

MICRORREACCION PARA EL DIAGNOSTICO DE LA LUES PRACTICADA SOBRE SUERO O SANGRE DESFIBRINADA Y SECA

Por RICARDO A. MARGNI

Es el examen serológico, sin duda alguna, una de las investigaciones de mayor importancia, dentro del conjunto de las que habrán de llevar al clínico al diagnóstico positivo o a la negación de lues.

Las reacciones de fijación del complemento y de floculación han sido desde hace mucho tiempo las de rutina. Hállanse muy en boga actualmente, las llamadas microreacciones de lectura microscópica o reacciones por gota, debiéndose destacar entre éstas, las de Kline, Mazzini, Chediak, etc., cuya importancia es fundamental en los servicios de pediatría, y en los enfermos excitables o de venas de delgado calibre, que obligan al laboratorista a efectuar un verdadero esfuerzo para poder extraer los mililitros de sangre necesarios para practicar las reacciones de Wassermann o Kahn. Igual podemos decir de los servicios de homoterapia, estudios estadísticos en escuelas, cuarteles, fábricas, etc., siendo al decir de Dahr, en estos casos, donde juegan papel primordial, dada la simpleza de la ejecución y la fidelidad de los resultados, comparables a los obtenidos con las clásicas macrorreacciones.

Los antígenos utilizados en todos los casos están constituidos por extractos lipídicos, colesteroles o no, los que al mezclarse con cantidades variables de soluciones salinas suministran las suspensiones antigénicas que a distintas dosis se emplean en las reacciones diagnósticas.

Siendo la fracción insoluble en acetona del extracto lipídico de corazón de bovino, la más sensible y específica tanto para las reacciones de floculación como de fijación del complemento, según estudios de Brofenbrenner, M'Kenzie, Noguchi, Browing, Kline, etc., la mayor parte de los

antígenos actualmente empleados, contienen cantidades definidas de esta fracción. El extracto lipídico usado como antígeno en la nueva microrreacción diagnóstica, que se hará conocer a continuación, se prepara en forma tal que evita el titulado y estandarización, conteniendo además porciones constantes de la fracción acetona insoluble.

Debo llamar la atención sobre cierta similitud que existe entre las cantidades de antígeno y solución salina, así como su concentración y la dosis de suspensión antigénica y suero utilizados en la reacción que se estudia, con la de Meinicke M.K.R.II. Ello se debe a que el antígeno aquí empleado, ligeramente modificado, fué elaborado en 1946 y constituía el tema de mi tesis del Doctorado en Bioquímica: "La reacción de Chediak. Ensayos sobre la elaboración del antígeno de Meinicke M.K.R.II., de preparación incompletamente conocida, utilizado en la misma".

Hecha esta advertencia pasaré a describir la preparación del antígeno y la técnica de las microrreacciones objeto de este trabajo.

Preparación del extracto lipídico antigénico.

1) *Material utilizado:* A - POLVO DE CORAZON BOVINO: Se toman cuatro o más corazones de vaca con el fin de obtener un producto homogéneo (Los que he utilizado pesaban término medio 1250-1350 gr. cada uno. Es de hacer notar que con corazones de ternera de 750-850 gr. cada uno, he obtenido polvos que daban extractos de poder antigénico casi nulo, visto lo cual conviene que cada uno prepare su propio polvo, cuidando utilizar corazones de peso conveniente), se elimina la grasa y restos de vasos y se utiliza únicamente la masa muscular. El material así preparado se pasa por máquina picadora de carne por tres veces consecutivas; la masa muscular desmenuzada se extiende en bandejas y se lleva a la estufa de aire 50°C-55°C durante 24 horas. Al final de las mismas, se remueve el material para facilitar la desecación de la porción interior y se lleva nuevamente a la estufa durante 24 horas. Transcurrido este tiempo se remueve nuevamente el material y si aún no se hallase seco se deja en estufa el tiempo conveniente.

El material seco así obtenido se tritura y pulveriza en un mortero y se pasa por tamiz de alambre muy fino, con el objeto de lograr como producto final un polvo homogéneo.

Este polvo se conserva bien durante bastante tiempo en frasco de vidrio con tapa de rosca o tapón parafinado.

B. — SOLUCION ALCOHOLICA DE COLESTEROL AL 0,75 POR CIENTO: Dan muy buen resultado aquellas preparadas con alcohol etílico rectificado (98° - 99°) y Colesterol C. P. pptd. from alcohol for Kline test, de Pfanstiehl Chemicals.

Para su preparación se coloca en un Erlenmeyer de 250 ml. de capacidad 0,75 gr. de colesterol, se le añaden 100 ml. de alcohol y se calienta suavemente a baño de maría, agitando continuamente, hasta disolución.

C. — ÉTER ETILICO: Puede utilizarse éter comercial siempre que se lo someta al tratamiento indicado a continuación, ya que el mismo tiene por objeto eliminar los peróxidos, alcohol, ácido acético que pudiera formarse durante la eliminación de los peróxidos, etc.

Investigación de peróxidos: En tubo de ensayo colocar 5 ml. de éter y adicionarle 5 ml. de la solución siguiente:

Ioduro de potasio (libre de iodo)	10 gr.
Acido acético glacial	10 gr.
Agua destilada	100 ml.

Agitar enérgicamente, dejar reposar y observar si la capa acuosa toma color amarillento, lo que indicaría presencia de iodo libre y por tanto de peróxidos en el éter. Para visualizar mejor puede añadirse una gota de solución acuosa de almidón, al uno por ciento, observándose en el caso de que en el éter hubiese peróxidos, coloración azul violácea.

Como el éter comercial tiene peróxidos y alcohol, debe ser sometido a tratamiento especial para su eliminación.

Tratamiento seguido en la purificación del éter: En un balón o matraz de dos litros de capacidad se colocan 300 ml. de la siguiente solución:

Permanganato de potasio	0,30 gr.
Acido sulfúrico al 10 %	10,00 ml.
Agua destilada	1000,00 ml.

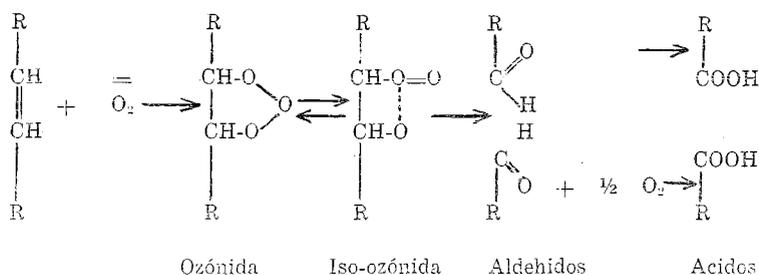
y se le adiciona un litro de éter. Se agita enérgicamente para que toda la masa de éter se ponga en contacto con la solución de permanganato; se deja en reposo durante cinco minutos y se vuelve a agitar como antes; se deja reposar y por decantación se separa la mayor cantidad po-

sible de éter. El resto puede separarse en ampolla de decantación.

El éter así obtenido se pasa a un balón de dos litros y se trata por tres veces con 200 ml. de agua destilada. Dada su solubilidad en agua, el alcohol que pudiera contener el éter es eliminado en su mayor parte durante los lavajes acuosos, al igual que las pequeñas porciones de ácido acético que se hubieran formado por el tratamiento con permanganato de potasio.

Si después de este tratamiento el éter quedara turbio, lo que indicaría que contiene agua emulsionada, se lo deja reposar en ampolla de decantación por unas horas, hasta que la separación sea completa, o en caso contrario se lo somete a una destilación fraccionada.

La eliminación de los peróxidos tiene por objeto evitar el efecto oxidante de los mismos sobre los lípidos del músculo cardíaco. Si así no se hiciera, los compuestos orgánicos y ácidos grasos con dobles ligaduras serían transformados por acción de los peróxidos en azónidas y luego en aldehídos y ácidos de menor número de carbonos, perdiendo en parte, el extracto lipídico sus propiedades antigénicas.



D. — ALCOHOL: Puede utilizarse indistintamente alcohol etílico de 95° o el absoluto del comercio (98° - 99°). Antígenos muy buenos he obtenido empleando alcohol de 95° parcialmente deshidratado con sulfato de cobre anhidro. El sulfato de cobre anhidro se obtiene calentando en cápsula de porcelana $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ previamente pulverizado. El $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ a emplear no debe ser muy ácido.

Para deshidratar el alcohol se coloca en un balón de un litro de capacidad, 500 ml. de alcohol etílico de 95° y 25 gr. de sulfato de cobre anhidro; se agita vigorosamente 15 minutos, se deja en reposo media hora y se filtra.

Si el alcohol empleado en la preparación del extracto

lipídico antigénico es de graduación inferior a 95°, hay peligro de que precipite el colesterol.

E. — ACETONA: Debe emplearse acetona purísima, libre de agua.

F. — PAPEL DE FILTRO: Ha de ser de buena calidad. El más adecuado es el de Schleicher y Schull N° 602.

G. — SOLUCION "BASICA": Esta solución "básica" es la que va a ser utilizada en la elaboración del antígeno definitivo, y se prepara de la siguiente manera:

1) 100 gr. de polvo de corazón bovino, colocados en un balón o Erlenmeyer de 500 ml. de capacidad, se agitan con 200 ml. de éter purificado, durante 5 minutos; se deja en reposo 10 minutos y se filtra. (Todos los corchos deben estar recubiertos de papel de estaño de buena calidad).

2) Se repite la operación anterior dos veces más, pero con 150 ml. de éter.

3) El polvo húmedo se lleva a estufa a 37° C, o a temperatura ambiente, hasta eliminación total del éter.

4) Se coloca el polvo parcialmente desengrasado en un extractor de Soxhlet y se extrae con alcohol rectificado (98° - 99°) hasta agotamiento. La extracción dura aproximadamente 8 a 9 horas. Deben utilizarse más o menos 250 ml. de alcohol, y la llama del mechero debe ser pequeña para evitar el recalentamiento de los lípidos, o en su defecto emplear una platina calentadora. Terminada la operación y separado el extracto alcohólico, se mide, y si su volumen no llegara a 200 ml. se completa con alcohol rectificado.

5) Con las extracciones etéreas de las operaciones 1) y 2) se prepara "A" de la siguiente manera:

Se evapora el éter (Por destilación, pues de esta manera se recupera y va a servir para una nueva extracción), y al concentrado lipídico aún caliente se le agregan 40 ml. de alcohol rectificado; se agita durante 5 minutos, se deja en reposo otros 10 minutos y se filtra. Se deja en reposo 12 horas a temperatura ambiente y se procede a una nueva filtración. Este extracto constituye "A".

6) Se agrega "A" al extracto alcohólico anterior 4), se deja 24 horas a temperatura ambiente y se filtra.

7) Se concentra (por destilación para recuperar el

alcohol) hasta consistencia adecuada, es decir, hasta eliminación casi total del alcohol, lo que se sabe porque el festón que se forma en la pared del matraz es de 2 a 3 mm. de altura y además sobre la superficie líquida aparecen pequeñas esferitas que se mueven vivamente.

8) El extracto aún caliente se vierte sobre 250 ml. de acetona purísima previamente calentada a 50° C y contenidos en un Erlenmeyer de 500 ml. de capacidad.

9) Se agita suavemente 5 minutos y se deja en reposo durante 15.

10) Se separa el insoluble de la solución acetónica, la que se filtra y se le elimina la acetona por destilación para recuperarla.

11) Los dos resíduos lipídicos, el soluble y el insoluble en acetona se dejan a temperatura ambiente durante 18 horas, tiempo suficiente para que se eliminen los últimos restos de acetona. Transcurrido este tiempo se dejan en estufa a 37° C durante 72 horas, para aumentar la sensibilidad de los lípidos antigénicos.

12) Se agrega a cada resíduo 70 ml. de alcohol etílico rectificado, se calientan suavemente a baño maría para disolver, agitando con una varilla de vidrio y se llevan a estufa a 37° C durante una hora. Se sacan, agitan y llevan a heladera (0° - 5° C) 30 minutos.

13) Se filtran, evaporando el alcohol a baño maría y las últimas porciones en la estufa; se pesan, agregando 5 ml. de alcohol por cada gramo de extracto, se agitan y llevan a heladera. Transcurridos 15 minutos se toma la fracción acetona insoluble y se filtra. La fracción acetona soluble se deja en heladera 60 horas, se retira y filtra. Este enfriamiento de dos días y medio de la fracción acetona soluble tiene por objeto eliminar cierta porción lipídica que en nada influye en la sensibilidad y especificidad del antígeno definitivo, pero sí en la estabilidad de la suspensión antígeno-solución salina, disminuyéndola.

14) Estos extractos alcohólicos mezclados en la proporción de:

2,5 partes de insoluble en acetona

1,0 parte de soluble en acetona.

constituyen la solución "básica" con la que se prepara el antígeno definitivo.

La mezcla del total de estas dos fracciones para la obtención de la solución "básica" no debe hacerse hasta

tanto no se hayan practicado los ensayos definitivos sobre estabilidad de la suspensión antígeno-solución salina, pues como se verá más adelante dicha solución "básica" puede experimentar ligeras modificaciones en su composición.

II) *Antígeno*: Se prepara mezclando en un Erlenmeyer o matraz de 50 ml. de capacidad.

3,5 ml. de solución "básica".

11,5 ml. de solución alcohólica de colesterol al 0,75 %.

Este antígeno antes de ser aceptado como tal debe ser probado con sueros positivos débiles, fuertes y negativos. Los ensayos se hacen comparativamente con un antígeno patrón, o en su defecto, con sueros de grado de positividad conocida frente al antígeno de Kline, ya que la sensibilidad de estos dos antígenos se asemeja mucho.

Si se ha procedido a la preparación del antígeno en la forma indicada anteriormente, la solución "básica" estará constituida siempre por 2,5 partes de insoluble en acetona y 1,0 parte de la fracción acetona soluble. Si las permanencias en la estufa y sobre todo las sesenta horas de heladera de la fracción acetona soluble, han sido defectuosas, es posible que las suspensiones lipido-solución salina del antígeno tengan una estabilidad algo inferior a la del patrón. Si así ocurriera, la solución "básica" deberá prepararse con 2,5 partes de la fracción insoluble en acetona y 0,75 partes de la acetona soluble; y el antígeno definitivo de la siguiente manera:

Solución "básica"	3,25 partes
Solución alcohólica de colesterol al	
0,75 %	11,75 partes

Esta ligera modificación no influye en absoluto en la sensibilidad y especificidad del antígeno, pero sí en la estabilidad de la suspensión lipido-solución salina, haciendo que ésta no sea inferior a la hora, cuando se la mantiene a temperatura ambiente.

El antígeno conviene conservarlo en frascos chicos, de 5 ml. de capacidad, de vidrio neutro y tapa esmerilada o tapón de corcho recubierto de papel de estaño, cuidando operar rápidamente cada vez que deba destaparse el frasco para evitar la evaporación del alcohol y alteración consiguiente.

Las reservas de antígeno conviene conservarlas en ampollas de vidrio neutro, cerradas a la llama, de 5 ml. de capacidad y a temperatura ambiente para que no pre-

cipite el colesterol por el frío, evitando en lo posible la acción directa de la luz.

Como con 100 gr. de polvo de músculo cardíaco bovino se obtienen aproximadamente 35-37 ml. de solución "básica", y por tanto unos 150 ml. de antígeno, es aconsejable no preparar directamente éste, sino conservar la solución "básica" en ampollas de vidrio de 3 a 5 ml. de capacidad. Es conveniente que así se proceda, pues la solución "básica" se conserva en perfectas condiciones por un tiempo mayor que el antígeno total ya que su contenido en colesterol es mínimo.

Buenos resultados he obtenido empleando antígenos un año después de elaborados, lo que indica que su poder antigénico se mantiene por un tiempo bastante prolongado.

TÉCNICA DE LA NUEVA MICRO REACCIÓN PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA LUES

Esta microrreacción puede practicarse sobre suero inactivado, sin inactivar o sangre desfibrinada y seca.

Para obtener las muestras a analizar se procede de la siguiente manera:

a) SANGRE DESFIBRINADA Y SECA: Practicada la asepsia del dedo o lóbulo de la oreja con alcohol iodado, alcohol, alcohol-éter, etc., se punciona con una lanceta de Franke y a una profundidad tal que permita el flujo espontáneo de sangre o mediante ligera compresión. Sobre un portaobjetos limpio se recogen dos gotas (Una es suficiente, pero conviene recoger dos, una en cada extremo del portaobjetos para repetir la prueba si fuera necesario) del tamaño de una moneda de 5 ctvs. Recogida la gota se procede a su desfibrinación por agitación en forma circular con el ángulo de un portaobjetos, una varilla de vidrio o la misma lanceta. La agitación debe prolongarse por lo menos medio minuto. Finalizada la misma se deja secar a temperatura ambiente, y en casos de urgencia en la estufa a 37° C. La muestra así preparada, si se conserva a temperatura ambiente, no debe emplearse después de las 48 horas. Cuando se la deja en heladera el tiempo puede ampliarse a cinco días.

b) SUERO: Se extrae la sangre por punción venosa. Se la deja coagular en tubo de ensayo y una vez producida la retracción del coágulo, se separa el suero, eliminando los

glóbulos rojos que pudieran quedar en suspensión mediante centrifugación.

Como sólo son necesarias mínimas cantidades de suero, la muestra puede obtenerse por punción del pulpejo del dedo; las gotas de sangre que fluyen se recogen en un pequeño tubo estirado, con una punta capilar, cerrando dicha extremidad a la llama una vez recogida la muestra. Producida la coagulación, con una varilla muy fina, por la otra extremidad, se despega el coágulo de la pared del tubo. Se centrifuga a gran velocidad y se recoge el suero límpido con una pipeta capilar.

MATERIAL Y ELEMENTOS UTILIZADOS

1) PIPETAS:

- a) de 2 ml. graduadas en 0,01 ml., utilizadas para medir la solución salina.
- b) de 0,2 ml. graduadas en 0,001 ml., para la medición de los sueros y suspensión antigénica.

Como las cantidades de suero y suspensión antigénica a utilizar en la reacción son de 0,03 ml., en lugar de pipetas de 0,2 ml. pueden prepararse unas especiales, de modo tal que con 1 ml. de agua destilada den XXXIII gotas, siendo el volumen de cada una de estas gotas de 0,03 ml.

2) PLACAS DE VIDRIO: Puede utilizarse portaobjetos excavados, policubetas de Kline o portaobjetos con anillos de parafina los que se preparan de la siguiente manera:

Se utiliza un pequeño aparatito constituido por un aro de hierro dulce, de 14 mm. de diámetro interior y con un manguito soldado sobre su superficie superior. Para confeccionar los anillos se procede así; se calienta previamente el aparatito flameándolo e introduciéndolo en la parafina fundida, se retira, se deja escurrir el exceso y se apoya luego sobre la placa de vidrio retirándolo inmediatamente. La parafina fundida que ha sido depositada solidifica y el anillo obtenido es completo, cosa que no ocurre generalmente cuando se emplea el aparatito de Green preparado con alambre de hierro dulce N° 28 e hilo N° 12.

Es indispensable para obtener buenos anillos el flameado previo del aparatito antes de introducirlo en la parafina fundida, pues en caso contrario, al apoyarlo sobre la placa de vidrio, la parafina solidifica muy rápidamente

y al retirarlo arrastra consigo partes del anillo.

3) SOPORTES PARA PORTAOBJETOS: Se emplean cajas de madera o carpetas de cartón, con ranuras y un pequeño sujetador en cada extremo.

4) AGITADOR: Como la agitación a mano, sobre todo cuando deban practicarse muchas reacciones a la vez, ocasiona pérdida de tiempo, puede recurrirse en estos casos a los agitadores mecánicos, de funcionamiento automático, que se detienen transcurrido el tiempo de agitación.

5) SOLUCION SALINA: Se utiliza solución de cloruro de sodio (purísimo) al 3,5 por ciento, en agua destilada. Debe conservarse en heladera y renovarse todas las semanas.

6) CAMARA HUMEDA: Puede utilizarse la de Koch, o en su defecto una caja de Petri grande o cristizador con papel de filtro mojado colocado en el fondo.

7) SUSPENSION ANTIGENICA: Se procederá en forma distinta según vaya a emplearse la emulsión inmediatamente de preparada o 24 horas después. En este caso, que es el procedimiento recomendable, se toman dos viales para mezclar antígeno de Kahn o dos tubos de hemolisis y se coloca en uno de ellos 0,2 ml. de antígeno y en el otro 2 ml. de solución de cloruro de sodio al 3,5 %, o cantidades equivalentes, ya que con las indicadas hay suspensión antigénica suficiente para cincuenta reacciones por lo menos. Se vierte la solución salina sobre el antígeno y la suspensión se transporta nuevamente al tubo que contenía la solución salina, repitiendo esta operación dos veces; se deja dicha suspensión en reposo en la heladera durante 24 horas, para que madure, y está lista para ser usada. Esta suspensión antigénica tiene una estabilidad prolongada, pero no conviene emplearla después de una semana de preparada. He utilizado suspensiones un mes después de elaboradas con excelente resultado. Debe mantenerse siempre al frío.

Si la emulsión antigénica ha de ser utilizada en el día, se procede así: en dos viales se colocan las cantidades de antígeno y solución salina indicadas y se introducen en un baño maría a 55° C. durante cinco minutos. Se mezclan, se deja la emulsión nuevamente en el baño dos minutos, se retira y se la mantiene a temperatura ambiente treinta minutos, para que se complete la maduración, estando después

de este tiempo en condiciones de emplearla en la reacción. Para conservar esta emulsión y utilizarla en los días subsiguientes, hay que mantenerla en la heladera.

Cuando los antígenos son viejos (más de seis meses de preparados) no es necesario calentar los tubos antes de mezclarlos y la emulsión debe emplearse treinta minutos después de preparada.

Los antígenos envejecidos se vuelven hipersensibles.

8) BAÑO INACTIVADOR A 56° C.: Puede utilizarse un baño cualquiera regulado a 56° C. Se obtienen igualmente buenos resultados cuando se colocan los tubos conteniendo los sueros a inactivar en un vaso de precipitados con agua o vaselina líquida en el interior de una estufa de aire a 56° C. Es preferible el empleo de vaselina líquida, ya que las fluctuaciones térmicas en el interior del vaso son mínimas cuando se abre o cierra la estufa.

9) MICROSCOPIO: Para la lectura de los resultados.

MICRORREACCIÓN PRACTICADA SOBRE SUERO INACTIVADO
A 56° C. DURANTE TREINTA MINUTOS

Se coloca en los anillos de parafina 0,03 ml. de suero humano inactivado, se le añade 0,03 ml. de la suspensión antigénica y se mezcla con una varilla o ángulo de un portaobjetos. Se agita el soporte que los contiene, durante cinco minutos y a un promedio de 120-130 oscilaciones por minuto, apoyando dicho soporte sobre una mesa o superficie lisa. Después de haber suspendido la agitación por cinco minutos, se vuelve a agitar otros tres minutos más.

La lectura de los resultados se hace al microscopio, con un aumento de 120-130 diámetros (obj. N° 8 y ocular 12,5 x de Zeitz) y los grados de positividad se interpretan de acuerdo al tamaño de los grumos que se observan en el campo microscópico. Los sueros negativos dan gran cantidad de partículas de tamaño muy pequeño, pero jamás agrumadas.

Cuando los resultados no sean muy claros, se practica una tercera agitación de uno o dos minutos. Los sueros positivos débiles intensifican su positividad, no experimentando modificación alguna los sueros negativos.

La práctica frecuente de la lectura de la reacción facilita la interpretación de los resultados.

Toda vez que se practiquen estas reacciones de-

ben colocarse testigos positivos y negativos, así como un control de antígeno.

MICRORREACCIÓN PRACTICADA SOBRE SUERO SIN INACTIVAR

La técnica a seguir es la misma que en el caso de sueros inactivados, con la única variación de que la segunda agitación debe durar cinco minutos en lugar de tres.

MICRORREACCIÓN PRACTICADA SOBRE SANGRE DESFIBRINADA Y SECA

Se deposita sobre la gota de sangre desfibrinada y seca 0,03 ml. de solución de cloruro de sodio al 3,5 %. Mediante el ángulo de un portaobjetos se disuelve la gota y se trasvasa a un portaobjetos excavado o anillo de parafina colocado en la cámara húmeda. Se añade 0,03 ml. de suspensión antigénica, se mezcla con una varilla y se agita durante cinco minutos, y luego tres, en idéntica forma que en la microrreacción con suero.

La lectura de los resultados se hace al microscopio y la aparición de grumos de distinto tamaño indicará el grado de positividad.

Las sangres procedentes de individuos no luéticos dejan ver en el microscópico finísimas partículas no agrupadas.

Cuando los resultados no fueran muy claros se procede a una segunda agitación como en la microrreacción practicada sobre suero.

La reacción practicada con suero inactivado fué ensayada con muestras de Reacción de Kahn Standard y Kline Diagnóstica positivas y negativas. Los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Muestras con Reacción de Kahn Standard y Kline Diagnóstica positivas

Positivas Dudosas Negativas

Microrreacción con suero

inactivado	73	1	1
------------------	----	---	---

Muestras con Reacción de Kahn Standard y Kline Diagnóstica negativas:

Positivas Dudosas Negativas

Microrreacción con suero

inactivado	2	5	1432
------------------	---	---	------

La microrreacción practicada sobre sangre desfibrinada y seca fué ensayada simultáneamente con la reacción de Chediak sobre un total de 1012 muestras, con el resultado que sigue:

	<i>Positivas</i>	<i>Dudosas</i>	<i>Negativas</i>
Nueva microrreacción . .	47	5	960
Reacción de Chediak	42	7	963

CONCLUSIONES

De acuerdo a lo anteriormente dicho podemos afirmar:

- 1) Que la técnica de elaboración de este nuevo antígeno es sencilla, no teniendo necesidad de determinar su título y sensibilidad, es decir, su estandarización, cada vez que se lo prepara, logrando obtener siempre que se siga paso a paso la técnica indicada, en todos los casos, un antígeno perfectamente estable, sensible y específico.
- 2) Que la emulsión una vez preparada, se conserva
- 3) Que las reacciones que utilizan este antígeno son muy sencillas y su ejecución requiere un tiempo mínimo.
- 4) Que los resultados obtenidos en el breve estudio comparativo la señalan como una reacción sensible y específica, dentro de los límites de especificidad asignado a este tipo de reacciones, digna de ser tenida en cuenta en el diagnóstico serológico de la lúes.
- 5) Sería de desear que se efectuaran estudios comparativos de esta reacción con las ya existentes y se comunicara si la misma constituye o no un medio eficaz de diagnóstico.

BIBLIOGRAFIA

- 1) BALIÑA, P. L., JACHESKY, L. y BASOMBRIO, G. — *Revista Argent. Dermat.* 1940. 24, 205.
- 2) BALIÑA, P. L., JACHESKY, L. y NOUSSITOU, F. — *La Semana Médica.* 1940. 2, 1. P
- 3) BARZIZZA, C. M. — *La Semana Médica.* 1939. 40, 31.
- 4) CHEDIAK, A. M. — *Archivos de Medicina Infantil de La Habana.* 1932. No. 1 y 2.
- 5) CHEDIAK, A. M. — *Revista Argent. de Dermat.* 1938, 12, 704.
- 6) CHEDIAK, A. M. — *El Día Médico.* 1939. 11, 294.
- 7) DAHR, P. — *Revista Méd. Germ. Ibero Amer.* 1934. 7, 105.
- 8) DAHR, P. — *Archivos de Medicina Infantil de La Habana.* 1935. 1, 27.
- 9) DÍAZ ALBERTINI, A., RECIO, A. y LAGE, G. — *Bolet. Ofic. Sanit. Panam.* 1041. N° 8, 792.

- 10) DUSSERT, E. — *Boletín del Instituto Bacteriológico de Chile*. 1942. 2, 61.
- 11) EAGLE, H. — *The Laboratory Diagnosis of Syphilis*. 1937.
- 12) ECHEVERRI, M. A., BATTAGLIA, A. y TROPEANO, A. — *La Prensa Méd. Arg.* 1939. 26, Nº 35.
- 13) FIORENTINO, L. — *Diagnóstica e Tec. di Laborat.* 1930. 236.
- 14) HINTON, N. A. — *Journ. Laborat. Clínic. Méd.* 1932. 18, 198.
- 19) IDE SOBEI, M. D. e IDE TAMAO. — *Journ of Laborat. and Clin. Med.* 1936. 21, 1190.
- 20) KAHN, R. L. — *Serum Diagnost. of Syphilis by Precipit.* 1928.
- 21) KAHN, R. L. — *La Reacción de Kahn*. 1932.
- 22) KLINE, B. S. y YOUNG, A. M. — *Journ. Clin. Med.* 1927. 12, 447.
- 23) KLINE, B. S. y LITMANN, S. — *Journ. Labor. Clin. Med.* 1930. 15, 1008.
- 24) KLINE, B. S. — *Microscopic. Slide Precipit. Test.* 1932.
- 25) KOLMER, J. A. — *Serum Diagnosis of Syphilis*. 1928.
- 26) KOLMER, J. A. — *Journ. Amer. Med. Ass.* 1929. 93, 1429.
- 27) MARGNI, R. A. — *Tesis Facultad de Química y Farmacia. La Plata*. 1947.
- 28) MAZZINI, I. Y. — *Journ. Ind. Med.* 1939. 32, 65.
- 29) MEINICKE, E. — *Diagnóstica e Tec. di Laborat.* 1932. 426.
- 30) MEINICKE, E. — *Diagnóstica e Tec. di Laborat.* 1938. 521.
- 31) MIRAVENT, J. M. y PARODY, A. — *Revist. del Inst. Bacter.* 1939. 9, 167.
- 32) MIRAVENT, J. M. y PARODY, A. — *Revista del Inst. Bacter.* 1939. 9, 171.
- 33) MIRAVENT, J. M. — *Revista del Inst. Bacter.* 1942. 10, 514.
- 34) MÜLLER, R. — *Diagnóstica e Técnica di Laboratorio.* 1933. 109.
- 35) NOGUCHI, H. — *Serum Dianosis of Syphilis*. 1912.
- 36) PIGNOLI, R. — *Revista Italiana de Ginecología.* 1936. Nº 4, 72.
- 37) RUBINSTEIN, M. — *Traité Pratique de Sérologie et de Séro-giagnostic* 1932.
- 38) SELLEK, A. y DEL FRADE, A. — *Arch. de Med. Infant. de La Habana.* 1938. 338.
- 39) SEPICH, L. F. — *Revista de la Asoc. de Bioq. y Farm.* 1945. Nº 44, 225.
- 40) SOLLAZO, A. — *Diagnostica e Tecnica di Laboratorio.* 1931. 212.
- 41) VIGANO, L. — *Reazioni Biologiche.* 1934.