

Sección Sueroterapia

Notas sobre la concentración de sueros antitóxicos

POR EL

DR. A. SORDELLI

En este artículo queremos referirnos brevemente a la concentración de sueros tal como se realiza en el Instituto Bacteriológico, sin entrar por el momento, en consideraciones de orden teórico sobre el proceso de fraccionamiento de las proteínas, ni sobre la estabilización de los preparados de euglobulinas o pseudoglobulinas.

El método por nosotros adoptado es el indicado por Annie Homer en el *Journal of Hygiene* Vol. 17, N.º 1. Fuimos conducidos a emplear este método, después de muchos ensayos con métodos conocidos y modificaciones que la práctica sugería, por tres razones fundamentales, que es necesario tener presente para el buen éxito de toda concentración: 1.º fácil filtración durante la concentración; 2.º fácil filtración por bujía, para conseguir un producto estéril y 3.º pequeño porcentaje de pérdida.

A continuación describiremos la técnica con algunos detalles:
1.º Obtención del plasma;

Se recoje sangre por sangría de la yugular de los caballos inmunes, en frascos, que contienen una solución estéril de citrato de sodio al 10 %. El tenor final debe ser de 4 ‰ de citrato de sodio con lo que se consigue una incoagulabilidad segura. Se conservan en heladera a 5º más o menos.

A las 72 horas se separa por sifón el plasma claro que sobrenada. El rendimiento de plasma es un 60 % del volumen total de sangre;

2.º Al plasma mezclado se añade *amoníaco*, hasta que la alcalinidad corresponda a 8,03 PH;

Para esto se emplea con ventaja la técnica descrita por Kurwitz Meyer o sinó las indicaciones de Lubs y Clark usando fenolsulfonftaleina como indicador.

3.º Se añade 2 % de ClNa;

4.º Primer calentamiento:

17 a 25 litros de plasma así preparado se colocan en una olla enlozada que va metida dentro una cuba termóstato conteniendo agua a 63º. Una hélice de madera movida por un motor agita vivamente al líquido, con lo que se consigue que se eleve más rápidamente la temperatura y sea más homogénea.

Cuando la temperatura del plasma ha llegado de 57° 5 se regula la del termóstato de tal manera que el plasma quede a 57° — 58°. Desde este momento se continua el calentamiento durante 4 horas más.

5.° Una vez transcurridas las 4 horas se añade solución saturada y fría de sulfato de amonio, hasta que la mezcla esté al 30 % de saturación;

6.° Se eleva la temperatura del baño hasta 60° más o menos y cuando el plasma con SO_4 Am. llega *exactamente* a 58° (termómetro controlado) se retira del termóstato. La agitación durante estas operaciones es indispensable;

7.° La mezcla se abandona a temperatura ambiente y cuando ha llegado a 45° se filtra por papeles plegados; los embudos contienen 2 litros de líquido.

A las 16 horas los filtros están completamente agotados, el líquido que pasa es completamente claro, (fracción 1);

8.° Se meten todos los filtros en una olla y se hacen una papilla, a la que se añade agua y luego SO_4 Am. hasta 30 % de saturación. La cantidad es más o menos $\frac{1}{2}$ del volumen de plasma inicial. Después de un momento se filtra, y el líquido (fracción 2) se mezcla con fracción 1;

9.° Una vez agotados los filtros se repite la operación anterior con una cantidad de SO_4 Am. igual. El líquido (fracción 3) se une a la mezcla de fracción 1 y fracción 2 (*);

El precipitado se utiliza para preparar euglobulina.

10. A la mezcla de las 3 fracciones, se añade SO_4 Am. saturado hasta que la concentración sea 46 % de saturación; el pp. se separa por filtración, (útese papel fuerte);

A las 48 horas se ponen los filtros con el precipitado, entre papeles absorbentes y cuando el precipitado comienza a adherirse se separa con espátula de cuerno o madera y se coloca dentro un fuerte trapo de hilo, se prensa entre papeles de filtro aumentando la presión gradualmente hasta 250 atmósferas.

12. A las 24 horas se separa el precipitado, que con facilidad se transforma en un polvo, pues es bastante friable;

13. Se coloca una cantidad conveniente de pp. en dializadores de 1 litro de capacidad, calculando obtener una concentración de 4 a 10 veces el valor del suero primitivo.

La dialisis se efectúa a 50° en un termóstato conteniendo una solución de sulfato de sodio crist. al 10 ‰. Se puede calcular en unos 6 litros cada 350 gramos de precipitado a dializar. El líquido se renueva íntegramente cada 8-12 horas. A las 48 horas la diálisis está terminada.

15. El suero se isotoniza con SO_4Na_2 y se le añade 4 ‰ de fenol;

(*) Si estas operaciones de lavaje y filtración están entorpecidas por el exceso de restos de papel de filtro, pueden éstos separarse por una prensa común.

16. Se filtra por vacío a través de capas de papilla de papel de filtro alternadas con carbón animal. Se obtiene un líquido completamente transparente y brillante;

17. Se filtra al vacío, por bujía Berkefeld. Se pueden filtrar 5 litros por una sola bujía grande sin dificultad;

18. Se controla la esterilidad y se mide el valor antitóxico. Los resultados obtenidos siguiendo exactamente el método indicado son muy buenos para la concentración del suero antidiftérico, antitetánico y antiofídico.

Es posible además aislar buena parte de las euglobulinas que se encuentran en el precipitado que queda después de la filtración de la 3.^a fracción. Para obtener las euglobulinas procedemos en la siguiente forma:

Al precipitado proveniente de 20 litros de plasma se le añaden 15-18 litros de agua y se deja en maceración; al cabo de una hora se agregan 200 a 250 c. c. de soluc. saturada de sulfato de amonio para cada litro de agua y se filtra. La cantidad de sulfato de amonio debe ser lo más próxima posible a 200 cc. pero, con la condición de que la filtración sea rápida y el líquido que filtre, bien claro.

El líquido filtrado se precipita con SO_4 Am. al 30 % de saturación y se filtra. Con el precipitado se procede en forma absolutamente igual que con la pseudoglobulina antitóxica. Se obtiene un líquido apenas opalescente.

Antes de terminar queremos hacer presente algunas observaciones. Los plasmas que contuvieran mucha bilis no son aptos para ser concentrados por el método indicado. Los plasmas de sangrías a blanco requieren una modificación del método, probablemente el método al fenol o al cresol de A. Homer, ó el método indicado, repetido dos veces. No es conveniente comenzar la concentración antes de 72 horas después de la sangría.

CONCLUSIONES

El método de Annie Homer, por nosotros empleado se ha revelado excelente, y tal como lo hemos descrito permite realizar una concentración de 5 a 8 veces con relativa facilidad, llegándose a obtener productos finales claros, fáciles de filtrar y con un contenido relativamente pequeño de proteínas.

Además debe tenerse muy presente que las pérdidas son pequeñas llegando apenas al 10 %.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Die Methode von Annie Homer hat bei der Nachprüfung sehr gute Resultate ergeben, indem man mit Leichtigkeit Antitoxine auf das 5-8 fache konzentrieren kann. Die Lösungen sind klar, lassen sich leicht filtrieren und enthalten relativ wenig Eiweisskörper. Der Verlust beträgt kaum 10 %.

CONCLUSIONS

La méthode de Annie Homer que nous avons employée s'est démontré excellente. Pratiquée selon nos indications, elle permet une concentration du plasma a un volume 5-8fois moindre, donne des produits transparents et de filtration facile, avec relativement peu de protéines. Les pertes n'atteignent pas le 10 %.

CONCLUSIONS

Annie Homer's method which we have employed, has been found excellent, and such as we describe it permits us a comparatively easy concentration of 5 to 8 times, giving clear final products easily filtered and containing a small amount of proteins. It must be remarked that there are no losses to speake of.

LITERATURA

- A. HOMER.—*Proceedings of the Physiological Society*, páginas XXXI y pág. XXXIII en *Journal of Physiology*, Vol. LII, N.º 4.
A. HOMER.—*The Journal of Hygiene*, Vol. 17, N.º 1, pág. 51.
A. HOMER.— » » » » Vol. 15, N.º 3.
KURWITZ, MEYER Y OSTENBERG.—*The Johns Hopkins Hospital Bulletin*.—Vol. XXVII. N.º 299.
CLARK LUBS.—*Journal of Bacteriology*, II, 1, pág. 1; II, 2 pág. 109; II, 3, pág. 191.
-