica y un suero de conejo hemolítico para los glóbulos de carnero, calentado a 55;56°.

Se presenta ahora la parte más difícil del procedimiento y es la relativa a la titulación de los elementos que en la reacción intervienen.

Es conveniente comenzar por establecer el título del suero hemolítico, porque éste va a servir de base a la titulación de los otros elementos. En el capítulo anterior hemos dado a conocer el procedimiento general para determinar el poder de acción de los sueros hemolíticos, tal y como se obtienen después de hacer la sangría a los animales preparados. No es esa, sin embargo, la manera de proceder cuando se trata de emplearlos para reconocer la desviación del complemento, pues en este caso se emplea el suero desprovisto de su alexina, la que va a ser agregada a la misma dosis que en los tubos de experiencia. Esta titu-

lación es indispensable porque no todos los sueros que se obtienen ofrecen el mismo poder hemolítico. He obtenido sueros tan activos que, para ser empleados, ha habido necesidad de diluirlos hasta al 1/50; al contrario, otros debieron ser usados sin dilución alguna.

Para medir todos estos elementos debe hacerse uso de finas pipetas graduadas en décimas de cc. Es fácil construir estas pipetas; pero creo que más cómodo, tanto por la rapidez con que se procede cuanto por cierta economía en el gasto de los productos, cambiar por un número proporcional de gotas las décimas de cc. que, como unidad de medida, aparecen en los cuadros de experiencia que más adelante presento. No es difícil, en efecto, obtener gotas perfectamente iguales, empleando pequeñas pipetas Pasteur muy bien calibradas y todas del mismo diámetro. Debe observarse como recomendación, no usar con un producto una pipeta que haya servido para medir otro sin lavarla cuidadosamente en solución fisiológica.

El adjunto cuadro, tomado de la monografía de Joltrain, muestra la manera de proceder para efectuar la titulación de la sensibilizadora hemolítica:

| N° de los tubos. | Suero hemolítico, calentado. | Complemento Suero cuy. | Serue. fisiológica. | Dilución de glóbulos al 5 %. | Resultados al cabo de un tiempo variable, en un termóstato á 37° |
|------------------|------------------------------|------------------------|---------------------|------------------------------|--|
| 1 | 0,5 | 0,1 | 0,4 | 1 | Hemolisis total en 1/4 de hora. |
| 2 | 0,4 | 0,1 | 0,5 | 1 | id. |
| 3 | 0,3 | 0,1 | 0,6 | 1 | id. |
| 4 | 0,2 | 0,1 | 0,7 | 1 | Hemolisis parcial en 1/4 h., total en 1/2 h. |
| 5 | 0,1 | 0,1 | 0,8 | 1 | Hemolisis parcial en 1/2 h. |
| 6 | 0,05 | 0,1 | 0,8 | 1 | Hemolisis muy ligera en 1/2 h. |
| 7 | 0,01 | 0,1 | 0,9 | 1 | Hemolisis nula. |
| 8 | - | 0,1 | 0,9 | 1 | id. |

La experiencia se realiza empleando pequeños tubos de ensayo, dispuestos en fila, en un soporte de madera. En estos tubos se mezcla, en el orden que el cuadro indica, los diversos términos de que consta la prueba. En una semejante á la que el cuadro indica es la dilución del suero que aparece en la columna correspondiente al tubo N°5, es decir, la dilución al 1/10, la que es preciso emplear.

Experiencia semejante, aunque más minuciosa, hay que efectuar con la antigena, en vista no solo de titular su acción sino de convencerse de que no es espontáneamente hemolítica. Ade-

más he hecho notar la circunstancia de que, por tratarse de un extracto de células hepáticas, unido al extracto de treponemas, puede haber desviación de 1 complemento.

La manera de disponer estas pruebas está representada en el cuadro siguiente, tomado de la monografía de Armand-Delille:

| I | | II | | | Resultado después de 1/2 hora, al término. |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------------|-----------------------------|--|
| Extracto de higado sifilítico. | Complemento cuyo diluido es 1/2. | Soluc. fisiológicas. | Sangre de carnero al 5 %. | Suero hemolítico, calentado | |
| 0,05 | 0,1 | 0,75 | 1 | 0,1 | Hemolisis total. |
| 0,1 | 0,1 | 0,7 | 1 | 0,1 | id. |
| 0,2 | 0,1 | 0,6 | 1 | 0,1 | id. |
| 0,3 | 0,1 | 0,5 | 1 | 0,1 | H. casi total. |
| 0,4 | 0,1 | 0,4 | 1 | 0,1 | H. incompleta. |
| 0,5 | 0,1 | 0,3 | 1 | 0,1 | H. parcial. |

Muestra este cuadro que 0,2 de antigena es la proporción en que debe ser empleada en las experiencias.

Se tropieza algunas veces con una dificultad dependiente de la calidad del suero de cuyo empleado. Es frecuente, en efecto encontrar sueros que á juzgar por los resultados de las anteriores pruebas, contienen un complemento dotado de poder mayor

que el corrientemente observado. Esta dificultad puede subsanarse diluyendo el suero en cuestión y procediendo por tanteos hasta llegar á determinar el grado de dilución en que debe ser empleado.

Con estos elementos y después de haber tomado todas las precauciones indicadas, podemos efectuar la reacción de Wassermann. La experiencia se realiza en diez tubos en los cuales se mezcla los factores de la reacción en proporciones diversas pero siempre definidas, según los resultados de las pruebas que particularmente á cada uno se ha hecho anteriormente y, por razones fáciles de comprender, en el orden que el siguiente cuadro indica. Tubos testigos, en los que no intervenga el suero sospechoso ó es reemplazado por suero normal, deben servir para emplearlos como experiencias de control.

He aquí la representación explicativa de la manera como es dispuesta la experiencia y los resultados que corresponden á una reacción positiva.

CUADRO DE LA REACCION DE WASSERMANN.

| № de los tubos | Anti- gens. | Suero X. | Comple- mento. | Sol. fisiso 1681- ca. | Termóstato a 37°, durante 3 horas. | Suero hemo- 141- 00. | Hilo- pulos al 5%. | Resultados |
|----------------|----------------|-------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|---------------|
| 1 | 0,1 | 0,2 | 0,1 | 1,5 | Termóstato a 37°, durante 3 horas. | 0,1 | 1 | No hemolisis. |
| 2 | 0,2 | 0,2 | 0,1 | 1,4 | | 0,1 | 1 | No hemolisis. |
| 3 | 0,3 | 0,3 | 0,1 | 1,5 | | 0,1 | 1 | No hemolisis. |
| 4 | - | 0,2 | 0,1 | 1,6 | | 0,1 | 1 | Hemolisis. |
| 5 | 0,1 | - | 0,1 | 1,7 | | 0,1 | 1 | Hemolisis. |
| 6 | 0,2 | - | 0,1 | 1,6 | | 0,1 | 1 | Hemolisis. |
| 7 | 0,3 | - | 0,1 | 1,5 | | 0,1 | 1 | Hemolisis. |
| 8 | - | - | 0,1 | 1,8 | | 0,1 | 1 | Hemolisis. |
| 9 | - | - | - | 1,9 | | 0,1 | 1 | No hemolisis. |
| 10 | - | - | 0,1 | 1,9 | | - | 1 | No hemolisis. |

Los tubos 1, 2 y 3, que contienen dosis progresivamente crecientes (0.1, 0.2, 0.3) de antígena, el suero sospechoso y una cantidad constante de complemento y á los que, después de dejarlos en el termóstato á 37-38°, durante tres horas, se ha agregado el suero hemolítico y los glóbulos, son los que dan el resultado de la experiencia. La falta de hemólisis en estos tubos indica la existencia de anticuerpos sífilíticos en el suero examinado; al contrario, la hemólisis traduce la ausencia de la sensibilizadora específica. El tubo 4 sirve de testigo para el suero empleado, pues en este no interviene la antígena; en caso de reacción positiva deberá presentar la hemólisis. Este mismo fenómeno deberá realizarse en los tubos 5, 6 y 7 que contienen la antígena en la misma proporción que los tubos 1, 2 y 3 pero sin encerrar suero; de modo que para que la reacción tenga valor, hay necesidad de que la hemólisis se efectúe en estos cuatro últimos tubos, pues sabemos que hay ocasiones en que la antígena, por sí sola, es capaz de desviar el complemento. Si se presenta el caso de que en los tres primeros tubos solo se haya realizado una ligera hemólisis, pero en ningún modo comparable á la de los testigos correspondientes, se acepta la reacción como ligeramente positiva (Jeltrain).

El tubo 8 muestra el valor del suero hemolítico, reactivado por el complemento; hemoliza en pocos minutos. El tubo 9 no hemoliza pues no contiene complemento; sirve para cerciorarse de que el suero hemolítico ha sido bien inactivado por el calor. Se puede agregar á la experiencia un último tubo N° 10 para juzgar la acción del complemento del suero de cuy no debe hemolizar tampoco.

Reconocida la estrecha relación que la parálisis general, el tabes dorsal y otras enfermedades nerviosas guardan con la sífilis, se ha tratado de aplicar la reacción de Wassermann para el diagnóstico de estas enfermedades, empleando el líquido cefalo-raquídeo en lugar del suero sanguíneo. Wassermann y Plaut, Marie, Levaditi y Yamanouchi y después de ellos muchos autores han hecho investigaciones en este sentido, llegando a comprobar que, en efecto, el líquido cefalo-raquídeo de estos enfermos es capaz de desviar el complemento. Los mejores resultados han sido obtenidos en casos de parálisis general, habiéndose podido obtener reacciones positivas en un 93 % de los casos, con la particularidad de que por el empleo del suero sanguíneo de estos mismos enfermos solo pudo alcanzarse un 60 % de casos positivos. Para el sero-diagnóstico de estas enfermedades es preferible, pues, emplear el líquido cefalo-raquídeo.

Otros humores normales ó patológicos, la orina, la saliva, el líquido ascítico, v. gr. han dado resultados inconstantes cuando se ha querido verificar la reacción con enfermos en distintos periodos de la sífilis. Los que se alcanzan con leche de mujeres sifilíticas son más importantes.

La reacción de Wassermann, tal como ha sido descrita y concebida, ha sido objeto, desde la aparición del trabajo de su autor, de infinitas críticas referentes, unas á la especificidad y valor del procedimiento, otras á la naturaleza misma de la reacción.

Wassermann, Neisser y Bruck emprendieron y continuaron sus investigaciones, en el concepto de la existencia, en el suero de los sífilíticos y en el líquido cefalo-raquídeo de los parálisis generales, de una sensibilizatrix específica con acción sobre la antígena correspondiente y bajo la dependencia del germen específico de la enfermedad, es decir, que, según ellos, la reacción se verifica con sujeción á los fenómenos y leyes generales que Bordet formuló respecto al mecanismo de la inmunidad. Diversos autores se han encargado de demostrar lo poco fundado de esta aserción, tratando de probar cuán distante está el sero-diagnóstico de la sífilis de ser comparable á la reacción de Bordet y Gengou.

La primera objeción se refiere á la especificidad de la antígena. Muchos autores, entre ellos Levaditi, han podido obtener reacciones positivas empleando como antígena extractos acuosos de órganos sanos, sin relación alguna con el *Treponema pallidum* (hígados normales, corazón de cuy) y, sobre todo, los extractos alcohólicos de órganos diversos en estado normal ó patológico (Corazón humano y de cuy, cerebro, glóbulos sanguíneos, órganos tuberculosos, tumores malignos, etc.).

Obteniéndose por medio del alcohol sustancias capaces de actuar sobre el suero sífilítico, fijando el complemento, se ha pensado si serían los lípidos las sustancias que intervendrían eficazmente en la reacción. En apoyo de esta opinión está el hecho de haberse podido repetir la reacción de Wassermann, empleando como antígena soluciones de ciertas sustancias tales como la lecitina

na, la colesteroína, el protagón, la vaselina, etc. Además, Levaditi y Yamanouchi han realizado la reacción haciendo uso de taurocolato y, especialmente, de glicocolato de sodio, partiendo de la suposición de que sería el extracto alcohólico de la bilis del hígado empleado, la sustancia que suministraría el cuerpo activo en la reacción. Pero Weil y Braun han demostrado que despojado el tejido hepático de los lípidos, por medio del éter de petróleo, es todavía capaz de fijar el complemento, con la concurrencia del suero sifilítico. Por esto Weil piensa que las sustancias albuminoideas no son extrañas á la producción del fenómeno y que si, como está probado, el extracto de órganos normales desvía el complemento, lo hace en menor escala que los tejidos ^{sifilíticos} y llega á admitir que la sustancia activa sea un cuerpo normal, que actuaría solo, ó bien con el concurso de otra sustancia de naturaleza desconocida y desarrollada en el seno de los tejidos, en virtud de la infección sifilítica.

Cuanto á la naturaleza del anticuerpo específico, Marie y Levaditi han demostrado que el virus sifilítico no puede ser modificado por la acción del líquido cefalo-raquídeo de los paralíticos generales. Idéntica constatación han hecho metchnikoff y Roux y Neisser para el suero sifilítico de origen humano ó simio. Es difícil pues, con esto, admitir que se trate de una verdadera sensibilizatriz específica, en el concepto que le reconocen las doctrinas de la inmunidad.

Fundados en estas observaciones, Levaditi y Yamanouchi explican la reacción de Wassermann admitiendo que las sustancias

liq. c6f-raquídeo

activas del suero de los sífilíticos y del suero de los paráliticos generales, serían sustancias lipoides, que existirían también, aunque en menor grado, en el suero normal, pudiendo precipitarse por la acción de los lipoides y de las sales biliares y fijando de este modo el complemento; sustancias que si existen en mayor abundancia en los individuos sífilíticos es porque en esta afección habría destrucción de materiales ricos en lipoides. La diferencia entre el suero normal y el sífilítico solo estaría en la cantidad de lipoides en ellos contenidos. Este modo de ver estaría abonado por la propiedad que tiene el suero sífilítico de precipitar las soluciones coloidales, la lecitina especialmente.

Otros autores explican el fenómeno por una variación en la estabilidad de las globulinas del suero, dependientes de la reacción química de la sangre; observando que un suero específico que se muestra débil á la reacción de Wassermann, es activado por pequeñas cantidades de ácido y, al contrario, inactivado por los álcalis. La alcalinidad del suero estaría disminuida en la sífilis, pudiendo, así, precipitar las soluciones coloidales. La fijación del complemento por este precipitado, sería uno de tantos casos de su fijación mecánica.

Como se vé no satisfacen lo suficiente las diversas explicaciones que, respecto á la naturaleza de la reacción de Wassermann, han hecho los autores. Este es verdaderamente un asunto que dista mucho de estar resuelto, pero no puede dudarse desde ahora de que, dada la magnitud de las objeciones expuestas —al contrario de

la primera concepción de Wassermann— la sere-reacción de la sifilis no es comparable, como fenómeno biológico á la reacción de Bordet y Gengou.

Como consecuencia de estas diferencias de apreciación de los autores y en vista de las dificultades que hay que vencer para hacer práctica la reacción de Wassermann, ha nacido una serie de procedimientos tendentes á simplificar el ~~procedimiento~~ ^{método}.

Stern y Hecht utilizan el complemento que, naturalmente, encierran los sueros específicos.

Bauer suprime en la reacción el suero hemolítico de conejo anti-carnero y aprovecha la sensibilizadora normal que, para los glóbulos de carnero, existe en el suero humano.

Brucker y Galasasce habrían obtenido por el primero de estos procedimientos una proporción de casos positivos mayor que con el Wassermann tipo. Pero Jossuet y Paraskevopoulos, habiendo hecho investigaciones cuantitativas sobre el tenor en complemento de los sueros humanos, sanos y patológicos, aconsejan no sustituir jamás, en la reacción de fijación, el complemento humano al de cuy, por ser el suero humano muy pobre en complemento. Por otra parte, sabido es que el complemento, cualquiera que sea su procedencia, se debilita rápidamente con el tiempo, de modo que, como hace notar Gengou, los métodos que emplean, en la reacción, el complemento de los sueros sometidos al examen, no pueden dar buenos resultados, pues estos sueros (sifilítico, normal y sospechoso) pueden no tener

exactamente el mismo tiempo de extraídos. Por estas mismas razones es defectuoso el procedimiento de Tschernogghou— que reemplaza los glóbulos de carnero por los de la sangre del enfermo cuyo suero se examina y el suero de conejo anti-carnero por el de conejo anti-humano—pues se sirve también del complemento del suero que se examina.

Respecto al procedimiento de Bauer, según ha hecho notar Stern, no todos los diversos sueros humanos tienen la misma cantidad de sensibilizatriz hemolítica normal, pues falta en los lactantes y en un 10 % de los adultos. Del mismo argumento en contra es susceptible el procedimiento de Foix, basado sobre la existencia de hemolisismas naturales en el suero humano, para los glóbulos del conejo.

Las modificaciones han llegado al extremo de efectuar simples reacciones de precipitación con el suero sospechoso. Así, Förgs mezcla, en volúmenes iguales, una emulsión de lecitina al 1/100 en solución fisiológica y deja la mezcla al termóstato durante 5 horas; la formación, al cabo de este tiempo, de un fino precipitado en la superficie del líquido, indica la reacción positiva. Pero esta reacción no tiene especificidad, por conducirse del mismo modo sueros de enfermos no sífilíticos. Resultado semejante se obtiene con el método de Klausner, que consiste en producir el precipitado por simple adición al suero de agua destilada.

Una modificación interesante—por los resultados que proporciona, tan acordes con los suministrados por el método de Wassermann

sermann—es el procedimiento de Noguchi. Difiere del de Wassermann, en su esencia, por el empleo de un sistema hemolítico anti-humano, en vez del sistema hemolítico anti-carnero. Para Noguchi, esta modificación es de importancia real, pues, "el método de Wassermann está sujeto á un error resultante de que el suero humano contiene una cantidad variable de sensibilizadoras, susceptibles de reactivar el complemento de cuy", es decir, que por el método de Wassermann, la presencia de anticuerpos sífilíticos puede pasar inadvertida por el hecho de la existencia de esas sensibilizadoras. Esta fuente de errores sería eliminada, según Noguchi, empleando su procedimiento porque al usar, como indicadores hemolíticos, hemáticos y suero humanos, ninguna sensibilizadora hemolítica natural, extraña, puede estar accidentalmente presente, siendo de este modo más sensible la reacción de fijación del complemento.

Noguchi emplea como sistema de hemólisis un suero hemolítico de conejo anti-humano y glóbulos humanos. La preparación de estos elementos, en lo referente á la técnica, difiere poco de los procedimientos anteriormente descritos. El complemento es agua, también, el suero fresco de cuy; la antígeno es un extracto de órgano ó de lecitina, diluido en soluc. isotónica; solo unas pocas gotas del suero del enfermo son necesarias para el examen.

Para hacer el método más aplicable á las investigaciones clínicas, Noguchi lo ha simplificado todavía más, por el empleo de los reactivos desecados sobre papel de filtro que, según sus experiencias, conservan las propiedades de que están dotados, durante mucho tiempo.

El autor obtendría empleando su método, mayor proporción de reacciones positivas que siguiendo el procedimiento de Wassermann. Para Jeltrain los dos procedimientos sean perfectamente comparables.

Resultados muy interesantes he obtenido por el empleo de un método que Noguchi y Moore han descrito para diagnosticar las afecciones para-sifilíticas del sistema nervioso. ~~Resultados muy interesantes~~ investigando proteidos ó proteo-globulinas en el líquido cefalo-raquídeo. Consiste este método en agregar á 1 cc. del líquido cefalo-raquídeo sospechoso, 5 cc. de una solución de ácido butírico al 10 %; se calienta hasta ebullición, se agrega, rápidamente, 1 cc. de una solución normal de sulfato de amoníaco y se lleva el todo á la ebullición. La formación de un precipitado granuloso indica la reacción positiva.

He podido obtener dos de estas reacciones: una en un enfermo atacado de esclerosis lateral amiotrófica y otra en un caso de tabes dorsal, ambos con antecedentes sospechosos de sífilis, con el primero de los cuales se ha presentado la reacción de Wassermann (v. más adelante caso n°4). Obtive, al contrario, una reacción negativa con un enfermo de tabes, sin antecedentes específicos.

He efectuado solo trece veces la reacción de Wassermann típica, con sueros de individuos sífilíticos reconocidos y unas veces, con sueros normales ó provenientes de enfermos no sífilíticos ó sospechosos de sífilis otros. En los trece casos los resultados han estado conformes con los obtenidos por su autor.

Las reacciones positivas han sido obtenidas en los seis casos siguientes:

- 1.- Sífilis secundaria (accidentes cutáneos: exzema generalizado, vegetaciones papilomatosas del pene)
- 2.- Condiloma sífilítico de la margen del ano;
- 3.- Placas mucosas de la cavidad bucal;
- 4.- Esclerosis lateral amiotrófica (enfermos sospechosos de sífilis)
- 5.- Pérdida de sustancia en las fosas nasales y cavidad bucal (antecedentes claros de sífilis)
- 6.- Roseola sífilítica;

Los siguientes casos han dado reacción negativa:

- 7.- Sujeto normal;
- 8.- Endocarditis reumática;
- 9.- Tuberculosis pulmonar;
- 10.- Sujeto normal;
- 11.- Sífilis tratada;
- 12.- Sujetos sospechosos de sífilis (insuficiencia aórtica, alicho-lismo)
- 13.- Hepa (forma mixta)

De la observación de esta corta estadística se desprende deducciones de relativa importancia, pues he obtenido reacciones positivas en los seis únicos casos en que, por los antecedentes del enfermo y por los datos suministrados por el examen clínico, la naturaleza sifilítica de la enfermedad era indudable. La observación n° 11, corresponde á un caso para mí de gran interés y que voy á historiar brevemente.

En abril del año próximo pasado fui consultado privadamente por un sujeto de 19 años de edad; este joven presentaba, abarcando el surco balano-prepucial y la corona del glande, una lesión ulcerosa con todos los caracteres de un chancre infectante. Hice un examen microscópico del jugo de este chancre y pude comprobar la presencia del treponema pallidum, empleando á este efecto el colorante de Giemsa. A pesar de ciertas recomendaciones en contra de un tratamiento precoz de la sífilis - Curioni piensa que este tratamiento puede impedir la producción de anticuerpos - instituí desde el día siguiente á este examen, el tratamiento mercurial, dando preferencia para ello á las inyecciones de aceite gris; seguí este sistema hasta hace dos meses, época en que el enfermo abandonó la Capital. He examinado á este joven sistemáticamente y con frecuencia y el único trastorno que pude sorprender en su organismo fué un pequeño infarto ganglionar, cervical ó inguinal, á partir de los cincuenta días mas ó menos después de la aparición del chancre; por los demás, su estado general no sufrió menoscabo apreciable.

El examen del suero sanguíneo extraído al enfermo días antes de su viaje, dió resultado negativo á la investigación de la reacción de Wassermann.

Este caso, como se comprende, se presta á discusión; se pudo llevar á cabo el examen del suero en oportunidad inmediata á la aparición del accidente primario; pero, requiriendo tal investigación procedimientos que no era posible realizar en corto plazo, se obtuvo la comprobación de la naturaleza específica de la afección, mediante la presencia del treponema en la preparación microscópica efectuada.

No bastaría la falta de reacción sérica, para deducir la curación de este caso; pues, según los últimos estudios, el método de Wassermann dista de ser una norma infalible para guiar el tratamiento antisifilítico. Lejos de esto, se admite que el tratamiento influye de manera notable en el resultado de la reacción. Por otra parte, conocidas las sorpresas que la sífilis proporciona, no sería extraño que en ese enfermo, descuidadas las advertencias que recibió a su partida, se presentaran con el tiempo algunos de los trastornos propios del mal adquirido, y pueda obtenerse entonces una reacción positiva.

Por cierto que la exigüedad de los casos consignados anteriormente no autoriza á juzgar del valor de la reacción ni de sus aplicaciones prácticas; pero nos suministra base apreciable para el estudio, que haremos en seguida, de las consideraciones y

deducciones á que ha dado lugar la reacción de Wassermann. Siendo tan numerosos los trabajos que sobre este tema han sido publicados, sería difícil hacer su exposición detallada, por lo que trataré, muy sucintamente, las observaciones á que han dado origen.

Resulta de la observación de estadísticas publicadas por autores de reconocida competencia (Bering, Blachsko, Blumenthal, Bruck, Citron, Fischer, Hoffmann, Wassermann, Joltrain, Levaditi, Meier, Michaelis, Müller, Neisser, &) que, tomando los casos en conjunto, la reacción de Wassermann se muestra positiva entre el 70 y el 90 % de los casos de sífilis; que la frecuencia de la reacción varía según se trate de los distintos periodos de ~~esta~~ esta enfermedad, obteniéndose una proporción de 50 % en el periodo primario, 92 % en el secundario y 71 % en el terciario, siendo esta frecuencia mayor durante las épocas en que la lés se manifiesta en actividad, que en los periodos de acalmia. Hoffmann y Blumenthal solo han encontrado una proporción de 52% de reacciones positivas en casos de sífilis latente.

Las observaciones efectuadas durante el periodo primario han dado resultados variables, lo que es debido á que los exámenes han sido realizados en fechas más ó menos distantes de la infección. Según Lesser, la reacción no puede resultar positiva sino tres semanas después de la aparición de l chancre. Mi opinión es que, para la práctica, no hay gran utilidad en efectuar la reacción durante el accidente primario, siendo mucho más sencilla la observación de un preparado á investigar así la presencia del treponema. Solo sería lógica-

mente aplicable en los casos en que este examen no fuera posible, dada la situación de la lesión específica, la uretra, v.gr.

Solo en excepcionales ocasiones la reacción se muestra positiva en ~~infecciones~~ en que la presencia de la sífilis no parece probable. Existen observaciones de esta clase en sujetos sanos ó atacados de diversas enfermedades (pleuresía tuberculosa, carcinoma de la mama, lepra, escarlatina, leucemia mielógena y ciertos estados caquetizantes). Wassermann y sus colaboradores explicaban estas excepciones admitiendo la presencia de anticuerpos en los individuos sanos ó la existencia, en ciertos sujetos, de una sífilis ignorada. Pero hoy que no se concibe el sero-diagnóstico de la sífilis del mismo modo que sus autores, podría explicarse el hecho admitiendo que ciertas enfermedades, especialmente aquellas que producen rápido desgaste en el organismo, tienen como efecto poner en libertad en el suero sanguíneo, productos semejantes á aquellos que, en la infección sífilítica, intervienen para que la reacción se produzca.

En las enfermedades mentales y del sistema nervioso la utilidad del sero-diagnóstico es incontestable, en razón de la frecuente etiología específica de estas enfermedades. Kavart, Breton y Petit, para no citar sino un ejemplo, han observado á este respecto 400 alienados, entre los cuales había 76 paralíticos generales, con 71 de los cuales obtuvieron reacciones positivas; los 5 tabéticos examinados dieron el mismo resultado, así como algunos casos de idiotía, semi-idiotía, &c. Levaditi y Marie, habiendo efectuado la reacción por el empleo á la vez del suero y del líquido céfalo-raquídeo de

los enfermos sometidos al examen, recomiendan en este caso particular, ~~la ejecución de~~ la reacción, eligiendo este último humor, por obtenerse así un mayor porcentaje de reacciones positivas.

El sero-diagnóstico es muy útil para despistar los trastornos viscerales de la sífilis, pues estos accidentes no tienen, por lo común, ningún signo característico. Esmein y Parvu, que han encontrado la reacción positiva por el empleo ya del suero y ya del líquido ascítico, han podido reconocer la naturaleza sífilítica de ciertas cirrosis del hígado.

La reacción suministra también útiles indicaciones en las enfermedades cardio-vasculares. Laubry y Parvu la han encontrado positiva en la mayor parte de las afecciones aórticas. Joltrain ha obtenido análogos resultados en dos casos de aneurisma aórtico. Observaciones muy interesantes ha hecho este último autor, encontrando la reacción positiva en 6 casos sobre 15 de hipertensión con albuminuria y en 5 casos de nefritis sífilíticas, con lo que se conseguiría indicaciones muy útiles cuando se duda en atribuir á la sífilis ó al mercurio el papel principal en la etiología de las lesiones renales.

En fin, una serie de investigadores se preocupan constantemente de la aplicación del sero-diagnóstico de la sífilis; casi no hay número de revista médica en que deje de publicarse alguna observación al respecto, según las cuales la psiquiatría, la obstetricia, la pediatría, la oto-rino-laringología, &c, benefician constantemente con este procedimiento.

La heredo-sífilis ha sido objeto de un estudio especial, por medio de esta reacción, habiéndose tratado de verificar las leyes de Colles y de Profeta, según las cuales la madre de un niño sífilítico está, desde la concepción, al abrigo de la infección sífilítica y el hijo nacido sano de una madre sífilítica está inmune para la sífilis. Thomsen y Boas, Bauer y otros, piensan que las madres, declaradas inmunizadas por la ley de Colles, están, en realidad, en estado de sífilis latente, pues se observa casi siempre en ellas, una reacción positiva. Además, han presentado la reacción de Wassermann niños, aparentemente sanos nacidos de madres sífilíticas. Creo que los resultados obtenidos no son suficientes para declarar infundadas esas leyes seculares, pues, hasta ahora, no sabemos qué es lo que se investiga por medio de la reacción de Wassermann en el suero sanguíneo y aún aceptando que de anticuerpos específicos se trate, esto probaría, incontestablemente, la precisión de las leyes, pues no de otro modo podría efectuarse la inmunidad.

Ha sido objeto de muchas discusiones el punto referente á la influencia que, sobre la aparición del fenómeno, pueda ejercer el tratamiento. Bruck y Stern, Citron, Lesser y otros autores demuestran que, después de un tratamiento mercurial, sobre todo si este es intensivo y prolongado, el suero ya no presenta, en un considerable número de casos, la reacción de Wassermann. Pero es difícil admitir por completo las conclusiones de la comunicación de Blaschko al último congreso de Budapest,

quien pretende que la reacción se debilita en el curso del tratamiento y acaba por volverse negativa; ni mucho menos aceptar que el resultado de la reacción pueda servir de base para guiar el tratamiento - continuándolo mientras la reacción se muestre positiva - pues, como se expresa Joltrain, "no se sabe si una reacción positiva es el hecho de una sífilis en actividad ó si indica solamente que el suero examinado pertenece á un antiguo sífilítico".

Bruck demuestra esta influencia del tratamiento presentando casos que, habiendo reaccionado antes de su institución, dejaron de presentar la reacción durante el curso del tratamiento. Pero al lado de estos casos hay otros en los cuales no puede sorprenderse la menor modificación en el fenómeno; Citron ha explicado el hecho de modo muy ingenioso invocando "el aprendizaje de las células del lústico á formar anticuerpos, lo que las conduciría á continuar su producción, aún cuando las lesiones sífilíticas hayan desaparecido".

Modificada, pues, la concepción teórica de la reacción de Wassermann y en vista de los resultados suministrados por numerosas estadísticas, respecto á la frecuencia de su aparición en las distintas épocas de la evolución clínica de la sífilis - así como la influencia del tratamiento sobre el éxito de la reacción, no debe aceptarse de modo incondicional las enseñan-

zas que una reacción negativa suministra.

Dadas las observaciones de reacción positiva en estados patológicos que no tienen relación con la sífilis, habría la misma consideración. Pero si se tiene en cuenta el diagnóstico diferencial clínico, generalmente, fácil, de esta enfermedad con aquellos estados morbosos, se comprende toda la importancia que una reacción positiva entraña. Por esto, hasta hoy, la mayor parte de los investigadores se unen para reconocer en el serodiagnóstico de la sífilis un precioso medio de investigación, con proyecciones hacia la profilaxia de esta enfermedad, aplicable en el matrimonio, la lactancia, la prostitución, &c.

Creo, con lo expuesto, poder concluir que el procedimiento estudiado, á pesar de las dificultades que envuelve su ejecución, debe entrar en la práctica corriente, pues, establecido el hecho de que los fenómenos que lo determinan no guardan relación con las leyes generales que rigen el mecanismo de la inmunidad, el método de Wassermann no desmerece, por esto, como procedimiento de diagnóstico de la sífilis.

Lima, noviembre de 1916.

BIBLIOGRAFIA.

Armand-Deville.-Le mecanisme de l'immunité. Anticorps, antigenes et déviation du complement. Paris, 1909.
Castou et Girault.-Guide pratique du diagnostic de la syphilis Paris- 1910.
Joltrain.-Nouvelles méthodes de sero-diagnostic. Paris -1910.
Levaditi & Koché.-La Syphilis.-Experimentation, microbiologie, diagnostic. Paris -1909.

Colección- Annales de l'Institut Pasteur.
" Bulletin de l'Institut Pasteur.
" The Lancet
" El Policlínico.
" Revue d'Hygiène et de Police Sanitaire.
" C.R. de la Société de Biologie.
" La Presse Médicale.
" Bulletin de la Soc. Franc. de Dermatologie et de Syphiligraphie.
" Annali d'Igiene Sperimentale.
" Rivista d'Igiene e Sanità Pubblica.