

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
MUSEO (FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES)

---

**LOS ANTÍGENOS ARTIFICIALES  
EN LA REACCIÓN DE WASSERMANN**

(CONTRIBUCIÓN A SU ESTUDIO)

---

**TRAVAIL DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS  
SERVICE DE SERODIAGNOSTIC  
LABORATOIRE DE M. C. LEVADITI**

---

Tesis para optar al grado  
de  
Doctor en Química y Farmacia  
POR  
**CARLOS ALBERTO SAGASTUME**

---



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA  
MUSEO (FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES)

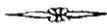
---

**LOS ANTÍGENOS ARTIFICIALES  
EN LA REACCIÓN DE WASSERMANN**

(CONTRIBUCIÓN A SU ESTUDIO)

---

**TRAVAIL DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS  
SERVICE DE SERODIAGNOSTIC  
LABORATOIRE DE M. C. LEVADITI**



Tesis para optar al grado  
de  
Doctor en Química y Farmacia  
POR  
**CARLOS ALBERTO SAGASTUME**

---



# MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

---

## CONSEJO ACADÉMICO

*Presidente:* doctor Samuel A. Lafone Quevedo, M. A. (Cantab.).

*Consejero titular:* ingeniero Nicolás Besio Moreno.

— doctor Pedro T. Vignau.

— doctor Enrique Herrero Ducloux.

— doctor Roberto Lehmann-Nitsche.

— doctor Santiago Roth.

— doctor Guillermo F. Schaefer.

*Consejero suplente:* señor Carlos Bruch.

— doctor Enrique J. Poussart.

*Secretario:* doctor Salvador Debenedetti.

## ACADÉMICOS HONORARIOS Y CORRESPONDIENTES NACIONALES

### ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES

#### ACADÉMICOS HONORARIOS

Doctor Ángel Gallardo (Buenos Aires), 1907,

Doctor Carlos Spegazzini (La Plata), 1912.

#### ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

Doctor Juan B. Ambrosetti (Buenos Aires), 1907.

Doctor Francisco Latzina (Buenos Aires), 1907.

Señor Miguel Lillo (Tucumán), 1907.

Ingeniero Francisco Seguí (Buenos Aires), 1907.

### ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

#### ACADÉMICO HONORARIO

Doctor Juan J. J. Kyle (Buenos Aires), 1907.

# MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

---

## ACADÉMICOS HONORARIOS Y CORRESPONDIENTES EXTRANJEROS

### ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES

#### ACADÉMICOS HONORARIOS

- S. A. S. Albert I. de Mónaco, 1910.  
Doctor Eugen Bülow Warming (Dinamarca), 1907.  
Doctor Ernest Hæckel (Alemania), 1907.  
Profesor William H. Holmes (Estados Unidos), 1907.  
Doctor Otto Nordenskjöld (Suecia), 1907.  
Doctor Santiago Ramón y Cajal (España), 1907.  
Doctor Johannes Ranke (Alemania), 1910.  
Profesor Eduard Suess (Austria Hungría), 1907.  
Profesor Frederic Ward Putnam (Estados Unidos), 1909.  
Doctor William J. Holland (Estados Unidos), 1912.

#### ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

- Doctor Henry Fairfield Osborn (Estados Unidos), 1907.  
Doctor Hermann von Ihering (Brasil), 1907.  
Doctor Yoshikiyo Koganei (Japón), 1907.  
Doctor Richard Lydekker (Inglaterra), 1907.  
Doctor Rudolf Martín (Suiza), 1910.  
Doctor Stanislas Meunier (Francia), 1910.  
Doctor Giuseppe Sergi (Italia), 1907.  
Doctor Gustav Steinmann (Alemania), 1907.  
Doctor Paul Vidal de la Blache (Francia), 1907.  
Profesor J. Wardlaw Redway (Estados Unidos), 1907.

### ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

#### ACADÉMICO HONORARIO

- Profesor Wilhem Ostwald (Alemania), 1907.

#### ACADÉMICOS CORRESPONDIENTES

- Profesor Armand Gautier (Francia), 1907.  
Profesor José Rodríguez Carracido (España), 1908.  
Profesor Harvey W. Wiley (Estados Unidos), 1907.

# MUSEO Y FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

---

## PERSONAL DIRECTIVO Y CIENTÍFICO

DOCTOR SAMUEL A. LAFONE QUEVEDO M. A. (Cantab.)

*Director*

DOCTOR ENRIQUE HERRERO DUCLoux

*Vice-Director*

DOCTOR SALVADOR DEBENEDETTI    SEÑOR MAXIMINO DE BARRIO

*Secretario, bibliotecario  
y director de publicaciones*

*Pro-Secretario*

## ESCUELAS DE CIENCIAS NATURALES

DOCTOR SANTIAGO ROTH

*Jefe de sección y profesor de Geología y  
Paleontología*

DOCTOR GUALTERIO SCHILLER

*Jefe de sección y profesor de Mineralogía*

SEÑOR AUGUSTO C. SCALA

*Jefe de sección y profesor de Botánica*

DOCTOR EMILIO P. MEINECKE

*Profesor suplente de Botánica*

SEÑOR CARLOS BRUCH

*Jefe de sección y profesor de Zoología*

DOCTOR MIGUEL FERNÁNDEZ

*Profesor de Anatomía comparada*

SEÑOR HORACIO ARDITI

*Profesor suplente de Zoología*

DR. SAMUEL A. LAFONE QUEVEDO

*Profesor de Lingüística*

DR. ROBERTO LEHMANN-NITSCHÉ

*Jefe de sección y profesor de Antropología*

DOCTOR SALVADOR DEBENEDETTI

*Profesor adjunto de Arqueología*

DOCTOR PABLO MERIAN

*Profesor de Geografía Física*

SEÑOR VALENTÍN BERRONDO

*Profesor de Geografía política y económica*

INGENIERO N. BESIO MORENO

*Profesor de Cartografía*

DOCTOR LUIS MARIA TORRES

*Jefe de sección y profesor de Etnografía*

INGENIERO MOISÉS KANTOR

*Profesor de Geología*

## ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

DR. ENRIQUE HERRERO DUCLOUX <i>Director y profesor de Química Analítica</i>	DOCTOR JUAN C. DELFINO <i>Profesor de Higiene</i>
DOCTOR FEDERICO LANDOLPH <i>Profesor de Química Orgánica</i>	DOCTOR MANUEL V. CARBONELL <i>Profesor suplente de Higiene</i>
DOCTOR ENRIQUE J. POUSSART <i>Profesor de Química General</i>	DOCTOR GUILLERMO F. SCHAEFER <i>Profesor de Química Analítica Especial</i>
SR. LEOPOLDO HERRERO DUCLOUX <i>Profesor de Farmacología</i>	DOCTOR PEDRO T. VIGNAU <i>Profesor de Análisis Mineral</i>
SEÑOR EDELMIRO CALVO <i>Profesor adjunto de Química Orgánica Farmacéutica</i>	SEÑOR JUAN E. MACHADO <i>Profesor suplente de Farmacia Práctica</i>
INGENIERO ALEJANDRO BOTTO <i>Profesor adjunto de Química Analítica Cualitativa General</i>	DOCTOR P. ABEL SANCHEZ DIAZ <i>Profesor suplente de Química General</i>
DOCTOR ALEJANDRO M. OYUELA <i>Profesor de Terapéutica</i>	DOCTOR ATILIO BADO <i>Profesor suplente de Química Analítica Especial</i>
DOCTOR ALEJANDRO COGLIATI <i>Profesor de Farmacia Práctica</i>	DOCTOR SEGUNDO J. TIEGHI <i>Profesor suplente de Química Orgánica</i>
DOCTOR MARTINIANO LEGUIZAMÓN PONDAL <i>Profesor suplente de Complementos de Química</i>	

## ESCUELA ANEXA DE DIBUJO

SEÑOR E. COUTARET <i>Profesor de Dibujo geométrico y de perspectiva</i>	SEÑOR ANTONIO ALICE <i>Profesor de Dibujo de arte y pintura</i>
SEÑOR A. BOUCHONVILLE <i>Profesor de Dibujo cartografico y de relieve</i>	SEÑOR R. BERGMANS <i>Profesor de Caligrafía</i>
SEÑOR JOSÉ FONROUGE (h.) <i>Profesor de Dibujo natural</i>	DR. ROBERTO LEHMANN-NITSCHÉ <i>Profesor de Anatomía artística</i>

## MATERIAS DE CORRELACIÓN

### PROFESORES TITULARES

DOCTOR RICARDO GANS <i>Química-Física</i>	INGENIERO JOSÉ A. MEDINA <i>Cálculo</i>
INGENIERO TEOBALDO RICARDONI <i>Complementos de Física</i>	DOCTOR FEDERICO SIVORI <i>Química y Física Biológica</i>
INGENIERO VIRGILIO RAFFINETTI <i>Complementos de Matemáticas</i>	SEÑOR C. COUTARET <i>Dibujo lineal</i>
DOCTOR JUAN C. DELFINO <i>Microbiología</i>	

PADRINO DE TESIS  
DR. ENRIQUE HERRERO DUCLOUX



*A MIS QUERIDOS PADRES Y HERMANOS*



*A mi distinguido maestro y amigo*  
*Dr. ENRIQUE HERRERO DUCLOUX*  
*y a mi excelente amigo y compañero de estudios*  
*Dr. HÉRCULES CORTI*



*A TODOS MIS VERDADEROS AMIGOS*



SEÑORES ACADÉMICOS:

SEÑORES PROFESORES:

Llegó el momento en que toca a vuestro elevado y ecuánime criterio, pronunciarse sobre el valor de una última prueba de competencia, requerida por las leyes universitarias.

Porque jamás lo hiciera, me valgo de esta oportunidad para expresar mi gratitud a la corporación académica del Museo por el altísimo honor de que me hizo objeto, cuando por decreto del 25 de octubre de 1912, decidiera en forma absolutamente espontánea, mi envío a Europa en misión especial de perfeccionamiento.

Ha sido esa la causa de que este trabajo se realizara fuera de la casa universitaria, donde se formara mi modesta preparación científica.

Aunque nunca sería suficientemente elocuente, experimento un íntimo placer al poder manifestar aquí todo mi reconocimiento al inteligente y laborioso maestro, al guía amable y generoso, al amigo cariñoso, en fin, de los alumnos, Dr. Enrique Herrero Ducloux quien grandemente me honra al acompañarme en este acto.

Agradecimiento que hago extensivo a quienes fueron mis distinguidos profesores, Dres. Levaditi, Poussart, Botto, Schaeffer, Vignau, Fernandez, Schiller, Bruch y que en mil oportunidades me dieran la mano, para salvar las vallas que me ofrecieron los oscuros misterios de la ciencia.

Je tiens a remercier spécialement, Monsieur Levaditi, mon cher maître et aimable ami, a coté de qui j'ai eu l'honneur de travailler, pendant tout mon séjour a Paris. Les savants conseils qui j'ai reçu journellement, ont orienté constamment mes recherches et sur tout m'ont soulagé moralement et encouragé toujours, même dans les insuccés; peut etre parce que c'étaient des paroles venant d'un de ces hommes auxquels le triomphe a toujours souri...

J'adresse aussi mes reconnaissances a M. M. Paul Ravaut, Paul Gastou, M. Weimberg, A. Latapie et Girard, qui ont été toujours prêts a m'aider genereusement et qui l'ont fait d'une manière efficace et devouée.

---

## INTRODUCCION

---

En los centros científicos europeos y en especial en Alemania y Francia, se discutía en 1913 en el campo de la Química Biológica la necesidad y posibilidad de sustituir el antígeno específico en la reacción de Wassermann por una mezcla artificial que pudiera sinó superar por lo menos igualar sus resultados.

Solo notas aisladas se habian comunicado sobre el punto a diversas sociedades científicas. En Alemania Sachs y Rondoni, se ocuparon en 1908 de la cuestión cuando Levaditi y Yamanouchi pusieron en duda la especificidad biológica del extracto de hígado.

En 1913 en París, Desmoulière y Tribondeau removieron el asunto, dormido durante ese lapso de tiempo a causa muy probablemente de su difícil solución.

A nuestra llegada a París M. Levaditi, una de las primeras autoridades de Francia en la materia, nos esbozó el problema haciendo nos comprender el gran interés teórico y práctico que este ofrecía y alentandonos con sus sabias consideraciones, hasta que resolvimos encararlo aunque dada su magnitud, e indiscutibles dificultades nos halláramos lejos de entrever un seguro éxito.

Pero en el terreno de la ciencia, por regla general, se aparta el investigador de toda clase de vanidades personales recordando que tanto se glorifica el que descubre como el que comprueba cualquier hecho, desde que trabajando con honradez siempre se aporta un cierto contingente, al esclarecimiento de cualquier cuestión,

Debemos por otra parte dejar constancia de que si un solo mérito tiene esta monografía, es sin duda alguna el de su absoluta sinceridad-

Trabajar con asiduidad y prescindencia de toda clase de preconceptos, ha sido la divisa que siempre nos alentara.

Siguiendo lo que hemos visto hacer a los estudiantes europeos, nos proponemos exponer aquí las experiencias más interesantes de nuestra investigación en la forma más concreta. Sustituiremos en la medida de lo posible por sus correspondientes citas bibliográficas, los comentarios y opiniones de los autores que se hayan pronunciado sobre una determinada cuestión, vinculada a nuestro trabajo, en la tendencia, justa por cierto, de no llenar carillas con labor ajena.

Despues de una rápida enumeración de los principales métodos de diagnóstico en que el laboratorio coopera en forma eficiente a la revelación de tan distintas afecciones y estados especiales de nuestros humores, hacemos resaltar el lugar que entre ellos ocupa la reacción de Bordet-Gengou aplicada al diagnóstico de la avariosis, pasando luego rápida revista a otros procedimientos propuestos con el mismo fin.

Entramos despues al estudio de los antígenos artificiales y en especial a los más preconizados, de los que detallamos el resultado de nuestras experiencias.

Comentamos enseguida las diversas técnicas propuestas y usadas para la práctica de la reacción de Wassermann, llegando por fin a los antígenos artificiales por nosotros preparados, de los que estudiamos en detalle sus calidades. hasta la obtención de uno, que satisficiera las exigencias de la práctica diaria y del que proponemos un más profundo estudio que seguimos en la actualidad.

---

# ÍNDICE

---

- Cap. I—La suerología contemporánea.  
El suero-diagnóstico de la sífilis—La reacción de Wassermann,  
Otros métodos de diagnóstico de la avariosis.
- Cap. II—Los antígenos artificiales.  
Antígeno de Sachs y Rondoni.  
Antígeno de Desmoulière.  
Diversas técnicas para la reacción de Wassermann.  
Otros antígenos artificiales.  
Conclusiones.
-



## LA SUEROLOGÍA CONTEMPORÁNEA

---

Behring y Kitasato en 1890, luego Erlich, Wassermann Rossel, Boer y en fin Roux y Martin en 1895 en el Congreso de Higiene de Budapest al poner en evidencia el poder antitóxico de los sueros de animales inmunizados contra la difteria, echaban las bases de lo que constituye el moderno edificio de la suerología.

Metchnikoff y Erlich con sus experiencias sobre el poder microbicida de los leucocitos el primero y con su ingeniosa teoría químico-humoral el segundo, consiguieron marcar rumbos absolutamente nuevos a la joven ciencia microbiológica, que el gran Pasteur diera a luz consagrándose el genio de su siglo. Honor eterno del pueblo que lo produjo.

Orientados en esta flamante vía, los investigadores no tardaron en obtener indiscutibles victorias aportando cada uno de ellos la revelación de algún misterio arrancado de entre el rojizo tinte de la savia animal.

Kraus descubre las precipitinas que tan felizmente aplicaron en 1901 Uhlenhuth y Bordet al diagnóstico de la especificidad humoral; Wright en controversia con Metchnikoff, nos demuestra la existencia de las opsoninas de las que se vale hoy Milhit para el diagnóstico de la tuberculosis, tifoidea, meningitis cerebro espinal etc. etc.

Pfeiffer y luego Bordet al poner en claro la existencia de las lisinas, abren las puertas a la inmunización activa y sueros microbicidas.

El mismo Bordet conjuntamente con Gengou se compenetran experimentalmente del muy interesante proceso de la fijación de la alexina asignando una verdadera significación biológica a las sustancias llamadas complemento, amboceptor, lisinas, agresinas, leukinas etc. haciendo armonizar el fenómeno de Pfeiffer con la teoría fagocitaria de Metchnikoff.

Por otra parte C. Richet, M. Arthus, Besredka a raíz de impecables experiencias sobre la hipersensibilidad animal ponen en claro el curioso fenómeno de la anafilaxia sobre cuya indiscutible utilidad no es necesario insistir.

Luego los fermentos entran a escena; nuevos descubrimientos microbiológicos se producen, las técnicas se perfeccionan y pulimentan

y la química y la fisiología ponen al servicio del biólogo su valioso contingente con que este presentará lucha a lo pequeño, a lo invisible y por ende fuerte y altivo.

La suerología así esbozada (la más fructífera rama de la ciencia de Pasteur) se convierte también en una ciencia; la más útil y moderna. Conquista adeptos de los que reclama absoluta consagración, gracias a los que triunfa velozmente y la admiramos hoy grande y fecunda, prestando a la humanidad que sufre su muy apreciable concurso. Sin contar lo que ella aporta a la ciencia galénica, como material preventivo y curativo, por no ser este tópico de nuestra incumbencia, consideremos solamente su cooperación al diagnóstico de las más diversas afecciones y esa simple ojeada nos revelará a la suerología como un potente faro, punto de referencia de los procesos clínicos, terapéuticos y quirúrgicos. El estudio de la orina, como coadyuvante del diagnóstico semiológico ha retrogradado a un segundo plano. El hombre ha logrado penetrar aún más en la intimidad de su propio ser: la orina es un producto de excreción, un tanto desvinculado de la funcionalidad orgánica, mientras que la sangre y en particular su suero en reacción inmediata y continua con el elemento biológico normal o afectado, nos presenta el producto fresco casi inalterado, de sus intercambios y nos da una idea mucho más aproximada acerca del estado normal o patológico de un organismo a estudiar.

Pero para arribar a esto fué menester un profundo estudio más biológico, que químico, del más abundante de nuestros humores, estudio del que a grandes rasgos hemos más arriba recordado sus principales frutos.

Conviene hacer constar una vez más que sobre todo al que produce y crea, más que al que se concreta a aplicar corresponde el honor de una obra. Así es como nunca serán suficientemente admirados, ese gran Erlich, la más brillante figura científica contemporánea; «le père Mectnicoff» como cariñosamente le llaman los que tienen el honor de estar en su contacto, quien al ser llamado por Pasteur desde su humilde rincón de Italia jamás soñara conquistar los lauros que hoy tan dignamente ostenta; M. Roux el hombre justamente venerado de la Francia entera, que sacrificara su salud con apostólica resignación en aras de la investigación.

Y bien, ha sido alimentada por el calor de esos genios, bajo la irradiación luminosa de esos astros, que las ciencias biológicas han salido del adormecimiento en que las abandonara la impotencia científica humana para dar un brinco formidable en el sentido del progreso y entrar a deleznar los íntimos misterios funcionales de la complicada máquina animal.

Widal, Sicard, Chantemesse, llegaban eficazmente al diagnóstico de la infección Eberthiana poniendo en juego la acción de las aglutininas sobre el bacilo tífico.

Wassermann aplicando y ordenando ingeniosamente las experiencias

de Bordet-Gengou y otros, nos proporcionó el mas seguro diagnóstico de la sífilis.

Lorentz y Weimberg con su método de diagnóstico sugetaron la intervención quirúrgica en la equinococosis al resultado de la suero-reacción.

Creveilleux se encarga actualmente de poner a punto la suero-reacción blenorragica, empleando como antígeno la emulsión bacilar de un cultivo en gelosa ascítica.

Fieux y Mauriac, aseguran diagnosticar precozmente el embarazo, aplicando también el fenómeno de Bordet-Gengou.

Besredka, Jupille etc. nos brindan su aplicación de la desviación del complemento al diagnóstico de la tuberculosis.

Abderhalden ultimamente, orientado en otra via, sacando provecho de las propiedades fermentativas de los sueros, consigue diagnosticar precozmente la gravidez.

Gautier, Milhit, Wexners y otros; aplican el descubrimiento de Wright, Neufeld y Douglas al diagnóstico de ciertas afecciones microbianas que ya hemos mencionado más arriba.

Brieger, Wiens, Herzfeld etc. proponen y preconizan la suero-reacción antitriptica para el estudio del proceso de diversas afecciones (tuberculosis, cáncer, caqueccias, etc.)

Ascoli, Izard, Flexderl, etc. presentan y elogian su procedimiento suero-capilarimétrico, muy útil a su decir en el diagnóstico de tifoidea, sífilis, cáncer etc.

Y si pasamos por fin al más circunscripto campo de la medicina y química legal, nos será dable comprobar que también allí la suerología ha sido fecunda.

De las precipitinas de Kraus y Bordet se exigió múltiples servicios: Uhlenhuth, Stern, Wassermann etc. las aplicaron para la determinación de la especificidad biológica en lo que a sangre se refiere. Pfeiffer y Barthe en el exámen de las manchas de esperma; Holdthann, Werchardt etc. para establecer el origen de los extractos placentarios. Biondi, Brezina, Wilenko etc. en el exámen de las manchas de meconio.

Los fenómenos anafilácticos de Richet, Besredka y Arthus fueron tambien explotados provechosamente.

Uhlenhut, Minet, Thomsen los pusieron al servicio del exámen de sangre. Weimberg estudia actualmente su aplicación al diagnóstico de la equinococosis.

Besredka trabaja también en la actualidad en el diagnóstico de la tuberculosis por el lado anafiláctico.

Con esta concreta y rapidísima cita de los más usados procedimientos de diagnóstico suerológico, dejando de lado aquellos que como el carbunco, disentería, cólera, lepra, tripanosomiasis, esterilidad sexual etc. no han llegado aún a adquirir una seguridad suficiente. creemos que resalta facilmente la eficaz y poderosa ayuda de la química

biológica y clínica, al pronóstico, diagnóstico y terapéutica de las más frecuentes afecciones que diezman el mundo humano.

Pero entre todos ellos resalta uno que ocupa un lugar preponderante a raíz de su muy rápida difusión: en efecto la suero-reacción de Wassermann abarca en la actualidad el 65 % de los métodos serológicos de diagnóstico (1).

**El suero-diagnóstico de la sífilis.**—Lanzada en Berlín por Wassermann, Brücke, Neisser etc.; el procedimiento de examen de sueros sífilíticos aplicando la reacción de Bordet-Gengou fué discutido inmediatamente en todos los centros científicos del mundo.

Tuvo que vencer una natural resistencia en Francia para imponerse en la práctica diaria de los laboratorios anexos a la clínica.

De todas partes aparecieron tratados, opúsculos y mil publicaciones críticas en pro y en contra de la suero-reacción. Cada autor estudiaba en un problema clínico diferente, así por ej, Bar et Daunay (2), Boas (3), Cohen (4) Damelopoln (5), Ehlers et Bonrret (6) y mil otros investigadores expresaban su juicio en pro o contra según sus impresiones personales,

Fué el tema científico de moda durante los años 1908, 909, 10 y 11, hasta que suficientemente controlada y ante nutridas estadísticas de detractores y partidarios que dieron con el porcentaje de su falibilidad, fué aceptada de manera uniforme y puesta al servicio cotidiano de la clínica y terapéutica sífilítica,

En junio de 1908 se creaba en el Instituto Pasteur de París un servicio de suero diagnóstico bajo la dirección de M. Levaditi uno de los primeros biólogos actuales de la Francia. M. Levaditi en colaboración con M. Latapie modificando la técnica preconizada por Wassermann en la reacción de Bordet-Gengou para el diagnóstico de la sífilis, someten dicho procedimiento a un riguroso y serio control publicando una ordenada estadística, con sus correspondientes conclusiones sobre más de 4000 sueros y líquidos céfalo-raquídeos. (7)

Después de agrupar los casos en cuatro categorías:

- a) sujetos cuya sífilis es segura o muy probable.
  - b) sujetos portadores de lesiones de origen ignorado, pero que podrían ser de naturaleza específica.
  - c) casos en que la sífilis es poco probable.
  - d) casos seguramente no sífilíticos tomados como testigos
- terminan estos autores afirmando la gran utilidad de la reacción Wassermann y agregan: «Les indications fournies par le laboratoire

(1) The Diagnostic: W. Warnerf 1913, New York.

(2) C. R. Soc. Biol. 1908 no. 22 y L'Obstetrique En Feb. Abr. 1909.

(3) Berlin Klin. Woch 1909 p. 588

(4) Ber. Klin. Woch 1908 p. 877.

(5) C. R. Soc. Biol. 1908 p. 971.

(6) Bull. Soc. patol. exot. 1909, Nov. 10.

(7) Le serodiagnostic de la syphilis. Presse Med. 16 avril 1910-4 nov. 1911.

sont des plus precieuses, puis qu'elles permettent de depister la verole lá ou il n'y a que de simples prèsumptions.»

A la par que la reacción en sí, fué profundizándose el estudio de los elementos biológicos que en ella intervienen. Cada autor proponía modificaciones a su decir de benéfico resultado; la técnica fué alterada de diversas formas según veremos más adelante; se sustituía el amboseptor anti-cordero, por sueros hemolíticos de buey, caballo, humanos, cobayo, cabra, etc.

Se discutió el problema de la inactivación de los sueros a examinar, publicándose sobre este particular un sinnúmero de monografías que hicieron mucha luz sobre la naturaleza de las alexinas. M. Ferrata mostraba por ej. que por la diálisis de los sueros frescos, la alexina se disocia en dos componentes; uno de ellos está contenido en el precipitado que representa una parte de las globulinas del suero, mientras que el otro se encuentra en el líquido superficial. Ninguno de estos componentes hemoliza los hematíes sensibilizados, sin embargo una vez reunidos actúan como la alexina. Para obtener esta misma separación Sachs y Altmann se sirvieron del HCl y Cohn y Liefmann del CO<sub>2</sub>.

M. S. Muternilch (1) yendo más allá en el estudio de los dos eslabones (chaînons) de la alexina, observó que la inactivación a 56° de los sueros no provoca la destrucción de la alexina, sino un retardo en la precipitación por la diálisis de las globulinas y una especie de estabilización de las mismas.

Pasaremos momentaneamente por alto para volver sobre ello más adelante las controversias sobre la composición del agua fisiológica, la inactivación de los sueros, la temperatura a efectuarse la reacción y en suma todos los detalles de la técnica.

## EL ANTIGENO

Pero el problema más interesante a dilucidar en la suero-reacción, tanto del lado científico como técnico, lo constituyó siempre el antígeno.

Sabido es, que dada la imposibilidad del cultivo de la «spirochaeta», Wassermann tuvo que recurrir al extracto acuoso de hígado de feto heredo-sifilítico, en el que suponía una disolución de treponemas.

M. Levaditi partía del polvo de hígado con el que preparaba un extracto alcohólico al 15 %

Diversos autores a la vez preconizaron los extractos etéreos, ace-

---

(1) Comptes Rendus Soc. Biol. T LXX pág. 577.

tónicos, alcohólico-etéreos, etero-acetónicos etc. de hígado heredo sifilítico.

Erlich y Sachs (1) ponen en duda la acción específica del antígeno pues Levaditi y Yamanouchi, Porges, Meier, Toyosumi, Eisler y otros autores lograban la desviación del complemento usando como antígeno, hígado humano normal, corazón humano, y de cobayo etc.

Noguchi (2) también prepara un antígeno partiendo de órganos normales (hígado, riñón, corazón etc., humanos y animal); de los que extrae los lipoides por una maceración alcohólica, redisolución etérea y por fin precipitación acetónica. De este antígeno se imbiben papeles que reemplazan a la solución, lo que facilita su transporte.

No contentos con los extractos de origen animal, diversos autores ensayan antígenos vegetales, lo que acentúa la discordancia y anarquía de opiniones sobre este tópico.

M. L. Tribondeau (3) en una nota presentada por M. Laveran comunica que ciertos extractos de farináceas (avenas, lentejas, arvejas etc.) actúan vis a vis de los anticuerpos sifilíticos como los extractos-lipoides animales.

Desvían el complemento en presencia de sueros sifilíticos no haciéndolo en presencia de sueros normales.

Prepara este autor extractos brutos y depurados obteniendo mejores resultados de estos últimos.

Tratando los cereales molidos (de preferencia arvejas) por el éter, elimina las sustancias inútiles a la reacción (pigmentos, grasas, resinas, etc.) Luego por medio de la acetona prepara un extracto lipoidico lo que constituye su antígeno. Sostiene M. Tribondeau que los extractos vegetales presentan la misma riqueza en colesteroína y lecitina que los animales, sin contener ciertas proteínas que hacen anticomplementarios a estos últimos.

Nosotros tuvimos oportunidad de asistir a algunos ensayos del antígeno vegetal de Tribondeau practicados por dicho autor en el Laboratoire Central del Hôpital Saint Louis dirigido por M. Gastou.

M. Tribondeau no ha publicado estadísticas que permitan juzgar del valor de su antígeno.

Vemos pues que cuanto más se estudió el punto, mayores fueron las dificultades presentadas por el problema.

Y así como Citron (4) afirmaba la superioridad del extracto acuoso de feto heredo-sifilítico, Levaditi el alcohólico, Noguchi el etero-alcohólico, Tribondeau un extracto vegetal; cada laboratorio traba-

(1) Kolle und Wassermann 11 Supl. Pág. 497.

(2) Rockefeller Institut. 1910.

(3) Comptes rendus Academie des Sciences 27 Enero 1915.

(4) Kolle und Wassermann pág. 52 II Sup.

jando con antígeno diferente produce fatalmente resultados distintos, sobre todo en una reacción delicada como la de Wassermann.

Para no citar más que un caso concreto: M. Monsieur L. B. presentóse en diciembre último al Instituto Pasteur (servicio de suero-diagnóstico de M. Levaditi). Era portador de un chancro de 10 días el que examinado al ultra, nos reveló su especificidad. Practicada la reacción de Wassermann dió resultado positivo. El mismo enfermo al día siguiente hacía analizar su sangre en el Hospital Saint Louis y en el laboratorio particular de M. O. . . . . . uno de los más afamados de París.

El resultado fué:

Instituto Pasteur	}	R. Wassermann—Positiva.
Técnica Hetch Levaditi		
Antígeno Levaditi—Latapie		
Hospital S. Louis	}	R. W. Parcialmente Positiva.
Técnica Gastou		
Antígeno Noguchi		
Laboratorio M. O.	}	R. W.: Negativa
Técnica. . . . ?		
Antígeno. . . ?		

La frecuencia de casos como este es perfectamente natural que haga perder a los clínicos la fé en la reacción de Wassermann. Pero conviene no olvidar que no existe un método analítico algo delicado, que practicado en distintos laboratorios y con diversos reactivos proporcione resultados concordantes,

El injusto descrédito de la reacción de Wassermann se debe simplemente a su mercantilización. Quien ha controlado por ej. la técnica y el antígeno usado por un laboratorio particular? Un simple detalle, la vejez por ej. de la suspensión globular, una dosis un poco fuerte de alexina o una mala titulación de la misma pueden dar un Wassermann negativo con un suero perfectamente específico. Por desgracia, personas no muy familiarizadas con la técnica analítica cuantitativa, practican a diario el suero diagnóstico de la sífilis; sin atribuir el verdadero valor científico que su respuesta al clínico encierra.

A raíz de una serie de experiencias Levaditi y Yamanouchi (1) demostraban que contrariamente a los verdaderos antígenos las sustancias activas del extracto de hígado sífilítico o normal son solubles en alcohol; que este extracto hepático es rico en sales biliares y en lipoides análogos a la lecitina.

Agregan luego: «la suero-reacción de la sífilis no es debida a la intervención de anticuerpos o de antígenos sífilíticos en el sentido

---

(1) C. R. Soc. Biol. 1907 p. 38.

habitual de la palabra y no tiene ninguna relación con el treponema pálido. Siendo característica, ella es atribuible a la presencia en el suero y en el líquido céfalo raquídeo, de ciertos compuestos no proteicos al estado coloidal que en presencia de sales biliares y de lipoides del hígado precipitan y determinan la fijación del complemento. Estos compuestos provenientes probablemente del organismo pueden ser éteres de colessterina, ácidos grasos del suero etc »

Diversos autores: Kraus y Volk, Weygarat, Plant, Fleischmann, Levaditi, Marie etc. han en efecto demostrado más tarde, que la reacción de Wassermann no era en realidad una reacción específica de desviación del complemento del tipo por ej. de la de Bordet y Gengou con el bacilo de Eberth o el vibrión colérico.

Más tarde insistiremos sobre el mecanismo del fenómeno y sobre la concepción actual del mismo.

Estas constataciones sobre la no especificidad microbiana con respecto al antígeno, dieron por resultado que se imaginaran toda una série de procedimientos físicos y químicos para el diagnóstico de la sífilis, pretendiendo sustituir a la sueroreaccion de Wassermann, a la que maestros de la talla de M. Calmette reconocían como primordial defecto el de ser *de muy complicada manipulación*.

### Otros métodos de diagnóstico de la sífilis

Klausner (1) propone un método sumamente simple: verter en un tubo de ensayo:

Suero a examinar c.c. 0. 2

Agua destilada c.c. 0. 7

Abandonar 15 horas a la temperatura del laboratorio o de preferencia a 37.º.

Los suero sífilíticos deben dar un ligero precipitado, fenómeno debido al pasaje de los lipoides al estado coloidal por acción del agua destilada.

Hemos tenido oportunidad de practicar esta reacción con los siguientes resultados:

	Nº. de casos	R. Klausner	R. Wassermann
Sífilis primaria	52	10 + (2) 15 dudosos 7 —	28 + 4 p
Sífilis secundar.	40	17 + 15 dudosos 8 —	37 + 3 p

(1) Kolle und Wassermann p. 538 II Supl.

(2) + significa positivo

p » parcialmente positivo

— » negativo

Todo comentario sobre el valor de este método sería inútil.

Por otra parte, varias veces hemos obtenido el mencionado enturbiamiento lechoso con sueros perfectamente normales (8 veces). El único interés que podría tener el método sería teórico, tendiendo a comprobar la mayor inestabilidad de los sueros sifilíticos vis a vis de cualquier agente químico.

M. Porgés lanza un método que Nobi, Artz, Kren y Fritz etc. apoyan con bastante decisión. Consiste en verter en un tubo de ensayo delgado (6 mm x 6):

Ovolecitina Merck emulsión al 1 % en agua	c.c. 0. 2
Suero a analizar	» 0. 2

Cinco horas de estufa a 37°.

En los casos positivos se formará un precipitado que flotará en la superficie del líquido. Sobre 16 casos de sífilis primaria obtuvimos solo 7 veces la formación del precipitado sobrenadante, razón por la que no insistimos en la práctica de esta reacción.

Otto Heman y A. Perutz (1) propusieron ciertas modificaciones a la reacción de Porges. Ultimamente estos autores aconsejan operar como sigue:

Preparar una solución de:

Glucocolato de soda.....	2	gs.
Colesterina .....	0.40	»
Alcohol a 95.....	100.	»

Esta solución es diluida al 1/20 en agua destilada.

A 0. 4 c. c. de suero a examinar, se añade 0. 2 cc de la solución de colessterina y 0.2 de la solución de glucocolato al 2 %. Se abandona durante 20 horas a la temperatura ambiente; luego si se ha producido un depósito coposo la reacción es considerada positiva.

El suero debe ser inactivado a 56° 1/2 hora. Ellermann, Boas, Thomsen etc. dicen que un calentamiento de 5 minutos es suficiente. Kallo sostiene que la reacción es mucho más nítida con sueros frescos.

Sostienen Herman y Perutz que esta reacción es superior a la de Wassermann en la sífilis latente, tabéticos, paralíticos generales etc. pues según Kallos él obtuvo 66,6 % de casos positivos mientras que la reacción de Wassermann solo acusó un 65 %.

Nosotros no hemos ensayado este procedimiento; luego no nos creemos autorizados a opinar.

Schurmann (2) suponiendo que la reacción Wassermann era debida

---

(1) Klinik Deutsh Med. Woch 1912 N° 41.

(2) Sur le diagnostic de lu Syphilis au moyen d'une matière colorante (Deuts med. Woch: 8 Abril 1909 p. 616.)

a la presencia de ácido láctico preconizó el siguiente procedimiento: que llamó «reacción de los colores».

Se diluye 1c.c. de suero sospechoso en 3cc de agua fisiológica (8.5 % de NaCl) en un tubo de ensayo; se añade una gota de agua y luego 0.5c.c. de la mezcla siguiente:

Fenol líquido.....	0.5c.c.
Cloruro férrico al 5 %.....	0.7c.c.
Agua destilada.....	34.5c.c.

Los sueros normales toman una coloración verde por adición de reactivo. En las mismas condiciones los sueros sífilíticos producen una coloración marrón.

Sin haber estudiado este procedimiento, podemos afirmar que a pesar de su simplicidad no ha tenido aceptación en los laboratorios de suero-diagnóstico, lo que hace suponer su inexactitud.

Otro método químico de similar simplicidad es el de M. H. Noguchi quien ha obtenido resultados halagueños sobre todo con el líquido céfalo-raquídeo de tabéticos, paralíticos generales, sífilis cerebral (1) etc.

Se toman 0.2c.c. de líquido céfalo-raquídeo al que se añade 0.5 de la siguiente solución:

Acido butírico.....	10	gr.
Cloruro sódico.....	0.90	»
Agua destilada.....	100	»

Se hace hervir rápidamente; añade luego 0.1cc de NaOH normal y nueva ebullición. Si se forma un precipitado se trata de un líquido sífilítico o parasífilítico. Tratándose de sueros parece que esta reacción no tiene tal exactitud puesto que el mismo prof. Noguchi aplica la desviación del complemento con modificaciones que más adelante tendremos oportunidad de mencionar.

Desde el momento que la reacción de Wassermann tal como hoy es practicada, se reduce a procesos físico-químicos, sin que en ella intervenga la especificidad biológica como en un principio se aceptó la idea de hallar un reactivo químico capaz de producir un fenómeno también químico de fácil apreciación y que ponga en evidencia las sustancias que diferencian a un suero específico de otro normal no resulta exenta de lógica. Nosotros no dudamos de que la química, echando mano de sus innumerables recursos llegará algún día a la solución de este interesante problema, quizás cuando se avance más en el estudio de nuestros humores, lo que proporcionaría una base más sólida a dicha investigación. A raíz de ciertos trabajos de Schereschewsky en 1909, de Mühlens y Hoffmann, sobre el cultivo del *treponema pallidum*, el prof. Hideyo Noguchi del «Rockefeller Institut»

---

(1) *Moth. Pathology of syphilis of the new system in the light of modern research-British med Jour: p. 451-20 Feb. 1909.*

de New York anunciaba (1) en agosto de 1911 que había logrado cultivar la espiroqueta en medio anaerobio a base de suero de conejo, caballo o cordero, diluido al 1/4 en agua destilada y adicionado de un trozo de riñon o de testículo de conejo normal. El todo es recubierto de aceite de parafina para lograr la anaerobiosis, condición *sine qua non* para obtener desarrollo de las primeras razas de espiroquetas.

Partía Noguchi de testículos sifilíticos de conejos infectados con productos humanos (chancros, placas).

El treponema se multiplica en estas condiciones, agrega el autor: a partir de las 48 horas, alcanzando sus dimensiones normales al cabo de 12 días.

Consiguió con ciertos cultivos efectuar hasta 25 pasajes. Para separar en las primeras culturas los microbios asociados, una filtración a través de la bujía de Berkefeld daba buenos resultados. El treponema atraviesa la bujía al cabo de 5 días.

Sirviéndose de dos cultivos diferentes, Noguchi reproduce lesiones sifilíticas características en el testículo del conejo.

Partiendo de productos sifilíticos humanos e impuros del punto de vista microbiológico, Noguchi obtiene cultivos puros de treponema por siembras sucesivas (2). Preconiza en este caso como medio de cultivo: 2 partes de gelosa al 2 % ligeramente alcalina, más una parte de líquido ascítico o de hidroceles. Se añade un fragmento de tejido normal (riñon o testículo de conejo). Por trasplantes sucesivos se obtiene el microbio puro.

Noguchi afirma que el treponema se multiplica por división longitudinal. Describe tres variedades morfológicas: el treponema espeso, el mediano y el delgado. A diferencia de forma corresponde diferencia de virulencia y hasta de lesiones. Finalmente en una tercera comunicación describe el autor (3) un procedimiento para el cultivo del treponema en medio sólido y líquido a la vez; que hace extensivo al treponema microdentium, macrodentium, refringens, mucosum, per-tenne etc.

Por otra parte Levaditi y Danulesco han ensayado insistentemente repetir el método de cultura de Noguchi para el treponema pallidum, partiendo de chancros escrotales del conejo y de materiales humanos. Los resultados han sido siempre negativos, pues si bien la pululación de los espirilos ha sido relativamente abundante los

---

(1) Journ of exp. med: T. XIV p 99-108.

(2) The direct cultivation of treponema pallidum pathogenic for the Monkey Journ of exp. Med. T. XV p. 99-100-201-204.

(3) A method for cult. trep. pall. in fluid medio-Journ of exp. medic. Agosto 1912

autores afirman (1) que no se trata de la espiroqueta de la sífilis, sino de un espirilo que ellos identifican a la «*spirochète gracilis*» (2);

Teniendo a su disposición una cultura enviada por M. Noguchi, Levaditi ha realizado un minucioso estudio del parásito, que lo autoriza a afirmar entre otras cosas, que es más grueso que la «*spirochète pallida*», sus ondulaciones son más amplias y más regulares, no es patógeno para la laucha, conejo, cobayo, orangután, macaco. etc. y en fin que no vacuna el conejo contra la infección escrotal por el método de Truffi.

Ultimamente en agosto de 1913 durante su visita al Ins. Pasteur, el sabio japonés en una «*séance privée*» (a la que tuvimos el honor de asistir), mostró a los representantes de la ciencia francesa, sus cultivos de *treponema pallidum*, *pertenne*, *calligyrum*, *macrodentium*, *refringens*, *microdentium*, *mucosum*, como así del virus rábico (3).

M. Levaditi hallándose ausente, realizó a su regreso, numerosas experiencias de cultivo de espiroqueta de Schaudin, siguiendo rigurosamente la técnica descrita por M. Noguchi y expuesta en un detallado artículo (4) de la *Presse Médicale*.

Tuvimos también ocasión de presenciar los trabajos de M. Levaditi quien tampoco esta vez estuvo de acuerdo con M. Noguchi.

Examinando al ultra microscopio y por coloración sobre preparado al Giemsa y sobre todo al método Fontana-Tríbondeau (5) afirmó M. Levaditi que se trataba de cultivos impuros, que difieren morfológicamente del «*treponema pallidum*».

M. Levaditi no dió publicidad a estos trabajos como tampoco a los referentes al cultivo del virus rábico que llevara a cabo a raíz de la publicación de Noguchi, a que acabamos de hacer mención.

Cultivada la espiroqueta exenta de todo otro microbio por pasajes sucesivos y filtración a través de la bujía Berkefeld, Noguchi propuso otro nuevo método de diagnóstico de la sífilis: la dermo-reacción a la luetina (6) análogo al de la tuberculina para el diagnóstico de la tuberculosis. Se tritura el depósito rico en espiroquetas, de una cultura anaerobia en gelosa y se añade una cultura en medio líquido (ambas han sido mencionadas más arriba).

Se calienta todo, una hora a 60 grados y se adiciona luego 0.5 % de ácido fénico.

Al exámen se constata la presencia de 40 a 100 *treponemas* por

(1) Levaditi y Danulesco *C. R. Soc. Biol.* Julio 1912.

(2) Levaditi y Stanesco *Bull. del Inst. Pasteur T. VII* pag. 910.

(3) *Etudes cultureles sur le virus de la rage-Pressé Med.* 6-septembre-1913.

(4) *La culture du tréponéme pâle-Pressé Med.* 4 Oct. 1913

(5) Fontana-*Patholog.* 1915-t. 5 N° 109 *Tribondeau-Bull de la Soc. de Dermatologie* Nov. 7 1912.

(6) *A cutaneous reaction in syphilis Journ of exp. med t. XIV* p. 557.

campo. El líquido así obtenido es incoloro, ligeramente lechoso y se denomina «luetina». Las inyecciones se practican en la dermis con una jeringa especial a la dosis de 0.2c.c.

En el hombre, si no se produce más que una aureola rojiza en el punto de la inyección, sin ninguna induración, y desapareciendo todo a las 60 horas como máximo, se dice que la cutireacción es negativa. En cambio la reacción positiva aparece al cabo de 24 a 48 horas y dura alrededor de una semana.

Noguchi distingue tres tipos de reacción positiva: la pápula, la pústula y una forma tardía la cual no es más que una pequeña pústula que aparece al décimo día (y aún más tarde) de la inoculación.

Noguchi publicó estadísticas muy interesantes según las que afirma que la reacción a la luetina da un porcentaje de casos positivos de 100 % en la sífilis terciaria, 94 % en la terciaria latente y 94 % en la sífilis hereditaria.

En los periodos primario y secundario los resultados son inferiores a la reacción Wassermann. El tratamiento mercurial o arsenical, agrega el autor, no influencia absolutamente la cutireacción.

En Francia mucho más aún que en Alemania fué puesta en experiencia y estudiada la cuti-reacción de Noguchi.

Levaditi y Alcock (1) realizaron experiencias muy interesantes, practicando paralelamente la cuti-reacción con la luetina en un brazo y con extracto de tripanosomas en el otro. Observaron así que en muy numerosos casos de sujetos indemnes de sífilis los dos resultados fueron positivos.

M. Alcock nos brindó la oportunidad de asistir a las experiencias por él realizadas sobre más de 100 casos, en el Asilo de Villejuif. Agradecemos una vez más a M. Alcock tan amable deferencia.

A nuestro muy modesto juicio, los resultados de la cuti-reacción son aún vagos y confusos. Es menester muy buena voluntad para reconocer diferencia entre ciertas reacciones luteínicas positivas y negativas. Hay casos en que la diferencia es neta; pero constituyen la minoría.

M. A. Marie de Villejuif y M. Alcock (2) en una nota muy documentada dan cuenta de los resultados de 100 reacciones a la luetina, estudiando paralelamente la reacción Wassermann en el suero y líquido céfalo raquídeo, como así la linfocitis y albúmino-reacción de Ravaut en este último. Concluyen los autores, que si bien los resultados son alentadores en la sífilis terciaria sobre todo; carece de precisión para usar la cuti-reacción como único medio de diagnóstico.

M. Lagane y M. Alcock (3) en una detallada comunicación y des-

---

(1) Trabajo inédito

(2) Bull. et Mem de la Soc. Med. des Hopit. 21-Nov. 1913.

(3) Bull et Mem de la Soc. Med. des Hôp. de Paris. 12 diciembre 1913.

pues de considerar la cuti-reacción aplicada en casos de sífilis primaria, secundaria, terciaria, hereditaria, en la parálisis general, demencia etc. terminan diciendo: «La luteine-reaction nous semble donc interessante pour doubler la reaction de Wassermann, dans le diagnostic de la syphilis et comme l'a montré son auteur au point de vue pronostic mais il nous semble aussi, que des recherches plus etendues sont encore necessaires pour la mettre au point».

En suma reconozcamos hoy la indiscutible superioridad de la reacción de Wassermann, sobre todos los otros procedimientos de diagnóstico de la avariosis. Y ya conocido su coeficiente de error, es menester unificar técnicas y reactivos para obtener resultados comparables.

### LOS ANTÍGENOS ARTIFICIALES

Como ya hemos hecho notar más arriba; de todas las sustancias en juego en la reacción de Wassermann el antígeno es de una importancia muy superior al resto; desde que de su elasticidad depende directamente el resultado de una suero-reacción.

Ahora bien; esa elasticidad ó límite entre la dosis mínima capaz de fijar el complemento en presencia de un suero específico y la dosis máxima que no impide la hemólisis en reacción con un suero normal, es absolutamente variable entre varios extractos de hígado heredo-sifilítico; de ahí los resultados diferentes obtenidos al emplear diversos antígenos específicos (más adelante haremos de nuevo alusión a estas divergencias).

La titulación del antígeno en la forma que hoy se practica y de la que en breve daremos detalles, nos revela su calidad de una manera precisa.

La presencia del treponema en un hígado heredo-sifilítico, investigada por el procedimiento de Burri, Loeffler, Fontana, Tribondeau, el ultra microscopio o bien histológicamente por el método Levaditi o por el de Noguchi, ha quedado demostrado que no tiene la importancia que en un principio se le atribuyó, con respecto a la bondad del extracto que de ese hígado pudiera obtenerse.

Se trata aquí de un estado especial de variaciones cuali y cuantitativas de los lipoides hepáticos.

Hemos podido comprobar que ciertas veces un antígeno preparado a partir de un hígado heredo-sifilítico, en el cual los métodos arriba mencionados no revelaron la presencia del treponema, fué superior en calidad a otro antígeno obtenido de un hígado en que la espiroqueta existía en abundancia.

En el primero el coeficiente de elasticidad (1) fué igual a 5.55 mientras en el segundo solo alcanzó a la cifra de 5.

En general, un antígeno que acuse un coeficiente de 4.5 calculado

---

(1) Coeficiente de elasticidad  $\frac{\text{dilución máxima}}{\text{dilución mínima}}$

sobre un gran número de sueros y siguiendo diversas técnicas, puede ser ya considerado como aceptable.

Se comprenderá ahora, sin gran esfuerzo, que ciertos sueros (sífilis primaria u otros grados en tratamiento mercurial o arsenical) pueden ser positivos por ej. vis a vis de un antígeno de coeficiente 5 y solo parciales vis a vis de otro antígeno de coeficiente 3.

Y bien, fué en la esperanza de suprimir estas molestas divergencias que se pensó en la preparación de un antígeno perfectamente artificial y de composición química conocida, el que presentaría grandes ventajas de orden científico y práctico.

En efecto, dada la constancia de su fórmula se establecería una vez por todas su falibilidad y los resultados obtenidos por todos los laboratorios con el mismo suero, serían perfectamente concordantes.

Eso resultaría de gran valor para el clínico que sigue a conciencia y paso a paso el proceso evolutivo de la enfermedad y los resultados de la terapéutica aplicada.

Por otra parte la facilidad de su preparación permitiría a todos proveerse en cualquier cantidad.

Tan interesante problema fué abordado en forma seria y atendida primeramente en Alemania en 1909 por Sachs y Rondoni y luego en Francia en 1913 por A. Desmoulière.

Como el problema también nos sedujera y alentados por las luminosas indicaciones de nuestro sabio maestro y distinguido amigo el Profesor Levaditi, nos propusimos encararlo, para lo cual era menester como primera medida controlar esos dos antígenos, los más difundidos y conocidos.

He aquí los resultados obtenidos por nosotros. (1):

### ANTÍGENO DE SACHS Y RONDONI (2)

Composición:

Oleato de soda.....	2.50	grs.
Lecitina .....	2.50	»
Acido oléico.....	0.75	»
Agua dest.....	12.50	»
Alcohol absol. c. s. para. ...	1000	c.c.

Hemos seguido para todas las determinaciones la técnica Wassermann y Hecht-Levaditi paralelamente.

A raíz de los primeros ensayos (titulación del antígeno, alexina y amboceptor notamos ya, que la mezcla de Sachs y Rondoni, era manifiestamente hemolítica.

Su coeficiente de elasticidad llegaba solo a 2.

Por solo nuestra página de resultados del día 8 de setiembre, podrá sacarse en conclusión el valor de dicho antígeno:

(1) C. A. Sagastume. Les antigènes artificiels dans la reaction de Wassermann C. R. Soc. de Biol. 29—Nov. 1913.

(2) Kolle und Wassermann II Sup. 1909 p. 552

**Septiembre 8 - Ensayo comparativo (1)**

SUERO N.o (1)	A S.		A.E.	
	M.R.	T.W.	M.R.	T.W.
7444	—	—	—	—
7445	—	—	—	—
7446	—	—	—	—
7447	—	—	—	—
7448	—	—	—	—
7449	+	+	+	+
7450	—	—	-	—
7451	—	—	—	—
7452	—	—	+	+
7453	—	—	+	+
7454	—	—	—	—
7455	—	—	—	—
7456	p	—	+	+
7457	—	—	+	p
7458	—	—	—	—
7459	—	—	—	—
7460	—	—	—	—
7461	p	p	+	+
7462	—	—	+	+
7463	—	—	+	+
7464	—	—	—	—
7465	—	—	—	—
7466	—	—	—	—
7467	p	—	+	+
7468	—	—	—	—
7469	—	—	+	+
7470	p	p	+	+
7471	—	—	—	—
7472	—	—	—	—
7473	—	—	—	—
7474	—	—	+	+
7475	—	—	—	—
7476	p	p	+	+
7477	—	—	+	+
7478	—	—	—	—
7479	—	—	—	—
7480	—	—	—	—
7481	+	+	+	+
7482	—	—	+	+
7483	—	—	—	—
7484	—	—	—	—
7485	—	—	—	—
7486	—	—	—	—
7487	—	—	—	—
7488	—	—	—	—
7489	—	—	—	—
7490	p	—	+	+
7491	—	—	—	—

(1) Números del Registro del Instituto Pasteur.

- A. S. = Antígeno Sachs y Rondoni.  
A. E. = Antígeno específico.  
M. R. = Método rápido (Hecht-Levaditi).  
T. W. = Técnica Wassermann.  
+ = Suero positivo.  
- = » negativo.  
p = » parcialmente positivo.

Se ve pues que el antígeno Sachs y Rondoni es muy hemolítico.

Continuando nuestras experiencias sobre un número más elevado de sueros llegamos a establecer el siguiente porcentaje:

Sobre 100 sueros positivos con el antígeno específico de hígado heredo-sifilítico, la mezcla de Sachs y Rondoni ha dado:

- 35 casos positivos  
17 » parciales  
48 » negativos.

Mientras que sobre 100 sueros negativos hemos obtenido exactamente el mismo resultado.

«Estos hechos muestran, decíamos en nuestra comunicación a la Societé de Biologie, que el antígeno en cuestión es una mezcla bastante hemolítica cuyo empleo no aconsejamos, pues el porcentaje de sueros negativos es demasiado elevado tratándose de enfermos ciertamente sifilíticos (chancro, roseola, placas etc.)

Aún forzando su concentración (de 1/20 a 1/10) no logramos mejorar los resultados.

Según técnica Hecht-Levaditi (1) empleábamos 0.1—0.2 de antígeno 0.1 de suero y 0.1 de suspensión globular al 5 %.

En la técnica Wassermann, la alexina la obteníamos de 3 o 4 cobayos la que titulamos después de bien mezclada y en presencia del antígeno según lo aconsejó por primera vez Otto Thomsen (2).

### ANTÍGENO DESMOULIÈRE

En una série de comunicaciones a la Academia de Ciencias de París (3) M. A. Desmoulière despues de hacer resaltar la excelencia de su antígeno «reforzado» a base de colessterina, dá en la última de esas cuatro notas la fórmula de un antígeno completamente artificial con el que afirma haber obtenido en 150 experiencias, resultados análogos a los de un buen antígeno heredo-sifilítico.

Se compone su antígeno de:

Colessterina pura.....	1.gr
Solución en alcohol abs. de ovolectina al 0.50 %..	10.cc
Solución a 37 ‰ de jabón de soda seco en alcohol a 60 grados.....	5.cc
Alcohol abs..... c.. s..... para.....	100.cc

(1) Seguida por este autor, Latapie y Girard en el Inst. Pasteur.

(2) Zeitz. F. Inm. 1910 Bd. VII.

(3) 23 Set. 4 Nov. 1912 y 27 En. 1913.

Nosotros preparamos este antígeno exactamente en la forma descrita por su autor, es decir, añadiendo la colessterina a la mezcla de los licores y llevando en un matraz bien tapado a la estufa a 37 grados, agitando frecuentemente hasta completa disolución, la cual requiere 12 horas como mínimo. Creemos que es preferible pulverizar la colessterina usando para ello algunos centímetros cúbicos de cloroformo o alcohol absoluto calentado a 40–50°.

Según lo indica su autor, nosotros efectuamos una dilución del antígeno al 1/15 en agua fisiológica, la que produce un enturbiamiento blanco lechoso. Titulamos el amboseptor en presencia de 0.1 0.2 y 0.3 c.c. de esa dilución. Empleamos alexina proveniente de varios cobayos y diluida al  $\frac{40}{60}$  usando por último 0.1—0.2 y 0.3 de la emulsión de antígeno en las reacciones con él practicadas.

Para la apreciación de los resultados seguimos como siempre la clasificación más corriente adoptada por M. Levaditi positiva, parcial y negativa. no usando la escala colorimétrica de Vernes (al ácido pícrico y fuscina) como aconseja M. Desmoulière por haber comprobado despues de ensayarla, que el factor personal de apreciación en la gama de hemolisis de H<sub>1</sub> a H<sub>8</sub> tiene una grandísima influencia. Además cuando se trabaja en series de sueros más o menos grandes como nosotros lo hacíamos, presenta el método colorimétrico de Vernes el inconveniente de requerir la centrifugación de cada suero lo que constituye una gran complicación.

Para establecer el coeficiente de elasticidad efectuamos la titulación como especificamos en el siguiente cuadro: tomando como sueros tipos, 2 de sífilis segura y Wassermann positivo y el tercer suero parcial (siempre vis a vis de un bien controlado antígeno de hígado heredo-sifilítico). Eso para los positivos.

Como sueros negativos los de personas indemnes de sífilis y de Wassermann negativo.

Explicación del cuadro:

T. = Tubos.

A. D. = Antígeno Desmoulière

A. F. = Agua fisiológica

S. = Suero

+ = Positivo

— = Negativo

p = Parcial

S. G. = Sangre (suspensión globular al 1/20)

I-II etc. = Número de experiencias análogas. (1)

---

(1) Ensayando cada vez distintos sueros positivos, parciales y negativos.

Hemolisis 0 = Hemolisis nula

» p = » parcial

» c = » completa

Los denominadores de los quebrados indican las partes de agua fisiológica y el numerador las partes de antígeno puro.

**Antígeno AD**

**MÉTODO RÁPIDO**

S	T	AD	AF	S	SG	RESULTADO-HEMOLISIS							
						I	II	III	IV	V	VI	VII	
+	(a)	1	01   1/40	0.2	0.1	0.1	0	0	c	c	c	0	c
		2	02   1/40	0.1	0.1	0.1	0	0	c	c	c	0	c
		3	01   1/30	0.2	0.1	0.1	0	0	c	0	c	0	c
		4	02   1/30	0.1	0.1	0.1	0	0	c	0	c	0	c
		5	01   1/20	0.2	0.1	0.1	0	0	c	0	c	0	c
		6	02   1/20	0.1	0.1	0.1	0	0	c	0	c	0	c
		7	01   1/10	0.2	0.1	0.1	0	0	c	0	c	0	0
		8	02   1/10	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	c	0	0
		9	01   1/5	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
		10	02   1/5	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
		11	—	0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
+	(b)	1	01   1/40	0.2	0.1	0.1	0	c	c	c	0	c	c
		2	02   1/40	0.1	0.1	0.1	0	c	c	c	0	c	c
		3	01   1/30	0.2	0.1	0.1	0	c	c	p	0	c	c
		4	02   1/30	0.1	0.1	0.1	0	c	c	p	0	c	c
		5	01   1/20	0.2	0.1	0.1	0	c	c	p	0	c	c
		6	02   1/20	0.1	0.1	0.1	0	c	c	0	0	c	c
		7	01   1/10	0.2	0.1	0.1	0	c	c	0	0	c	0
		8	02   1/10	0.1	0.1	0.1	0	c	c	0	0	0	0
		9	01   1/5	0.2	0.1	0.1	0	0	c	0	0	0	0
		10	02   1/5	0.1	0.1	0.1	0	0	c	0	0	0	0
		11	—	0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
p	(c)	1	01   1/40	0.2	0.1	0.1	0	c	c	c	c	p	c
		2	02   1/40	0.1	0.1	0.1	0	c	c	c	c	p	c
		3	01   1/30	0.2	0.1	0.1	0	c	p	c	c	p	c
		4	02   1/30	0.1	0.1	0.1	0	c	0	c	c	p	c
		5	01   1/20	0.2	0.1	0.1	0	c	0	c	c	0	c
		6	02   1/20	0.1	0.1	0.1	0	c	0	c	c	0	c
		7	01   1/10	0.2	0.1	0.1	0	c	0	p	c	0	0
		8	02   1/10	0.1	0.1	0.1	0	c	0	0	p	0	0
		9	01   1/5	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
		10	02   1/5	0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
		11	—	0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c

**Antígeno AD**

**MÉTODO RÁPIDO**

S	T	AD	AF	S	SG	RESULTADO-HEMOLISIS							
						I	II	III	IV	V	VI	VII	
(d)	1	01	1/40	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	2	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	3	01	1/30	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	4	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	6	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	p	c
	7	01	1/10	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	p	c
	8	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	p	c	0	0
	9	01	1/5	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	10	02		0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	11	—		0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
(e)	1	01	1/40	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	2	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	3	01	1/30	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	4	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	6	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	7	01	1/10	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	0
	8	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	0	0
	9	01	1/5	0.2	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	10	02		0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	11	—		0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
(f)	1	01	1/40	0.2	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	2	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c
	3	01	1/30	0.2	0.1	0.1	c	c	c	0	c	c	c
	4	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	0	c	c	c
	5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	c	c	c	0	c	c	c
	6	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	0	c	c	c
	7	01	1/10	0.2	0.1	0.1	c	c	c	0	c	p	c
	8	02		0.1	0.1	0.1	c	c	c	0	c	0	c
	9	01	1/5	0.2	0.1	0.1	p	c	0	0	p	0	c
	10	02		0.1	0.1	0.1	0	0	0	0	0	0	0
	11	—		0.3	0.1	0.1	c	c	c	c	c	c	c

Se ve pues, que el índice no es superior a 1 y por consiguiente de un valor muy mediocre.

La dilución al 1/40 en presencia de sueros bien positivos como en las experiencias III, IV, V y VII (a) no es capaz de fijar el complemento.

En las experiencias II y IV (b) recién la dilución al 1/5 podría aceptarse; y en el suero III (b) el antígeno falla en absoluto.

Estos solos hechos bastarían para desechar completamente tal antígeno, pero para mayor control repetimos la experiencia siguiendo el método Wassermann y aún ensayándolo sobre cerca de 600 sueros, como se verá en los cuadros siguientes.

Explicaciones del cuadro.

A = Alexina titulada.

H = Amboseptor »

S = Suero inactivado.

(Para las demás abreviaturas ver pág. 36-7).

**Antígeno AD**

**MÉTODO WASSERMANN**

S	T	AF	AD	S	A	H	SG	HEMOLISIS				
								I	II	III	IV	
+	1	1.5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	0	c	c
	2	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	p	0	c	c
	3	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	p	0	c	c
	4	1.5	01	1/15	0.2	0.1	0.1	»	0	0	c	c
	5	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	p	c
	6	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	p	c
	7	1.5	01	1/10	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	c
	8	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	p
	9	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	p
	10	1.5	01	1/5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	11	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	12	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	13	1.6	—		0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c
	14	2	—		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
+	1	1.5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	c	c	c
	2	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	c	c	p	c
	3	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	c	p	0	c
	4	1.5	01	1/15	0.2	0.1	0.1	»	c	p	0	c
	5	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	c	p	0	p
	6	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	c	0	0	0
	7	1.5	01	1/10	0.2	0.1	0.1	»	p	0	0	0
	8	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	p	0	0	0
	9	1.3	01		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	10	1.5	01	1/5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	11	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	12	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
+	1	1.5	01	1/20	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	0	0	c
	2	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	c	0	0	p
	3	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	c	0	0	0
	4	1.5	01	1/15	0.2	0.1	0.1	»	p	0	0	0
	5	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	p	0	0	0
	6	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	7	1.5	01	1/10	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	8	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	9	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	10	1.5	01	1/5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	11	1.4	02		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	12	1.3	03		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0
	13	1.6	—		0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0



Siempre comparativamente, ensayamos con sueros de enfermos de histeria clínica conocida por las dos técnicas: Wassermann y método rápido:

SUERO Nº.	AD 1/15		AE 1/25	
	MR	TW	MR	TW
612	—	—	+	+
580	—	—	+	+
579	—	—	—	—
578	p	p	—	—
75	+	p	+	+
77	—	—	+	+
74	+	+	+	+
72	—	—	—	—
70	—	—	+	+
69	—	—	—	—
82	—	—	—	—
84	p	p	—	—
85	+	+	+	+
86	—	—	—	—
87	p	p	+	+
90	+	p	—	—
615	—	—	—	—
627	+	+	+	+
28	—	—	—	—
29	p	p	+	+
30	—	—	+	+
31	—	—	+	+
32	+	+	+	+
33	—	—	—	—
34	+	+	+	+
35	p		+	+
36	p	p	+	+

SUERO Nº.	AD 1/15		AE 1/23	
	MR	TW	MR	TW
37	—	—	—	—
38	—	—	+	+
39	—	—	—	—
40	—	—	+	+
41	p	p	+	+
42	+	+	+	+
43	+	+	+	+
44	—	—	p	—
45	—	—	—	—
46	—	—	+	+
47	+	+	+	+
48	+	+	—	—
49	+	+	—	—
51	—	—	—	—
787	p	p	+	+
88	+	+	—	—
89	—	—	—	—
91	—	—	—	—
92	—	—	—	—
95	—	—	—	—
96	—	—	—	—
805	p	p	—	—
6	—	—	—	—
9	p	p	+	+
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—

AD=Antígeno Desmoulière.

Este cuadro de solo las experiencias, correspondientes a los días 8, 9 y 10 de agosto puede servir de base para juzgar del valor de la mezcla Desmoulière.

Por otra parte ensayamos el antígeno con líquidos céfalos-raquídeos que el Dr. Paul Ravaut tuvo la amabilidad de proporcionarnos en abundancia, de su servicio del Hospital Saint Louis.

Transcribiremos unicamente el cuadro de las experiencias del 12 de agosto en las que seguimos para los dos antígenos la técnica Wassermann, dado que el líquido céfalo-raquídeo no contiene alexina ni posee propiedades hemolíticas.

LIQUIDO c. r. Nº.	AD TW	AE TW	AR	RL
1	—	—	—	—
2	+	+	+	abundante
3	—	+	+	mediana
4	—	p	débil	débil
5	+	p	»	—
6	—	—	—	—
7	+	+	+	abundante
8	+	—	—	—
9	+	+	+	débil
10	—	—	—	—
11	—	—	—	—
12	—	—	—	—
13	—	+	+	débil
14	+	+	débil	—
15	—	—	—	—
16	—	+	+	abundante
17	+	+	+	»
18	—	—	—	—
19	p	p	—	—
20	—	—	—	—
21	+	+	+	débil
22	+	p	—	—
23	—	+	+	débil
23	+	+	débil	débil
24	—	—	—	—
25	—	+	+	abundante

AD=Antígeno Desmoulière.  
 AE= » específico.  
 AR=Albúmino-reacción de Ravaut.  
 RL=Reacción leucocitaria.

Por creerlo importante practicamos paralelamente la investigación de la leucocitosis (coloreando a la hematoxilina-eosina) y la albúmino

reacción de Ravaut de cuya técnica este autor tuvo la deferencia de ponernos personalmente al corriente, en su laboratorio del Hospital Saint Louis, lo que mucho agradecemos.

Analizando estos cuadros se vé pues que el antígeno Desmoulière no es ni anti complementario (como varios autores lo afirmaron) ni hemolítico, sino que como ya lo dijéramos en otra oportunidad (1) «carece de una especificidad suficiente para poder ser usado en un método tan delicado como la reacción Wassermann».

En efecto las discordancias absolutas (diferencias de +a—o viceversa) son demasiado frecuentes y no se manifiestan en un sentido determinado, como por ej. el antígeno de Sachs y Rondoni que como hemos visto se mostró marcadamente hemolítico.

Hemos visto que la elasticidad del antígeno es muy reducida lo que constituye desde ya una mala condición de todo antígeno.

Por otra parte (e insistimos en ello) las discordancias no solo de grado (+ y p) sino absolutas son frecuentes y lo que es más grave, con sueros clínicamente conocidos.

En toda divergencia entre el antígeno artificial en cuestión y el antígeno específico que servía de base de comparación, consultada la historia clínica del enfermo, coincidía con la reacción de Wassermann practicada con el extracto alcohólico específico.

Al decir divergencia nos referimos a discordancias absolutas, pues sabemos que las discordancias de grado se producen aún cuando se comparan dos buenos antígenos específicos.

Para sintetizar nuestras conclusiones sobre el punto, repetiremos aquí las estadísticas registradas para el antígeno Desmoulière que ya publicáramos en Paris (2); estadísticas establecidas sobre más de 600 sueros y una centena de líquidos céfalo-raquídeos.

Sobre 100 sueros netamente positivos vis a vis de un antígeno de hígado heredo-sifilítico y clínicamente declarados sifilíticos, el antígeno Desmoulière nos ha acusado los siguientes resultados:

47 casos positivos.

33 » parcialmente positivos.

20 » negativos.

Y sobre 100 sueros negativos vis á vis del antígeno específico y declarados por la clínica indemnes de sífilis, obtuvimos con el antígeno artificial.

89 casos negativos.

7 » parcialmente positivos.

4 » positivos.

Dados pués los resultados obtenidos con los dos antígenos artificiales más preconizados y conocidos, afirmáramos en nuestra comunicación a la Société de Biologie que: el problema del antígeno

---

(1) C. R. Soc. Biol. 29 Nov. 1913.

(2) loc. cit.

quedaba aún en pié y prometíamos volver en oportunidad sobre la cuestión.

### Diversas técnicas para la reacción de Wassermann

Según afirmábamos en páginas anteriores, la diversidad de resultados en el suero-diagnóstico de la sífilis estriba principalmente en la diferencia de técnicas seguidas.

Llegó un momento en que aquello fué un verdadero caos; las modificaciones al método de Wassermann se sucedían con frecuencia y quizás lamentable obstinación de parte de sus autores, a quienes no debe por otra parte ser atribuida directamente ninguna culpabilidad; un investigador consciente estudia un método, lo cree susceptible de modificaciones prácticas, las ensaya, critica y fundamenta una simplificación a base de estadísticas. Pero no faltan laboratorios, que seducidos por la simplicidad del nuevo procedimiento y generalmente por el ahorro de tiempo, lo adoptan y practican, sin poseerlo, a fondo y luego sin esperar que la crítica científica pronuncie su imparcial veredicto después de serio control.

Al aplicar el fenómeno de Bordet-Gengou al diagnóstico de la sífilis, Wassermann usó el extracto acuoso de hígado heredo-sifilítico como sustancia antigénica.

Por tratarse de una especie animal alejada del hombre y por ser el cordero un animal dócil y fácilmente manejable adoptó sus glóbulos rojos como reactivo de la fijación de la alexina preparando su antisuero correspondiente en el conejo, por ser este animal menos sensible que el cobayo a los fenómenos anafilácticos y proporcionar mayor cantidad de suero.

En el siguiente cuadro resumimos la técnica de dicho autor:

Tubo	AF	Antígeno	Suero	Alexina	Amboseptor	SG.
1	1.5	0.1	0.2	0.1	0.1	1 c.c.
2	1.4	0.2	0.2	0.1	0.1	
3	1.5	0.3	0.2	0.1	0.1	»
4	1.6	—	0.2	0.1	0.1	»
5	1.7	0.1	—	0.1	0.1	»
6	1.6	0.2	—	0.1	0.1	»
7	1.5	0.3	—	0.1	0.1	»
8	1.8	—	—	0.1	0.1	
9	2. cc	—	—	—	—	»

AF = Agua fisiológica

SG = Suspensión globular.

En los tubos 1, 2 y 3 se ensaya el suero sospechoso con proporciones varias de antígeno para poder apreciar su poder gradual de fijación.

El tubo 4 es un control de la hemolisis en presencia del suero a estudiar.

Los tubos 5, 6 y 7 sirven de control para verificar si el antígeno a distintas dosis no obstaculiza el proceso hemolítico.

El tubo 8 es un testigo de la reacción hemolítica en sí.

Por fin la totalidad del agua en cloruro sódico se comprueba por medio del tubo 9.

En vista de que la especificidad de la reacción estaba en función de las dosis de las sustancias en juego, fué preciso hacer un método cuantitativo en el que de cada reactivo perfectamente titulado se usara una cantidad determinada.

Del antígeno, alexina y suero hemolítico se determina el título, tomando todo el sistema como constante y solo como variable la sustancia a titular.

El suero sospechoso se inactiva sometiéndolo a 56 grados durante 30 minutos.

Con esa serie de tubos de control la reacción, descontado el coeficiente natural de falibilidad, es exacta.

Levaditi para la distribución de las distintas sustancias en reacción, se sirve de una pipeta de 2c.c. de capacidad, graduada al décimo. Latapie usa tubos y soportes «ad hoc» lo que facilita grandemente la manipulación. Gastou distribuye los diversos reactivos por medio de una pipeta Pasteur acodada, la que se lava cada vez con agua fisiológica por simple aspiración.

He aquí la técnica que sigue este autor en el laboratorio del Hospital Saint-Louis:

Tubos	1	2	3	4	5	6	7	8
Agua fisiológica	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.
Suero sospechoso	2 gotas	2g	2g	—	—	—	—	—
Alexina titulada	1g	1g	1g	1g	1g	1g	—	1g
Antígeno titulado	1g	2g	—	—	2g	—	—	—
Amboseptor titulado	1g	1g	1g	1g	1g	—	1g	—
Suspensión globular 1/5	1g	1g	1g	1g	1g	1g	1g	1g

Sostiene M. Gastou que midiendo por gotas los reactivos se elimina la causa de error residente en el distinto calibrado de las pipetas. Vemos que este autor usa una suspensión de eritrocitos más concentrada diremos que la corriente. En un principio M. Gastou inactivaba el suero sospechoso; hoy procede comparativamente con suero fresco.

Bajo la amable dirección de M. Gastou y de Mlle. Hebert tuvimos ocasión de practicar durante tres meses la técnica en cuestión y sostenemos que familiarizándose con ella ofrece igual seguridad que la de Wassermann.

En el cuadro arriba especificado, en el tubo 3 se verifica si el suero sospechoso no posee propiedades antihemolíticas. El tubo 4 es un control del sistema hemolítico. Para apreciar si el antígeno no es antihemolítico sirve el tubo 5. Para comprobar que el suero de cobayo no hemoliza los eritrocitos de cordero, se dispone el tubo 6. El tubo 7 asegura que el suero anticordero no es hemolítico de por sí; sin la ayuda de la alexina. Por fin el tubo 8 controla la resistencia globular vis a vis del agua fisiológica.

También practica la distribución de los reactivos por gotas, el prof. Noguchi.

Por simple incisión en un dedo opera la extracción de 10 a 15 gotas de sangre a analizar de la que una vez coagulada usa dos gotas de suero sin activar para efectuar la reacción. Se sirve este autor

de un antígeno preparado en la forma que a continuación se detalla: Se pone en presencia de alcohol absoluto o a 95° hígado, corazón o riñón humano o animal, deshecho finamente a 37° durante varios días (6 a 7). Se filtra sobre papel y recoge el filtrado, el cual se deseca a 40°; el residuo se toma con éter en cuyo contacto se abandona 24 horas a la temperatura ambiente, cubriendo el recipiente para impedir la evaporación. En esta forma, el líquido se ha clarificado por sedimentación de las partes insolubles. El éter sobrenadante se decanta cuidadosamente y lleva a otro recipiente donde se deja concentrar por evaporación espontánea. Esta solución etérea concentrada se mezcla con más o menos 10 volúmenes de acetona pura. Se forma un precipitado del que se separa previa sedimentación el líquido sobrenadante. Este precipitado de consistencia pastosa, color marrón negrusco, disuelto en una mezcla de alcohol metílico y éter y diluido con agua fisiológica en la proporción que corresponda según su titulación constituye el antígeno.

Preconiza también Noguchi los papeles de antígeno preparados imbibiendo de la solución alcohólica, cuadrados de papel de filtro de 5 milímetros de lado.

El amboseptor que usa este autor es suero de conejo antihumano; el que emplea líquido o bien papeles impregnados de él.

Como suspensión globular se sirve de una dilución de hematies humanos diluidos en la proporción de 1 gota por 4c.c. de agua fisiológica.

Como alexina usa suero de cobayo diluido al 1/20.

En el cuadro siguiente concretamos la técnica adoptada por este autor:

Número de tubos	1	2	3	4	5	6
	Suero normal		Suero sifilítico		Suero sospechoso	
Suero	1g	1g	1g	1g	1g	1g
Alexina al 1/20	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.
Antígeno	1g	1g	1g	1g	1g	1g
Suspensión globular	1cc	1cc	1cc	1cc	1cc	1cc
Ambosceptor	1g	1g	1g	1g	1g	1g

A diferencia de las técnicas Wassermann y Gastou que acabamos de pasar rápidamente en revista, Noguchi prolonga a dos horas la primera incubación y a una hora la segunda,

De antígeno y amboseptor se usarían los papeles de 3 mm. de lado el 1º y 4 el 2º.

Demostradas las propiedades heterolíticas normales de los sueros humanos, la reacción de Wassermann era aún susceptible de una gran simplificación, sinó en su técnica, por lo menos en lo que se refiere a sus reactivos.

Se suprimiría la preparación del amboseptor, lo que implicaría una economía indudable de tiempo.

Bauer fué uno de los primeros en fundar una nueva técnica «rápida» sirviéndose de las hemolisinas naturales del suero humano.

Este autor inactiva a 55.º los sueros a estudiar.

El antígeno es siempre la maceración de hígado heredo-sifilítico. La alexina es diluida al 1/10.

He aquí la forma en que se dispone la experiencia:

NÚMERO DE TUBOS	1	2	3	4
Suero humano normal. ....	—	—	0.2	0.2
Suero sospechoso inactivado..	0.2	0.2	—	—
Antígeno diluido.....	1 c.c.	-	1 c.c.	—
Alexina 1/10.....	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.
Solución isotónica.....	—	1 c.c.	—	1 c.c.
Suspensión globular al 5 %...	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.	1 c.c.

La duración de la primera incubación se reduce a media hora; la segunda se prolonga como siempre por espacio de 25 a 30 minutos.

Basado también en la existencia de alexina y hemolisinas naturales en el suero humano, es el procedimiento de Hetch.

Dispone este autor su experiencia en la forma que a continuación se concreta:

NÚMERO DE TUBOS	1	2	3	4	5	6
Agua fisiológica.....	1 c.c.	—	—	—	—	—
Suero sospechoso fresco..	0.1	0.1	0.2	—	—	—
Antígeno diluido.....	—	1 c.c.				
Suero sifilítico.....	—	—	—	—	0.1	—
Suero normal.....	—	—	—	—	—	0.1
Suspensión globular a 15 %	1 c.c.					

La primera incubación a 37.º es de 1 hora; la segunda de 30 minutos.

En el tubo 1 se ensaya si el suero a estudiar posee suficiente cantidad de alexina y hemolisinas. En los tubos 2 y 3 se determina su poder de fijación. Los tubos 4, 5 y 6 sirven de control. En el 4 se ensaya el poder antihemolítico del antígeno. En el tubo 5 las propiedades antigénicas del extracto usado como antígeno.

Por fin, en el tubo 6 debe producirse siempre la hemolisis total como en el tubo 1: pues aquí (en el 6) se ensaya el poder antihemolítico del antígeno.

Naturalmente que el poder aléxico de los sueros sospechoso normal, sospechoso y sifilítico debe ser suficiente para hemolizar 1 c. c. de suspensión globular al 5 %. Para esto deben poseer dichos sueros un índice hemolítico superior a 5.

Sin entrar a detallarlas (1) solo diremos que las técnicas de Foix, Tschernogubow, Stern, etc. son intermediarias entre los métodos «lentos» y «rápidos». Foix inactiva el suero a analizar, pero aprovecha su poder heterolítico.

Tschernogubow inactivando también el suero sospechoso, añade un amboceptor antihumano.

Stern disminuye la proporción de glóbulos rojos y de antígeno; añade amboceptor, pero no complemento; sosteniendo que el poder aléxico de los sueros es en general suficientemente elevado.

Levaditi en colaboración con Latapie, al iniciar en el Instituto Pasteur el servicio de suero-diagnóstico simplificó grande y venta-

(1) poco difundidas.

josamente la técnica de Hetch, aplicando naturalmente los mismos principios de que el autor se valiera. Por haber hecho ya en páginas anteriores, alusión a este trabajo solo concretaremos en unas palabras la técnica adoptada y seguida actualmente en dicho Instituto.

Se sirven estos autores de solo tres tubos pequeños de borde volcado y de soportes contruidos «ad hoc» que permiten la agitación simultánea de una serie numerosa de reacciones (24), antes de efectuar la primera incubación.

NÚMERO DE TUBOS	1	2	3
Agua fisiológica.....	c.c. 0.2	0.1	0.3
Antígeno diluido.....	c.c. 0.1	0.2	—
Suero sospechoso.....	c.c. 0.1	0.1	0.1
Suspensión globular al 5%	c.c. 0.1	0.1	0.1

Como se vé, no puede darse una técnica más simple.

El antígeno debe ser ampliamente experimentado. El único tubo de control es el núm. 3 el que debe acusar siempre una hemolisis franca. En el caso de que esto no sucediera seria atribuible a una falta de poder aléxico o heterolítico y seria forzoso recurrir a la técnica de Wassermann.

Lo mismo sucede cuando se trata de líquido céfalo-raquídeo.

Simultáneamente al trabajo de Levaditi, era tambien simplificado el método Hetch por M. Weimberg, quien yendo aun más allá, determina el poder heterolítico de cada suero a analizar. Al efectuar la suero reacción dispone este autor una serie de tubos en el segundo plano del soporte, destinado a determinar el índice hemolítico al mismo tiempo que se opera la primera incubación. He aquí el cuadro que resume este procedimiento.

REACCIÓN DE FIJACIÓN					HEMOLISINAS DETERMINACIÓN DEL INDICE					
N.º de tubos	Suero sospecho- so fresco	Antígeno diluido	Agua fisioló- gica	Eritrocitos al 5 %		N.º de tubos	Suero sospecho- so fresco	Eritrocitos al 5 %	Agua fisioló- gica	
1	0.1	0.1	0.2	0.1	Incubación 1h. a 37.º	1	0.1	0.1	1.cc.	Incubación 1h. a 37.º
2	0.1	0.2	0.1	0.1		2	0.1	0.2	0.9	
3	0.1	—	0.3	0.1		3	0.1	0.3	0.8	
—	—	—	—	—		4	0.1	0.4	0.7	
—	—	—	—	—		5	0.1	0.5	0.6	
—	—	—	—	—		6	0.1	0.6	0.5	
4	0.1	0.1	0.2	0.2		7	0.1	0.7	0.4	
5	0.1	0.2	0.1	0.2		8	0.1	0.8	0.3	
6	0.1	—	0.3	0.2		9	0.1	0.9	0.2	
—	—	—	—	—		10	0.1	1.cc.	0.1	

En previsión de hallarse en presencia de un suero fuertemente hemolítico (tuberculosis, cáncer, supuración etc.) se emplean las dosis dobles de hematies (0.2c.c.). Por otra parte, esto se comprobaría al determinar el índice hemolítico.

Sostiene M. Weimberg la imprescindible necesidad de determinar el poder hemolítico de cada suero, sin lo cual, afirma que la reacción efectuada por el método Hetch modificado, pierde mucha de su exactitud y hasta puede conducir a errores graves.

Ya en 1909 (1) M. Weimberg había hecho resaltar a propósito de un trabajo de M. Paron (sobre el método de desviación simplificado para el diagnóstico de la equinocosis) la conveniencia de establecer el poder heterolítico de cada suero. Por otra parte Hallion y Bauer (2) y también Busilla (3).

Para llegar a estas afirmaciones Weimberg se basa sobre los re-

(1) Conférences a L'Institut Pasteur pour les internes des Hôpitaux.

(2) Comptes R. S. de Biol. 29 oct. 1910 pág. 305.

(3) Revista Stmelor Medicele octubre 1910 pág. 838.

sultados de 400 sueros frescos en los que determinara el índice hemolítico. Halló este autor un porcentaje mayor de 2, de sueros cuyo índice hemolítico era 0 y por consiguiente el método rápido inaplicable. Nosotros hemos tenido oportunidad de determinar el poder antialéxico de 4 sueros en que la reacción Wassermann por ninguna de las técnicas corrientes eran practicable. El índice antialéxico fuè de 4, 6, 7 y 7 respectivamente. Solo una vez conocido este dato pudo salvarse el obstáculo.

Al hablar de la técnica de Weimberg no podemos menos de hacer un parentesis y agradecer efusivamente a este sabio, la amable generosidad con que personalmente nos puso al corriente de ella y expuso sus opiniones de las que recogimos valiosos datos para la suero-reacción de Wassermann y la suero-reacción antitriptica, algunos de los cuales transcribimos algunos en este trabajo.

**Los elementos en reacción en el suerodiagnóstico**—Para que nos sea posible intercalar algunas observaciones personales pasaremos muy rápidamente en revista dos de los elementos biológicos que intervienen en la reacción de fijación aplicada al diagnóstico de la sífilis.

a) *El suero sospechoso:*

Debe ser sobre todo en caso de un resultado final dudoso o discordante entre una técnica y otra, objeto de un estudio particular. Su índice hemolítico determinado en la forma que lo hace Weimberg presenta oscilaciones de 0 a 20; no siendo tan constante la cantidad de hemolisinas existente en el suero humano, como en un principio lo creyeron Bauer, Blucherts y otros autores. Mediante esta determinación del poder heterolítico de cada suero se puede perfectamente fiscalizar los resultados obtenidos con ellos, practicando el método rápido, desde que se va a conocer de una manera precisa la dosis de amboseptor y alexinas naturales. Según manifestábamos hace un instante, el poder antialéxico de ciertos sueros es a veces muy elevado (sangre de cordón umbilical). Felizmente estos casos son excepcionales. En tres casos hemos podido determinar dicho poder el que fuè de 3, 4 y 7. Está demás decir que en estas circunstancias no solo el método rápido sino hasta el procedimiento lento es inaplicable. Es menester entonces determinar el índice antialéxico y añadir una dosis de alexina igual a la cifra arrojada + 0.1c.c. de complemento previamente diluido.

Otra cuestión interesante en este capítulo constituyen las oscilaciones del poder hemolítico del mismo suero fresco y calentado a 56° 1/2 hora pues de esta manera se conoce la cantidad de alexina

en él contenido. De un interesantísimo trabajo de Leredde y Rubinstein (1) tomamos a este respecto la siguiente estadística.

En 35 casos sobre 126 el índice hemolítico fué superior en el suero fresco.

En 36 casos la cifra fué igual.

En 55 casos resultó mayor el índice de los sueros calentados. Este último fenómeno es curioso. ¿Se produce una concentración de los iones oxhidrilos según lo afirmaron Sholston, Altmann, Sachs (2) y otros autores? Es acaso la evaporación del agua del suero que origina un aumento (por unidad de volumen) de las hemolisinas? Y si esto es así como explicar entonces el fenómeno inverso, es decir la disminución del índice hemolítico por el calor? Es todo un problema a resolver.

Sabido es que del sistema alexina-amboceptor depende directamente el resultado de la reacción; un exceso de este último tolerado en un principio, comprobóse luego que podía conducir a enormes errores.

Al practicar la reacción por el método lento se desprecia la dosis de amboceptor natural existente en el suero a examinar. Esto fué objeto de polémicas desde que al practicar el método de Bauer se comprobó la inconstancia de la proporción de las hemolisinas.

No hay más que una forma de ponerse a cubierto de esta causa de error: «desensibilizar» el suero a examinar.

Para ello se opera en la siguiente forma: 2c.c. de suero previamente calentado a 56° 1/2 hora se abandona en la heladera durante 30 minutos en presencia de un exceso (0.6 a 0.8c.c.) de glóbulos rojos de cordero.

El amboceptor se fija sobre los glóbulos; se centrifuga hasta la obtención de un líquido, sobrenadante límpido.

Una vez decantado, el suero queda así completamente desprovisto de amboceptor y de alexina. Esta técnica sin embargo es susceptible de dos objeciones: primeramente la indiscutible complicación que implica sobre todo para laboratorios en que la serie de suero-reacciones sea numerosa (el servicio de suero diagnóstico del Instituto Pasteur practica arriba de 500 reacciones por semana).

Pero aún hay más: según afirmaron Stransser, Sachs, Friedberger, se opera durante la «desensibilización» un fenómeno curioso.

El suero se torna hemolítico si la operación no se efectúa á 0° de temperatura.

Pero nosotros hemos tenido en nuestras manos un suero que poseyendo un índice hemolítico de 6 una vez inactivado y desensibilizado a la temperatura de la heladera, arrojó un índice antihemolítico de 3.

---

(1) Societé de Dermatologie et Syphiligraphie 6 feb. 1915.

(2) Kolle und Wassermann II Sup. p. 536.

Se practica hoy en muchos laboratorios europeos directamente vinculados a la clínica, el estudio de lo que se denomina «variaciones máximas de la reacción de Wassermann».

Se dan casos de sueros francamente positivos que acusan aún neta desviación a diluciones enormes (1/150 Dujardin, Rubinstein etc.) La clínica pone en juego estas experiencias para apreciar el efecto de un determinado tratamiento. Así un suero positivo antes de todo tratamiento, puede serlo todavía después de aplicada la medicación antisifilítica pero hemos trabajado con sueros que en el primer caso permitían diluciones de 1/50 por ej. y luego (después de tratamiento) solo al 1/10 se mostraban positivos.

Practicada, en casos como estos, la reacción de Wassermann sin el estudio de su variación máxima resultaría imposible a la clínica, apreciar los resultados de su terapéutica. A propósito del antígeno XX insistiremos sobre esta cuestión.

b) *La alexina*—

Hemos visto el importante rol de la alexina en la reacción, de la eliminación por el calor para añadir dosis exactamente conocidas; hemos hecho notar la variabilidad del poder aléxico de los sueros humanos.

Citamos también rápidamente las experiencias de Mutermilch sobre disociación de la alexina en los sueros inactivados.

Creemos oportuno añadir dos palabras ahora, acerca de la naturaleza del complemento. Pfeiffer, Buchner etc. se inclinaron a afirmar la naturaleza enzimática de la alexina; luego Liebermann, Fenyvessy (1) y Noguchi (2) pretenden demostrar el parentesco de la alexina con los jabones.

Kiss (3) y Scheller (4) afirman la analogía de la alexina con los fermentos.

Mutermilch por último sostiene que la alexina no es de naturaleza diastásica y se basa en experiencias de disociación (a las que tuvimos ocasión de asistir) de ciertos fermentos: el fibrinfermento y otras diastasas proteolíticas. Practicando la disociación por la precipitación de las globulinas por medio del ácido carbónico, ha constatado este autor que mientras la alexina se disloca en una parte activa y otra inactiva los fermentos lo hacen en dos partes activas

Sin embargo ¿cómo explicar entonces la pérdida de las propiedades aléxicas de un suero abandonado a la temperatura ambiente más de 24 horas? Más oscura se hace aún la cuestión si se admite con Mu-

---

(1) Blochm, Zeitschr 1907 p 25 T IV y Pag 99 T V

(2) " " " " T VI p 327-1907

(3) Zeitschr für Zoonittast p 558 T III

(4) Centralbl für Bakteriol T LVI núm 2 orig.

termilch (1) que la alexina no se destruye por el calor (a  $56^{\circ} \frac{1}{2}$  hora).

En Marzo último iniciamos ciertas experiencias en el Instituto Pasteur sobre este interesantísimo tema: experiencias que continuamos en la actualidad y que en breve daremos cuenta de sus resultados. De cualquier manera a pesar de saber que la alexina está estrechamente vinculada a las globulinas del suero sanguíneo; no se ha hecho aún plena luz sobre su constitución y origen.

Sabemos que el complemento existe en todos los sueros animales. Se usa en los laboratorios la alexina de cobayo extraída sea por punción cardíaca o por sección de las carótidas.

Para usarlas en la reacción de Wassermann es menester titularla previamente dado que las propiedades aléxicas del suero de cobayo no son jamás constantes. Se parte sin embargo en la práctica de la mezcla de 3 o más sueros de cobayos, la que empléase a la dilución de 50 %. Weimberg hacía notar la proporción notable de hemolisinas que puede contener el suero de cobayo, siendo esta una nueva causa de error, descuidada en la generalidad de los casos.

Después de esta rapidísima revista de las principales técnicas más difundidas, para la reacción Wassermann puede apreciarse que ninguna está exenta de errores.

En efecto, el método lento, además de requerir la exacta titulación de todos y cada uno de sus reactivos, fuera de la existencia de hemolisinas naturales vis a vis de los hematies de cordero, ofrece otra dificultad: el debilitamiento sufrido durante la inactivación, reconocido por primera vez por Sachs y Altmann. De ahí muchas de las divergencias entre los métodos rápido y lento.

Por su parte los procedimientos basados en el empleo de los sueros frescos, además de su impracticabilidad cuando se trata de líquido céfalo-raquídeo y sangre de cordón (en que hay que recaer al método Wassermann, pues se adiciona alexina y amboseptor), ofrecen como principal fuente de falsas interpretaciones en sus resultados, la inconstancia en las proporciones de alexinas y hemolisinas naturales. Sachs y Boas (2) afirman que el método rápido es más sensible vis a vis de los anticuerpos del suero, pero que al mismo tiempo es menos específico.

En suma: las dos técnicas son susceptibles de críticas; por ese motivo nosotros creemos oportuno practicarlas simultáneamente.

Vernes (3) propone un aparato distribuidor de los reactivos en la

---

(1) C. R. Soc. Biol. 8 abril 1911.

(2) Kolle und Wasserman, 11 Sup. p. 536.

(3) C. R. Soc. Biol. 14 marzo 1914, p. 450.

reacción de Wassermann. Nos parece que ni en exactitud ni en rapidez se adelanta nada, ya se practique el método rápido o el lento.

La técnica Wassermann con un buen número de testigos y comparada con la técnica Hetch-Levaditi, nos ha proporcionado siempre resultados muy satisfactorios.

Por otra parte, cuando clínicamente el enfermo constituye un caso interesante, nosotros practicamos la reacción como lo hicieron Jacobsthal (3) Altmann, Leredde, Rubinstein, etc., a 37.º y a la temperatura de la heladera simultáneamente. Se tiende a demostrar hoy, que la reacción practicada en frío, revela con mayor nitidez los casos de sífilis latente; de suerte que es muy conveniente controlar un procedimiento por el otro. Nosotros, al practicar la reacción por el método lento, adoptamos el siguiente modo operatorio:

TUBO	Agua fisiológica	Antígeno titulado	Suero normal inactivado	Suero específico inactivado	Suero sospechoso inactivado	Alexina titulada		Suero hemolítico titulado	Suspensión globular 1/20	
1	1.5	0.1	—	—	0.2	0.1	Incubación 1.h. a 37º	0.1	1 c. c.	Incubación 30' a 37º
2	1.4	0.2	—	—	0.2	0.1		0.1	1 »	
3	1.3	0.3	—	—	0.2	0.1		0.1	1 »	
4	1.6	—	—	—	0.2	0.1		0.1	1 »	
5	1.3	0.3	0.2	—	—	0.1		0.1	1 »	
6	1.5	0.1	—	0.2	—	0.1		0.1	1 »	
7	1.4	0.2	—	0.2	—	0.1		0.1	1 »	
8	1.3	0.3	—	0.2	—	0.1		0.1	1 »	
9	1.8	—	—	—	—	0.1		0.1	1 »	
10	2	—	—	—	—	—		—	1 »	

(3) Münch Medic Woch N.º 13—1910 p. 389.

## OTROS ANTÍGENOS ARTIFICIALES

Sin profundizar en ese momento más la cuestión, ensayamos la mezcla de los antígenos Desmoulière y Sachs Rondoni en distintas proporciones. Esto lo hicimos en la esperanza de que por la variación del ácido oléico y el oleato de soda, la especificidad de los antígenos pudiera también variar.

Tomamos partes iguales de uno y otro obteniendo así el:

### Antígeno ASD (a)

Oleato de soda.....	0.17	grs.
Lecitina (ovo).....	0.14	»
Acido oléico.....	0.06	»
Colesterina .....	0.50	»
Agua destilada (1).....	1.5	»
Alcohol absoluto .....	100	c.c.

Como la exposición en detalle, de los cuadros de resultados de éste como de los demás antígenos a que haremos mención enseguida, demandaría un espacio excesivo, (sin merecer por otra parte sus bondades este honor); nos limitaremos a exponer aquí, solo, los porcentajes con ellos registrados, en comparación con un antígeno específico.

### Con el antígeno ASD (a)

Sobre 100 casos positivos      80 positivos  
» 100 » negativos      70 negativos  
79 % concordancia de resultados. (2)

### Antígeno ASD (b)

Es una mezcla de dos volúmenes de antígeno Desmoulière y un volumen de antígeno Sachs y Rondoni.

Composición:

Oleato de soda.....	0.14	grs.
Lecitina.....	0.20	»
Acido oléico.....	0.06	»
Colesterina .....	0.50	»
Agua destilada.....	1	c.c.
Alcohol absoluto.....	100	c.c.

(1) Su adición responde a una disolución más rápida del oleato de soda.

(2) Al calcular los porcentajes de concordancias, nos referimos a concordancia absoluta: considerando como discordancia el caso de un positivo y un parcial.

**Resultados:**

Sobre 100 casos (1) positivos (2) 60 posit.  
» 100 » negativos 61 negat.  
62 % Concordancia de resultados.

**Antígeno ASD (c)**

Se trata aquí de una mezcla de un volumen de antígeno Demoulière y dos volúmenes del de Sachs y Rondoni.

**Composición:**

Oleato de soda.....	0.16	grs.
Lecitina .....	0.15	»
Colesterina .....	0.60	»
Acido oléico.....	0.08	»
Agua destilada.....	1.2	»
Alcohol absoluto.....	100	c.c.

**Los resultados fueron:**

Sobre 100 casos positivos 60 positivos  
» 100 » negativos 30 negativos  
41 % concordancia de resultados.

---

Como de estos tres antígenos solo el ASD (a) nos diera resultados algo atendibles ensayamos aun modificar su fórmula suprimiendo el ácido oleico (sustancia hemolítica), disminuyendo la dosis de coles-terina pues sino el equilibrio se rompería y obtendríamos una mezcla netamente antihemolítica; y por último aumentando la proporción de oleato de soda cuyo rol deseabamos estudiar. Obtuvimos así el:

**Antígeno I**

**Composición:**

Oleato de soda....	0.18	grs.
Lecitina.....	0.15	»
Colesterina .....	0.50	»
Agua destilada.....	1	
Alcohol .....	100	c.c.

Sobre 100 casos positivos 60 positivos  
» 100 » negativos 60 »  
58 % de concordancia de resultados.

(1) Al decir casos nos referimos a sueros o líquidos cefalo raquideos.

(2) De reacción Wassermann positiva con antígeno específico.

Como resultara inferior esta mezcla al antígeno ASD (a) insistimos en su modificación. El aumento de la proporción de oleato, la disminución de la colessterina y la supresion del ácido oleico, nos habian dado como resultado un equilibrio entre las concordancias positivas y negativas; pero era menester tratar de hacer la mezcla mucho más específica. Al efecto y a título de ensayo suprimimos la lecitina, la que fué sustituida por el ácido oleico.

### Antígeno III

Fórmula:

Oleato de soda.....	0.18	grs.
Acido oléico.....	0.07	»
Colesterolina.....	0.50	»
Agua.....	1	c.c.
Alcohol absoluto.....	100	c.c.

Resultados:

Sobre 100 casos positivos 80 positivos.

» 100 » negativos 62 negativos

79 % concordancia de resultados.

Vemos pues que si bien se logró aumentar el porcentaje de concordancias, con la supresión de la lecitina la mezcla resultaba en cambio antihemolítica; pues sobre 100 casos negativos se obtuvieron solo 62 siendo el resto parciales y positivos.

De este antígeno detallaremos el cuadro correspondiente a las experiencias del 9 y 10 de octubre por existir diferencias interesantes de resultados en relación a la dosis.

Titulado el antígeno III en la forma que detalláramos en la pág. 57 y 58 resultó como dilución óptica 1/25

Técnica Wassermann.

AE = Antígeno específico

II = Segunda dosis (0.2)

III = Tercera dosis (0.5)

SUERO O LÍQUIDO N.º	AE	A-III II	A-III III
9145	—	—	P
47	—	—	+
48	+	+	+
49	+	+	+
50	—	—	P
51	—	—	P
52	—	—	P
53	+	—	P
54	—	—	—
55	+	P	P
56	—	+	+
57	—	—	—
58	P	—	P
59	P	+	+
60	+	+	+
61	+	—	—
62	—	—	—
63	+	+	+
64	+	+	+
65	—	—	—
66	+	+	+
67	—	—	P
68	—	—	—
69	—	—	—
70	—	—	—
71	—	—	—
72	—	—	—
73	+	—	P
74	+	P	P
75	—	—	—
76	+	—	—
77	—	—	—
78	+	P	P
79	—	—	—
80	—	—	—
81	—	—	—
82	—	—	—
83	—	—	—
84	—	—	—
85	+	—	—
86	—	—	—
87	—	—	—
88	—	—	—
89	—	—	—
90	+	P	—
91	—	—	P
92	+	—	—
93	—	+	P
94	—	—	P

SUERO O LÍQUIDO N.º	AE	A-III II	A-III III
95	p	p	p
96	p	—	p
97	—	p	—
98	—	—	—
99	—	—	—
200	+	—	—
201	—	+	+
202	+	+	+
203	+	+	+
204	p	p	—
205	—	p	p
206	—	—	—
207	—	p	—
208	p	p	p
209	—	—	—
210	—	p	—
211	—	—	—
212	+	+	p
213	—	—	—
214	—	—	—
215	—	—	—
216	—	—	—
217	+	—	—
218	—	p	—
219	+	—	—
220	+	—	—
222	+	+	+
223	—	p	p
224	—	—	—
225	—	—	—
226	—	p	—
227	—	—	—
229	+	+	+
30	+	—	—
31	—	—	—
32	—	—	—
33	—	p	—
34	—	—	—
35	—	—	—
36	—	—	—
37	+	—	—
38	+	p	—
39	+	p	—
40	+	—	—

Al decir diferencias interesantes nos referimos a los casos marcados con un punto; en que por una aparente anomalía la dosis mas elevada de antígeno es menos fijadora de la alexina.

Eso lo atribuimos a la mayor cantidad de ácido oléico que frente a ciertos sueros es más hemolítico que en presencia de otros.

Por otra parte, aprovechando el haber reproducido aquí el cuadro anterior insistiremos una vez mas en hacer resaltar la gran importancia de una rigurosa titulación del antígeno a usar y sobre todo de una meticulosa distribución de éste en los tubos.

En efecto, se ve las notables diferencias de resultados, por la simple diferencia de 0.1 cc. Felizmente cuando se trata de un buen antígeno específico estas diferencias estan muy lejos de ser tan intensas.

Con respecto a las discordancias absolutas; casos 147, 156, 161, 176, 185, 192, 200, 201, 220, 229, 239 y 240; consultada la historia clínica de cada uno obtuvimos los siguientes datos:

CASO	AE	A-III	HISTORIA CLINICA
9147	—	+	No hay manifestaciones sifilíticas
9156	—	+	» » » »
9161	+	—	Chancro, roseola y placas. Tratamiento mercurial intenso.
9176	+	—	Sífilis latente con manifestaciones nerviosas (Sin accidentes primarios reconocidos).
9185	+	—	No hay chancro, roseola ni placas Psoriasis palmar, dolores de cabeza frecuentes. Intensa fatiga. Tratado al biyoduro (25 iny.)
9192	+	—	Hubo chancro, roseola, placas benignas. (50 iny.) benzoato de mercurio. Enfermedad datando de 5 años.
9200	+	—	Sífilis segura. Accidentes primarios y secundarios. Tratamiento arseno mercurial.
9201	—	+	Sífilis improbable. Manifestaciones nerviosas cuyo origen se estudia.
9220	+	—	Accidentes primarios datando de 15 días.
9229	+	—	Se ignora la existencia de accidentes primarios y secundarios. Probable sífilis latente.
9239	+	—	Hubo accidentes primarios. Tratamiento actual arseno-mercurial.
9240	+	—	Se ignora la existencia de accidentes primarios y secundarios. Caso dudoso.

Por una simple lectura de este último cuadro es fácil darse cuenta de que el antígeno en cuestión, a pesar de poseer una cierta especificidad está aún muy distante de ser aconsejable; desde que en todas las discordancias absolutas salvo en una (caso dudoso), la clínica se pronunció en favor del antígeno específico.

Ante los resultados registrados con los antígenos ASD (a), ASD (b), ASD (c), I y III pensamos hacer intervenir en la mezcla sustancias contenidas en el hígado cuya acción en presencia de la lecitina, colessterina, ácido oleico etc., no hubiera sido bien estudiada del punto de vista de la desviación del complemento en sueros sifilíticos y parciales.

Preparamos así el antígeno IX.

### Antígeno IX

Fórmula:

Lecitina.....	0.01	grs.
Colesterolina.....	0.03	»
Taurocolato sódico.....	0.05	»
Acido oléico.....	1	gota
Urea.....	0.05	grs.
Alcohol absoluto.....	20	c.c.

En él hacemos entrar en juego la úrea y el taurocolato, (cuya acción hemolítica fué demostrada entre otros por Levaditi y Yamanouchi); al mismo tiempo que disminuimos las dosis de lecitina y colessterina, como así la de ácido oléico. Los resultados fueron poco halagüeños por lo que nos concretaremos a citar las estadísticas prescindiendo del detalle en cuadros.

Sobre 100 casos positivos	} 40 + 50 p 50 —	
Sobre 100 casos negativos		100 —
58 % de concordancias		

Se trata de una mezcla manifiestamente hemolítica.

Suprimimos entonces el ácido oléico, reemplazando el taurocolato por el glucocolato sódico en la esperanza de disminuir su exagerado poder hemolítico.

### Antígeno XI

Composición:

Lecitina.....	0.01	grs.
Colesterolina	0.03	»
Glucocolato....	0.05	»
Alcohol absoluto.....	20	c.c.

Los resultados fueron inferiores a los del antígeno IX:

Sobre 100 casos positivos	{	10 +
		60 p
		30 —
Sobre 100 casos negativos:	{	89 —
		11 p

Por fin, con el objeto de estudiar particularmente la acción de los ácidos grasos y grasas (existentes en el tejido hepático) en el proceso de la desviación del complemento preparamos el antígeno XII.

### Antígeno XII

#### Fórmula:

Trioleina.....	0.01	grs.
Triestearina.....	0.02	»
Tripalmitina.....	0.02	
Acido palmitico.....	0.01	»
» esteárico....	0.01	»
» oléico.....	0.01	»
Alcohol absoluto.....	20	c.c.

Ya desde su titulación y luego en el ensayo sobre los primeros 50 sueros, se mostró esta mezcla tan exageradamente hemolítica que no creímos interesante continuar las experiencias para establecer los porcentajes.

---

Como actualmente las químicas analítica y biológica son incapaces de establecer la composición exacta cuali y cuantitativamente de un extracto acuoso, alcohólico, etéreo, acetónico, etc., de hígado heredo-sifilítico y poniendo desde ya en duda la especificidad biológica del antígeno en el fenómeno de Bordet-Gengou aplicado al diagnóstico de la sífilis, nos trazamos el siguiente plan de trabajo: Hacer intervenir en una mezcla compleja todas las sustancias químicamente definidas existentes en un hígado humano y susceptibles de ser extraídas por maceración en un disolvente apropiado.

El primer problema a resolver era, pues, la tan debatida cuestión del vehículo, de preferencia para la mencionada maceración. Para no llevarnos de opiniones extrañas, más o menos autorizadas, es cierto, pero muchas en abierta oposición de las otras, preferimos estudiar personalmente el caso, para optar por el reactivo extractor que la experiencia nos aconsejara como preferible.

### Los extractos específicos

Según hemos visto en capítulos anteriores, así como Citron sostiene que el extracto acuoso de hígado heredo-sifilítico es el mejor antígeno; Noguchi acude a la purificación acetónica y Levaditi con

la mayoría de los autores, afirma que el alcohol es el mejor disolvente de los principios antigénicos.

Nosotros antes de decidirnos por el disolvente a emplear, efectuamos las experiencias que a continuación se detallan: Partimos de tres hígados heredo-sifilíticos del servicio del Hospital Pasteur, cuyo examen ultramicroscópico y por coloración directa (Fontana-Tribondeau) reveló la existencia del treponema en dos de ellos y no en el tercero. Reducidos a fragmentos pequeños, fueron triturados en el aparato Latapie, desecados en el vacío sobre ácido sulfúrico y reducidos a polvo ténue del que se practicó el agotamiento al alcohol absoluto, en la proporción de 15 gramos por 100 de alcohol. Previa maceración de 20 días, se tuvo listo el antígeno para ser ensayado. Llamemos (*En*) a éste extracto alcohólico.

10c.c. de este antígeno fueron evaporados en una caja de Petri a 37.º en el vacío; el residuo marrón amarillento fué tomado por 10c.c. de acetona cuyo contacto en vaso, herméticamente cerrado, se prolongó tres días a 37.º. Designemos (*E.ac*) al extracto acetónico.

Al residuo insoluble en la acetona se dejó en contacto con 10c.c. de alcohol absoluto, también durante tres días a 37.º.

Llamemos (*E.al*) a este último extracto alcohólico. Como quedara un pequeño residuo insoluble fué conservado en un pequeño tubo cerrado a la lámpara.

Efectuamos en seguida la titulación de los tres antígenos.

**Titulación de antígenos (1)**

SUEROS POSITIVOS

	TUBO	ANTÍGENO	AF	S	A	H	SG	HEMOLISIS						
								En		Eac		Eal		
								I	II	I	II	I	II	
+	1	0.05	1/40	1.55	0.2	0.1	0.1	1c.c.	0	0	p	p	c	c
	2	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	p	p	p	p
	3	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	p	0	0
	4	0.2	1/20	1.4	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	0
	5	0.3		1.3	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	0
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
+	1	0.05	1/40	1.55	0.2	0.1	0.1	1c.c.	0	c	c	c	c	c
	2	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	p	c	0	c
	3	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	p	0	c
	4	0.2	1/20	1.4	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	0
	5	0.3		1.3	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	0
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
+	1	0.05	3/40	1.55	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	c	p	c	c
	2	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	c	p	c	c
	3	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	c	0	c	0
	4	0.2	1/20	1.4	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	p	0
	5	0.3		1.3	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	p	0
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
+	1	0.05	1/40	1.55	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	p	c	c	c
	2	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	c	p	p	p	c
	3	0.1		1.5	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	p	c
	4	0.2	1/20	1.4	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	c
	5	0.3		1.3	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	0	p
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c

(1) Para las abreviaturas ver pag. 36 y 37

I y II significa experiencia doble (naturalmente con distintos sueros positivos y negativos).

SUEROS NEGATIVOS

	TUBO	ANTÍGENO	AF	S	A	H	SG	HEMOLISIS						
								En		Eac		Eal		
								I	II	I	II	I	II	
—	1	0.1	1/20	1.5	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	c	0	c	c
	2	0.2		1.4	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	0	c	c
	3	0.3		1.3	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	0	c	p
	4	0.4		1.2	0.2	0.1	0.1	»	c	0	p	0	c	p
	5	0.5		1.1	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	c	p
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
—	1	0.1	1/20	1.5	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	c	c	c	c
	2	0.2		1.4	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
	3	0.3		1.5	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
	4	0.4		1.2	0.2	0.1	0.1	»	c	c	p	c	c	c
	5	0.5		1.1	0.2	0.1	0.1	»	c	c	p	c	c	c
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
—	1	0.1	1/20	1.5	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	c	c	c	c
	2	0.2		1.4	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
	3	0.3		1.5	0.2	0.1	0.1	»	p	c	c	c	c	c
	4	0.4		1.2	0.2	0.1	0.1	»	p	c	c	c	c	c
	5	0.5		1.1	0.2	0.1	0.1	»	0	p	p	p	c	c
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c
—	1	0.1	1/20	1.5	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	c	c	c	c
	2	0.2		1.4	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	p	c	c
	3	0.4		1.3	0.2	0.1	0.1	»	p	p	p	c	c	c
	4	0.4		1.2	0.2	0.1	0.1	»	0	p	p	0	c	c
	5	0.5		1.1	0.2	0.1	0.1	»	0	0	0	0	c	c
	6	—		1.6	0.2	0.1	0.1	»	c	c	c	c	c	c

De estas experiencias que ponen bien de manifiesto la calidad de cada antígeno deducimos las siguientes conclusiones: Sabido es que hoy se admite en un antígeno (para reacción Wassermann) la existencia de dos grupos de sustancias: el grupo antigénico y el grupo anticomplementario. La calidad del antígeno depende de la proporción en que esos dos «grupos» estén en él contenidos. Cuanto mayor es la cantidad de sustancias antigénicas y menor la de sustancias anticomplementarias, tanto mejor es el antígeno.

En nuestro ensayo comprobamos, que en ninguna de las extracciones (*En*), (*Eac*) ni (*Eal*) se ha obtenido la solubilización total de

ninguno de los dos grupos, sino que se han ido segmentando por así decir, en cada uno de los disolventes.

De los tres extractos: el alcohólico primitivo (*En*) contiene indiscutiblemente mayor proporción de sustancias antigénicas que los otros dos y más o menos la misma cantidad que el acetónico (*Eac*) de sustancias anti-complementarias.

El alcohólico final (*Eal*) contiene por su parte una proporción quizás inferior al acetónico de sustancias antigénicas, pero al mismo tiempo también una menor proporción de anticomplementarias.

En suma según nuestros ensayos, el mejor antígeno fué el alcohólico (*En*) no concordando nuestra opinión con la de ciertos autores que sostienen las grandes ventajas de la purificación acetónica.

Por otra parte, debemos hacer notar también que ni aún el extracto alcohólico (*En*) constituye un antígeno de primera calidad. En la sospecha de que debido a los distintos tiempos de maceración (20 días) el (*En*) y los (*Eac*) y (*Eal*) pudieran existir diferencias de calidad, repetimos las experiencias exactamente en la misma forma expuesta en los cuadros anteriores, pero llevando la duración de las 3 maceraciones a 20 días. No obtuvimos ninguna divergencia en estos ensayos con los anteriores, comprobando que cuando el líquido toma el máximo de su coloración amarillenta la solubilización puede darse por terminada.

Efectuamos luego otra experiencia que suponemos presenta cierto interés: Tres porciones de 15 grs. cada una del mismo polvo de hígado anterior fueron agotadas durante 20 días a 37° con agua fisiológica, alcohol absoluto y acetona respectivamente.

Ensayados los tres extractos en la forma descripta detalladamente en los cuadros anteriores (pag. 68 y 69) nos llevaron a los siguientes resultados.

El extracto alcohólico fué más sensible que el acuoso y acetónico (mayor proporción de sustancias antigénicas) y paralelamente anti-hemolítico a estos dos.

Luego, lo consideramos superior. El acetónico se mostró algo más sensible que el acuoso, pero al mismo tiempo ligeramente más anti-hemolítico, lo que hace que se equilibren en calidad.

Según hemos visto en las primeras páginas de este trabajo a raíz de interesantes experiencias de Levaditi, Yamanouchi, Porges, Meyer, Toyosumi, Eisler, Meier etc. Erlich y Sachs ponen en duda la acción específica del antígeno heredo-sifilítico en la reacción de Wassermann; desde que con extractos de órganos normales se obtenía la desviación del complemento, Sachs y Altmann (1) se ex-

---

(1) Kollé und Wassermann II Supl. p. 497.

presan así sobre el particular: «el fenómeno de la desviación del complemento puede producirse también por la acción recíproca de dos cuerpos, sin que se trate de acción específica entre antígeno y anticuerpo»; por otra parte añaden los autores, varias experiencias muestran que los «momentos físicos» pueden conducir a un acción anti-complementaria.

Erlich y Sachs habían ya atribuido la acción anticomplementaria de una serie de reactivos a los fenómenos físicos de adsorción y a raíz de numerosas experiencias los mismos autores llegan a afirmar: «las acciones anticomplementarias tienen como causa única un proceso físico de las sustancias en reacción».

Que la desviación del complemento puede ser interpretada como un fenómeno de adsorción; hasta nosotros mismos tuvimos oportunidad de comprobarlo.

Practicamos la reacción Wasserman con sueros perfectamente positivos y usando como antígeno una sustancia que nos diera una pseudo solución, hallándose a un grado máximo de división. Nos servimos primeramente de una suspensión de 0.10 gramos de kaolin en 10cc de agua fisiológica (la que diluimos al 1/10 en agua fisiológica). Al cabo de una hora de incubación a 37° y aun a la temperatura del laboratorio obtuvimos con ciertos sueros una desviación tan perfecta como si se tratara de un antígeno específico. En cambio con otros sueros sifilíticos la desviación fué nula. En lugar de kaolin el sulfato de bario, también fijó en ciertos casos el complemento.

Luego es evidente pues, que no es menester la especificidad biológica tan aceptada en un principio.

Para obtener una emulsión mas apropiada añadimos 1 c. c. de solución de goma arábica en agua fisiológica á los 10 c. c. de suspensión de kaolin al 1 % diluyendo luego al 1/10 y anotamos tambien en repetidas oportunidades, la completa desviación del complemento.

Seligman (1) había ya demostrado que ciertos precipitados, químicamente indiferentes, podían suprimir la acción del complemento. Wassermann y Citron habían tambien discutido ya, la posibilidad de que la modificación de la constitución físico-química de una molécula, por la penetración en ella de otra sustancia, fuera ó no, la causa de la desviación del complemento.

Sustancias que desvian el complemento vemos pues que es fácil hallar, pero que lo hagan siempre en presencia de sueros sifilíticos y jamás en contacto de sueros normales es un problema serio y difícil por cuanto ignorando en absoluto las diferencias en la composición química de un suero sifilítico y otro normal es forzoso ir por tanteos

---

(1) loc. cit.

a buscar el reactivo que con más nitidez y exactitud acuse dichas diferencias. Además sabido es que por lo general casi todas las sustancias fijadoras son antihemolíticas, de suerte que es menester neutralizar esta acción, por la adición de sustancias hemolíticas aunque solo sean debilmente fijadoras. Y si el extracto alcohólico de hígado heredo-sifilítico constituye el mejor reactivo para revelarnos la sífilis, la química analítica es aún desgraciadamente incapaz de ilustrarnos de manera precisa sobre la composición cuali y cuantitativa de dicho extracto, para que pudieramos prepararlo por síntesis, obteniendo de él grandes cantidades y pudiendo realizar un estudio de la modificación de sus componentes, que llenara las deficiencias que hoy en él reconocemos.

Que un extracto específico contenga grasas, colessterina, ciertos lipoides, lecitina etc. es realmente muy vago, para iluminar a cualquiera que se ocupe de la cuestión. Y peor aún cuando los mejores autores que se ocupan de química biológica nos dicen con la más grande de las ambigüedades que los productos de real importancia en un extracto específico, los que constituyen el eje de las propiedades antigénicas son «ciertos lipoides vecinos de la colessterina»... pero cómo caracterizan, dosifican y determinan su constitución?

Y bien, ya que en la actualidad el análisis químico es incapaz de demostrarnos cual es la diferencia entre la composición química de un suero normal y otro sifilítico como tampoco entre un hígado específico y otro normal el investigador está condenado a trabajar a tientas.

Para sustraernos en la medida de lo posible a ese empirismo, pensamos que era bien lógico preparar una mezcla en la que estuvieran incluidas todas las sustancias químicamente definidas, existentes en el hígado humano y capaces de pasar en solución al alcohol por una prolongada maceración.

Efectivamente así procedimos; pero lo que constituyó para nosotros ruda tarea fué la dosificación de los múltiples componentes, desde que la simple variación de uno solo en el complejo, nos llevaba a resultados absolutamente distintos.

Pero al fin de numerosas experiencias, llegamos a la fórmula del antígeno XIV.

### **Antígeno XIV**

Fórmula:

Urea.....	0.02	grs.
Glucosa.....	0.02	“
Triestearina.....	0.02	
Tripalmitina.....	0.02	“
Trioleina.....	2	gotas (1)

---

(1) De la pipeta Levaditi.

Acido palmítico.....	0.01 grs.
» esteárico.....	0.01 »
» oléico.....	2 gotas
Lecitina.....	0.02 grs.
Colesterina .....	0.01 »
Taurocolato sódico.....	0.01 »
Glucocolato.....	0.01 »
Alcohol absoluto.....	20 c.c.

Titulada esta mezcla compleja en la forma que habitualmente lo hacemos comprobamos que su dilución óptima parecía ser de 1/12 y decimos «parecía» por cuanto tratándose de un antígeno artificial, consideramos aventurado deducir su dilución óptima de solo su titulación sin haberlo ensayado comparativamente con un gran número de sueros y a diferentes diluciones. Detallamos a continuación las experiencias comparativas del día 19 de noviembre realizadas con el antígeno XIV-IX-XII y uno testigo de hígado heredo sifilítico perfectamente controlado. De las mezclas IX y XII dimos su fórmula en páginas anteriores.

**Ensayo comparativo**

19 NOVIEMBRE

SUERO Nº.	A XI-1/12	A IX-1/18	A-XIV 1/10	A. ESPECI- FICO
10458	—	—	—	—
59	p	p	+	+
60	—	p	p	+
61	p	+	p	+
62	p	—	+	+
65	p	—	p	
64	p	+	+	+
65	—	—	—	—
67	—	—	p	+
68	p	+	p	+
69	+	+	+	—
70	—	—	—	—
72	—	—	—	—
75	—	—	—	—
74	—	—	—	—
75	—	—	+	p
76	p	p	+	+
77	p	+	+	p
78	+	+	+	+
79	—	—	p	
80				
504	—			
03	—	—	—	—
02	—		p	p

Por este cuadro se ve que entre los resultados del antígeno XIV y el específico no hubieron sino discordancias de grado y ninguna absolutas. Lo que no puede decirse de las mezclas IX y XII.

Vis a vis de ciertos sueros, el antígeno XIV se mostró menos sensible que éste en presencias de los sueros 75 y 77.

Debemos hacer notar que cuando se trataba de sueros francamente positivos (sífilis secundaria), o francamente negativos (indemnes), la concordancia fué completa. Pero en cambio en sífilis en tratamiento o terciaria (60-61-77, etc.) se observan diferencias de grado en la reacción; diferencias siempre en favor del antígeno específico.

Es una regla general que las divergencias entre dos o más antígenos, sean o no específicos, se presentaran en casos de sífilis primaria, terciaria, de sueros de enfermos en tratamiento, que van evolucionando hacia su estado físico-químico normal; así como los de primer grado lo hacen hacia un estado físico-químico anormal. Ante los resultados del antígeno XIV nos propusimos estudiar el efecto de la supresión de los tres ácidos grasos, así como de la glucosa y el glucolato; forzando ligeramente la dosis de los demás constituyentes, excepción hecha del taurocolato.

Llegamos así al antígeno XV cuya fórmula es:

### Antígeno XV

Composición:

Urea.....	0.03 grs.
Triestearina.....	0.03 »
Tripalmitina.....	0.03 »
Trioleina.....	6 gotas
Lecitina.....	0.05 grs.
Colesterolna.....	0.02 »
Taurocolato....	0.01 »
Alcohol absoluto..	20 c.c.

He aquí el cuadro de las experiencias realizadas con los antígenos XIV y XV, parangonados siempre con un antígeno específico:

**Ensayo comparativo**

SUERO Nº.	A. ESPECI- FICO	A XIV 1/10	A XV 1/10
10794	—	—	—
95	+	p	p
97	—	—	p
99	—	—	p
89	—	—	p
84	+	+	+
800	—	—	—
803	—	—	—
804	—	—	p
805	+	+	+
806	+	+	+
807	+	+	+
820	—	—	—
819	+	—	—
818	+	+	+
817	+	+	+
816	—	—	—
815	—	—	—
814	+	+	+
813	p	p	+
812	—		—
811	—		—
810	p	p	p
809	—	—	—
802	—	—	—
808			

El antígeno XV siendo más antihemolítico (sueros 97-99-89, etc.) que el antígeno XIV, no se mostró en ningún caso más sensible que éste, excepción hecha del suero 813 (sífilis en tratamiento).

Debemos hacer resaltar la discordancia absoluta, 819 en que la reacción Wassermann fué negativa con los extractos artificiales y positiva con el específico.

Consultada la historia clínica del enfermo, leímos: «Sífilis hereditaria?»

Es natural que también en esta oportunidad debamos inclinarnos a favor del antígeno específico. En suma, la mezcla XV es inferior netamente a la XIV y la supresión de los ácidos grasos, glucosa y

glucocolato, la hace más antihemolítica, sin conferirle mayor especificidad. Los resultados del antígeno XIV son bastante aceptables, pues salvo el caso 819, muy delicado por cierto, no hubo ni siquiera discordancias de grado tomando el antígeno específico como tipo.

En vista de que la eliminación de los ácidos grasos no mejora la calidad del antígeno, pensamos en la supresión de las grasas neutras.

Preparamos así el antígeno XVI, que solo difiere del XV por contener los ácidos grasos, sin alterar las demás dosis.

### Antígeno XVI

Fórmula:

Urea .....	0.05	grs.
Acido palmítico	0.03	»
» esteárico.....	0.05	»
» oléico.....	6	gotas
Lecitina .....	1.03	»
Celesterina....	0.02	»
Taurocolato.....	0 01	»
Alcohol absoluto.....	20	c.c.

Previa titulación comprobamos que poseía una elasticidad muy pequeña y que su título oscilaba entre 1/8 y 1/10.

Efectuamos una serie de suero-reacciones comparativas con los antígenos XIV, XV y XVI que detallamos en el cuadro siguiente:

**Ensayo comparativo**

SUERO Nº.	A. ESPECI- FICO	A. XIV-1/8	A. XV-1/8	A. XVI-1 8
11146	—	—	—	p
45	—	+	p	+
42	p	—	p	p
41	+	p	p	p
40	—	—	—	p
59	—	—	—	p
58	—	p	—	p
56	—	—	—	p
55	—	—	—	p
54	—	—	p	p
119	—	—	—	p
20	—	—	—	p
21	—	p	p	p
23	—	p	p	p
22	+	—	p	p
25	—	—	—	p
27	—	—	—	p
29	—	—	—	—
28	—	—	—	—
30	—	—	—	—
31	—	—	—	—
52	—	—	—	p
94	—	—	+	—
95	—	—	—	p

Resulta este un cuadro bien interesante y del que se desprenden varias observaciones;

Desde luego se ve cuan necesario es ensayar «todo antígeno» con un número bien elevado de sueros, antes de pronunciarse definitivamente sobre su verdadero valor.

Cada suero puede constituir un caso interesante. Así el antígeno XV aparece como superior al XIV, cosa que en realidad no es así, según hemos visto en el cuadro de la página 76 y comprobaremos más adelante.

A la dilución de 1/8 el antígeno XIV se muestra anti-hemolítico. Por otra parte nos ha dado dos discordancias absolutas; tratándose de un sífilítico en vías de curación, tratamiento intensivo arseno mercurial (caso 143) y de un terciario (caso 122).

En cuanto a la mezcla XVI diluida en la proporción de 1/8 en agua fisiológica, es marcadamente antihemolítica, habiendo registrado dos discordancias absolutas (casos 143 y 194).

Resulta pues que ni con la eliminación de las grasas neutras, ni de los ácidos grasos hemos logrado mejorar la calidad del antígeno XIV.

Como el antígeno XIV hubiérase mostrado insuficientemente sensible diluido al 1/10 (ver cuadro pág. 74 casos 60-61 67-68-79 etc.) y como a una solución de 1/8 resultara ya antihemolítico pensamos en reforzarlo por medio de una sustancia fijadora del complemento y que pudiera neutralizar, por así decir, la acción hemolítica de las grasas. Al efecto preparamos la mezcla XIV<sub>bis</sub> cuyo cuadro de resultados se detalla:

#### **Antígeno XIV<sub>bis</sub>**

Composición: Antígeno XIV en el que se aumenta a 0.03 la dosis de colessterina.

**Ensayo comparativo**

SUERO N.º	A — ESPECIFICO	A.XIV <sup>bis</sup> 1/10
308	—	P
307	+	+
306	—	—
305	—	+
304	—	P
303	—	P
302	—	+
301	+	+
300	+	+
299	P	+
298	P	+
319	+	+
311	—	+
312	—	—
313	+	+
314	—	P
315	—	P
316	—	P
317	+	+
318	—	—
319	+	—
320	—	—
321	—	P
325	—	—
324	+	+
380	+	+
79	+	+
78	+	+
77	—	+
75	—	—
75	—	—
72	P	—
71	+	—
70	+	—
69	—	—
68	—	—
67	—	P
82	+	—
83	+	—
84	—	P
85	—	—
86	—	P
87	—	P
88	—	—
90	+	+
91	—	—
92	+	+

El antígeno XIV<sub>bis</sub> al 1/10 es pues exageradamente antihemolítico y vemos como en una mezcla tan compleja son muchos los cuerpos de ella que tienen importante rol en la fijación del complemento, pudiendo la simple variación de la dosis de uno solo de los componentes llevarnos a resultados diferentes.

Ensayamos luego el antígeno XIV<sub>bis</sub> a diluciones de 1/15 y 1/20 que nos hacían suponer resultados más halagüeños.

Ver cuadro en la página siguiente:

SUERO N.º	A. ESPECIFICO	A. XIV <sup>bis</sup> -1/15	A. XIV <sup>bis</sup> -1 20
454	—	—	—
52	—	—	—
51	+	+	+
50	+	+	+
49	+	p	+
48	+	+	+
47	—	—	—
46	—	p	p
45	+	p	+
42	—	—	—
41	—	—	—
55	—	—	—
56	—	p	p
57	p	p	p
58	—	—	—
59	—	p	+
60	—	—	—
61	—	—	—
62	—	—	p
63	—	—	—
64	—	—	—
65	—	—	—
66	p	p	p
67	—	—	—
11085	+	+	+
86	—	p	p
87	+	+	+
88	+	+	+
89	+	+	+
90	—	p	p
91	—	—	—
92	—	—	—
93	—	—	—
94	+	+	+
95	+	+	+
96	—	—	—
97	+	p	p
100	—	—	—
102	—	p	p
103	—	—	—
104	+	p	p
105	—	—	—
106	—	—	—
108	—	—	—
110	—	—	—
111	p	p	p
112	—	—	—
115	—	p	p

De las dos diluciones 1/15 y 1/20 es preferible la segunda a pesar de haber arrojado una discordancia absoluta (59); pues sus resultados se acercan más a los del extracto específico.

Y cosa curiosa, la dilución máxima, tiene mayor poder de fijación y es más anti-hemolítica que a 1/15.

Este fenómeno en aparente contradicción con la lógica lo explicamos aceptando que ciertos sueros tienen mayor afinidad por determinados grupos de sustancias del antígeno:

Así por ejemplo en el antígeno en cuestión existen sustancias hemolíticas (ácido oléico, trioleína) y sustancias anti-hemolíticas (colecsterina). Para concretar tomemos el caso 45. El tal suero tendría mayor afinidad química por el grupo hemolítico, de suerte que eso nos explicaría como a una dosis menor es «parcial y a una mayor dosis de antígeno resulta positivo. En la dilución mínima la cantidad de sustancias hemolíticas es superior, así como la de productos anti-hemolíticos pero como hemos supuesto una mayor afinidad de los «anticuerpos» por las primeras, de ahí que podamos interpretar el fenómeno.

Después de todo, el antígeno XIV<sub>bis</sub> resulta simplemente mediocre e inferior al XIV del que habíamos partido para su preparación.

A raíz de todas las experiencias citadas más arriba resolvimos volver al antígeno XIV pero para estudiar separadamente el rol de cada uno de sus componentes en la reacción Wassermann, puestos a diferentes dosis en presencia de sueros positivos y negativos; para poder de esta manera determinar el poder fijador, hemolítico y anti hemolítico; así como establecer cuales fueran las sustancias inútiles. Comenzamos por preparar una solución en alcohol absoluto (20 c. c.) de cada uno de los componentes del antígeno XIV á la dosis en él establecida (úrea 0.02 etc.)

Acto continuo estudiamos el poder hemolítico de cada sustancia en la siguiente forma:

### Poder hemolítico

Tubo	AF	Sustancia diluida 1/10	Volúmen	SG	Hemolisis
1	0.2	Urea . . . . .	0.2	0.1	0
2	0.2	Glucosa . . . . .	0.2	0.1	0
3	0.2	Triestearina . . . . .	0.2	0.1	0
4	0.2	Tripalmitina . . . . .	0.2	0.1	p
5	0.2	Trioleína . . . . .	0.2	0.1	p
6	0.2	Acido palmítico . . . . .	0.1	0.1	0
7	0.2	» esteárico . . . . .	0.2	0.1	0
8	0.2	» oléico . . . . .	0.2	0.1	0
9	0.2	Lecitina . . . . .	0.2	0.1	c
10	0.2	Colesterina . . . . .	0.2	0.1	0
11	0.2	Taurocolato . . . . .	0.2	0.1	0
12	0.2	Glucocolato . . . . .	0.2	0.1	0

AF = Agua fisiología.

SG = Suspensión globular 1/20.

A las dosis mencionadas, solo el ácido oléico es francamente hemolítico. La tripalmitina y trioleina lo son parcialmente.

Para estudiar la acción fijadora procedimos como a continuación se detalla:

Tubo	AF	Suero + (1)	Sustancia diluida 1/10	Volúmen	SG	Hemolisis
1	0.2	0.1	Urea.....	0.2	0.1	c
2	0.2	0.1	Glucosa.....	0.2	0.1	c
3	0.2	0.1	Triestearina.....	0.2	0.1	c
4	0.2	0.1	Tripalmitina.....	0.2	0.1	0
5	0.2	0.1	Trioleina.....	0.2	0.1	0
6	0.2	0.1	Acido palmítico...	0.2	0.1	c
7	0.2	0.1	Acido esteárico...	0.2	0.1	0
8	0.2	0.1	Acido oléico...	0.2	0.1	0
9	0.2	0.1	Lecitina,.....	0.2	0.1	0
10	0.2	0.1	Colesterina.....	0.2	0.1	0
11	0.2	0.1	Taurocolato..	0.2	0.1	c
12	0.2	0.1	Glucocolato.....	0.2	0.1	c

Esta experiencia convenientemente controlada sobre un cierto número de sueros positivos, nos iluminó muchísimo acerca del rol de cada uno de los constituyentes de la compleja mezcla.

Vemos pues, que solo la tripalmitina, trioleina, ácido esteárico, oléico, lecitina y colessterina fueron susceptibles de desviar el complemento, en presencia de un suero positivo; de donde resulta inútil y hasta perjudicial la presencia de la úrea, glucosa, triestearina, ácido palmítico, taurocolato y glucocolato.

Restábanos solo averiguar el poder anti-hemolítico de cada uno de los productos, experiencia que practicamos como se expresa en el siguiente cuadro:

(1) Suero sífilítico de Wassermann netamente positivo. Se usó fresco.

**Poder anti-hemolítico**

Tubo	AF	Suero (1)	Sustancia diluida 1/10	Volúmen	SG	Hemolisis
1	0.2	0.1	Urea .....	0.2	0.1	c
2	0.2	0.1	Glucosa.....	0.2	0.1	c
5	0.2	0.1	Triestearina.....	0.2	0.1	c
4	0.2	0.1	Tripalmitina.....	0.2	0.1	c
5	0.2	0.1	Trioleina.....	0.2	0.1	c
6	0.2	0.1	Acido palmítico...	0.2	0.1	c
7	0.2	0.1	» esteárico...	0.2	0.1	c
8	0.2	0.1	» oléico.....	0.2	0.1	c
9	0.2	0.1	Lecitina.....	0.2	0.1	c
10	0.2	0.1	Colesterina.....	0.2	0.1	0
11	0.2	0.1	Taurocolato.....	0.2	0.1	c
12	0.2	0.1	Glucocolato.....	0.2	0.1	c

Concluimos de estas experiencias (2) que la única sustancia anti-hemolítica, del antígeno XIV es la coleslerina; pero su acción queda compensada por el poder hemolítico de la lecitina, tripalmitina y trioleina (cuadro pág. 85).

Y bien; en posesión de todos estos datos, era menester preparar un antígeno compuesto de las sustancias capaces de fijar el complemento y tratando además de equilibrar (3) las propiedades hemolíticas y anti-hemolíticas de una y otras.

Preparamos al efecto el antígeno XVII que no era sinó el XIV en el que habíamos suprimido la úrea, glucosa, triestearina, ácido palmítico; taurocolato y glucocolato.

**Antígeno XVII**

Fórmula:

Tripalmitina ..... 0.02 grs.  
 Trioleina ..... 5 gotas  
 Acido esteárico..... 0.01 grs.

(1) Suero humano normal de Wassermann completamente negativo; al estado fresco.

(2) El ensayo fué repetido varias veces.

(5) Cuantitativamente.

Acido oléico.....	3 gotas
Lecitina.....	0.02
Colesterina.....	0.02
Alcohol absoluto....	20 c. c.

Las cualidades de esta mezcla fueron estudiadas, desde luego comparativamente con los antígenos XV y XVI para comprobar si la eliminación de las sustancias (según los ensayos anteriores), era justificada por una mejora de los resultados.

SUERO N.º	AE	A XVII 1/20	A XVI 1,15	A XV 1 15
11292	—	—	—	—
93	—	—	—	—
94	—	—	—	—
95	+	+	+	p
96	—	—	—	—
97	+	+	+	+
98	—	—	—	—
99	+	+	+	+
300	—	—	—	—
1	—	—	—	—
2	—	—	—	—
3	+	—	—	—
4	+	p	—	—
5	—	—	—	—
277	+	+	+	+
78	+	p	p	—
79	—	—	—	—
80	+	+	+	—
81	—	p	—	—
82	—	—	—	—
85	—	—	—	—
84	—	—	—	—
88	+	+	+	—

Mientras el antígeno XV nos acusa tres discordancias y el XVI dos; el antígeno XVII solo una (caso 305) sífilis terciaria.

Además no conocíamos aún su dilución óptima, razón por la que realizamos el siguiente ensayo:

**Ensayo comparativo**

SUERO Nº.	AE	A XVII-1/15	A XVI-1/12	A XV-1/12
11409	+	+	p	—
08	—	—	—	—
7	+	+	+	+
6	+	+	+	+
5	+	+	+	+
4	+	p	p	p
1	—	—	—	—
0	—	p	—	—
599	—	—	—	—
98	—	—	—	—
7	+	p	p	p
6	+	p	—	—
5	+	+	+	+
2	—	+	+	+
1	—	—	—	—
0	—	—	—	—
89	—	—	—	—
8	+	p	—	—
7	+	+	p	—
5	—	—	—	—
4	—	—	—	—
5	p	—	—	—
422	—	—	—	—

Este cuadro ofrece resultados interesantes: el antígeno XVII acusa una discordancia absoluta, el XVI tres y el XV cuatro.

El caso 302 era el suero de un sujeto portador de un chancro, datando de seis días cuyo exámen al ultra nos reveló la presencia del treponema y vemos que mientras el antígeno específico no revela aún ningún cambio en el estado físico-químico de dicho suero, los tres antígenos artificiales lo acusan de manera neta. En cambio en el caso 383 (sífilis secundaria en tratamiento intensivo arseno-mercurial) el extracto específico arroja una hemolisis parcial y los extractos artificiales completa. Como quiera que sea, el antígeno XVII es superior al XV y XVI.

Como en los casos 305, 397, 396 y 388 se mostrara débil, pensamos ensayarlo a menor dilución.

**Ensayo comparativo**

SUERO N <sup>o</sup> .	A. XVII 1/10	AE
11558	—	—
59	—	—
61	p	—
62	—	+
63	p	p
64	p	+
66	—	—
67	—	+
68	p	+
69	p	p
70	—	—
71	+	+
72	—	—
73	—	—
74	—	+
75	—	—
76	—	+
77	—	—
78	—	—
79	—	—
82	+	+
84	—	—
650	—	—
678	—	—
27	—	—
26	+	r
25	p	—
25	—	—
22	—	—
21	—	—
20	—	—
19	p	+
17	p	—
16	—	p
58	p	—
59	—	—

Resulta pues que el antígeno XVII acusa un 10 % de discordancias absolutas comparado con el extracto específico. Se muestra además débil, pues las divergencias son siempre en el mismo sentido y no es cuestión de dilución por cuanto ya al 1/10 se torna antihemolítico («empechant») casos 561-625-619.

Luego es menester cambiar en su fórmula las dosis de sus componentes forzando la de los principios fijadores y quizás paralelamente la de algunos hemolíticos para mantener el equilibrio e impedir que se aumenten sus propiedades antihemolíticas.

En estas vistas llegamos a la preparación del antígeno XVIII, en el que vemos disminuidas las dosis de tripalmitina y trioleina y aumentadas las de colessterina y lecitina.

### Antígeno XVIII

Fórmula:

Tripalmitina.....	0.01	grs.
Trioleina.....	1	gota
Acido esteárico.	0.01	grs.
» oléico.....	5	gotas
Lecitina.....	0.04	grs.
Colessterina.....	0.04	»

Practicamos experiencias paralelas con el antígeno XVIII y XVII; este último a una dilución de 1/10 y el primero á 1/20.

En el siguiente cuadro detallamos los resultados:

SUERO N.º	AE	A-XVIII 1/20	A-XVII 1 10
11765	+	+	+
64	+	+	+
63	-	-	-
62	+	+	+
61	-	+	+
60	-	-	p
59	+	+	+
55	+	p	+
53	-	p	p
38	+	+	+
47	-	-	p
46	-	+	p
45	+	+	+
40	-	-	-
39	+	+	+
22	-	-	-
21	-	-	-
20	-	+	p
19	-	-	p
18	-	-	p
17	-	-	p
15	-	-	p
14	-	-	-
13	+	+	+
12	-	-	-
11	-	-	p
10	-	-	-
37	+	-	+
36	+	+	p
35	-	p	+
34	p	-	-
33	-	-	-
32	-	-	-
31	-	-	-
30	-	-	-
29	-	-	p
28	-	-	+
26	p	p	p
25	-	-	-
24	-	-	-
23	-	-	-
79	-	-	-
78	-	p	-
77	-	-	-
76	-	-	p
75	-	-	p
74	-	-	-
73	-	-	p

Estos resultados nos permiten ver que el antígeno XVIII es superior al XVII pues arroja menos discordancias absolutas y parciales: al mismo tiempo se nota un cierto poder anti-hemolítico.

Por otra parte creimos interesante estudiar comparativamente el antígeno XVIII y XIV del que indirectamente habíamos partido.

Los resultados se registran en el cuadro siguiente:

**Ensayo comparativo**

SUERO N.º	AE	A-XVIII 1/20	A-XVII 1/10
11908	—	—	
909	+	+	+
910	—	—	—
894	+	+	+
891	+	+	+
890	+	+	+
889	p	p	p
888	+	p	+
887	+	+	—
885	p	p	p
884	+	+	+
881	+	p	+
924	—	—	—
921	—	—	—
920	—	—	—
917	—	—	—
916	—	—	—
915	—	—	—
936	+	+	—
955	p	p	—
954	+	+	—
952	—	p	—
950	+	+	+
929	+	+	+
878	p	p	—
877	+	+	+
876	—	—	—
873	—	p	—
872	+	+	—
871	—	—	—
870	—	—	—
868	p	p	—
865	p	—	—
864	p	p	—
859	—	—	—
858	—	—	—
856	—	—	—
857	—	—	—
896	p	p	p
897	—	—	—
899	—	—	—
901	—	—	—
902	—	—	+
903	+	+	+
905	p	—	—
906	p	—	—
907	+	+	+

Se ve que los resultados de los antígenos XIV y XVIII son muy comparables, demostrando este último una ligera superioridad; pero según decíamos un poco más arriba, posee un cierto poder anti-hemolítico que es menester tratar de disminuir. En la fórmula de la mezcla XVIII aumentábamos las dosis de tripalmitina y trioleína, reduciendo al mismo tiempo y paralelamente las de lecitina y colessterina. Llegamos así al:

### Antígeno XIX

Formula:

Tripalmitina....	0.02 grs.
Trioleína....	5 gotas
Acido esteárico.	0.01 grs.
» oléico....	5 gotas
Lecitina.....	0.05 grs.
Colessterina.....	0.05

Nos pareció reunir sumo interés la realización de experiencias comparativas en las que intervinieran varios extractos específicos y diversos antígenos artificiales para observar las divergencias de estos con aquellos y de los primeros entre sí

En el cuadro siguiente se detallan estos ensayos.

**Ensayo comparativo**

SUERO Nº.	A. XIV 1/15	A. XIX 1/15	AE I	AE II	AE III	AE III
12550	—	—	—	p	p	—
552	—	—	—	—	—	—
554	+	+	+	+	+	+
556	—	—	—	—	p	—
557	+	+	+	+	+	+
559	+	+	+	+	+	+
540	—	—	—	—	—	—
541	—	—	—	—	—	—
542	—	—	—	—	—	—
544	p	+	p	+	+	+
545	—	—	—	—	—	—
547	p	p	p	p	p	p
Dr. Sarafi	+	+	+	+	+	+
» »	+	+	+	+	+	+
549	—	p	—	p	p	—
547	p	p	—	p	—	—
548	+	+	+	+	+	+
553	p	p	p	p	p	p
554	+	+	+	+	+	+
555	—	—	p	p	p	p
556	—	—	—	—	—	—
558	—	—	—	—	—	—
560	+	+	+	+	+	+
561	p	p	—	—	—	—

Los antígenos específicos eran de hígado heredo-sifilítico y su título fué establecido previo ensayos sobre un gran número de sueros. M. Latapie tuvo la gentileza de poner a nuestra disposición dichos antígenos.

En efecto, esta experiencia es muy interesante. Notamos pues, aunque jamás una discordancia absoluta, pero sí deferencias de grado entre los resultados de diversos antígenos perfectamente específicos. En el caso 330 (suero normal) los antígenos específicos II y III se muestran anti-hemolíticos.

En el caso 344 (sífilis primaria de 20 días) el antígeno artificial XIV y el específico I presentan poca sensibilidad como reactivos de una alteración físico-química del suero (anti-cuerpos).

Los casos 349 y 352 son dos sujetos sifilíticos en tratamiento intensivo arseno-mercurial. Vemos que la reacción Wassermann resulta ya negativa para con ciertos antígenos específicos, cuando para con otros es aún parcial.

En el caso 355 se trata de sífilis primaria chancro de 12 días. En el 361, suero de un sujeto indemne de sífilis, los antígenos artificiales se muestran anti-hemolíticos.

Continuamos comparando diversos antígenos específicos entre sí y con uno artificial y las experiencias anteriores se vieron confirmadas según lo atestigua el siguiente cuadro:

**Ensayo comparativo**

SUERO N°.	A XIV 1/10	AE	AE <sub>bis</sub>
220	p	—	—
247	p	—	—
179		—	—
178	—		
240	p	p	—
186	p	—	—
192	p	+	+
191	—	—	—
190	—		—
189	p	—	—
295			+
260	+	+	+
265	p	p	
249	p	p	p
241	p	+	+
194	+	+	+
255	p	p	—
246	+	+	+
196	+	+	+
281	+	+	+
195	+	+	+
294		—	—
255	+		+

En los casos 240 y 255 los antígenos XIV y AEI se muestran anti-hemolíticos. Lo mismo sucede con el antígeno XIV en los casos 186-189.

Sobre 25 sueros que figuran en este cuadro los antígenos específicos acusan tres discordancias parciales y el artificial comparado a uno de ellos (AE<sub>his</sub>) nos acusa 6.

Siguiendo nuestras experiencias con el antígeno XIX obtuvimos en otra serie los siguientes resultados:

**Ensayo comparativo**

SUERO N°.	A. XIV 1/15	A. XIX 1 15	AE
12600	+	+	+
599	+	+	+
596	+	+	+
593	—	—	—
592	+	+	+
595	p	p	p
594	+	+	+
554	p	p	+
511	p	p	+
598	p	p	p
552	+	+	+
549	+	+	+
544	+	+	+
545	—	—	p
510	+	+	+
547	—	—	—
540	—	—	—
541	—	—	—
522	p	—	—
550	p	p	p
539	p	p	—
555	p	—	—
520	+	+	—

De estas experiencias deducimos en primer término que el antígeno XIX es superior al XIV pues es menos anti-hemolítico (522 y 555); luego que el antígeno XIX se muestra débil vis a vis de ciertos sueros positivos casos 554-511 y 529 por lo que resolvimos reforzarlo aumentando la proporción de colesteroína, variando al mismo tiempo la dosis de tripalmitina, trioleína y ácido oléico.

**Antígeno XX (1)**

Tripalmitina.....	0.03	grs.
Trioleina.....	4	gotas
Acido oléico .....	4	»
» esteárico .....	0.01	grs.
Lecitina.....	0.03	»
Colesterina .....	0.04	»

Efectuamos una serie de experiencias comparativas, parangonando siempre, antígenos específicos y artificiales; de las que en el cuadro siguiente se da detalle:

SUERO N <sup>o</sup> .	AE I	A. XIV 1/10	A. XX 1/20	AE II	AE III
12139	+	+	+	+	+
32	+	+	+	+	+
54	—	—	—	—	—
36	—	—	—	—	p
15	—	p	+	p	—
14	+	+	+	+	+
15	p	p	p	p	p
16	+	+	+	+	+
17	p	+	+	p	p
18	—	—	—	—	—
19	+	+	+	+	+
22	p	—	—	p	p
27	—	—	—	—	—
51	+	p	p	+	+
32	+	p	p	+	+
35	—	—	—	—	—
37	—	p	p	—	—
38	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+
43	+	+	+	+	+
44	—	—	—	—	—
47	+	+	+	+	+
48	p	p	p	p	+
65	p	p	p	+	+

He aquí otro cuadro de interesantes resultados: el que analizado rápidamente nos dice: que en el caso 36 (suero normal) el antígeno

(1) 48 horas a la estufa a 37°. Agitar de tiempo en tiempo; decantar y servirse del líquido sobrenadante. Para diluirlo añadir el agua fisiológica, por pequeñas porciones y agitando continuamente.

especifico III es ligeramente anti-hemolitico; que en el caso 13 (sujeto sifilitico en tratamiento mercurial) los antígenos ÁEII y AEI no nos acusan la desviación del complemento; en cambio los antígenos XIV, AEII y en particular el XX desvian los primeros parcial y el último totalmente la alexina. De parte de quien está la razón?

Existen aún en dicho suero los anti-cuerpos sifilíticos? Se trata de propiedades anti-hemolíticas de los tres últimos antígenos? Nadie es capaz de descifrar este problema sinó por medio de mayor número de experiencias en las que al fin se consiga conocer la calidad de cada antígeno. En el caso 22 la misma incógnita subsiste. Se trate de un sujeto que ha recibido 3 series de 5 inyecciones cada una de neosalvarsan gr. 0.30, 0.45, 0.60, 0.75 y 0.90, además 20 inyecciones de aceite gris.

Los antígenos artificiales se manifiestan allí insuficientemente sensibles? Es probable. Donde esto es seguro es en el caso 31 (accidentes secundarios manifiestos).

Peró grave es el caso 13 ya citado que nos ofrece una discordancia absoluta entre el antígeno AEI y el XX.

Como quiera que sea, vemos pues que aún entre los buenos extractos especificos se apuntan discordancias de grado, sobre todo cuando se trata de enfermos en tratamiento, y casi siempre al final de éste.

La medicación no influenciará la desviación del complemento? Seria aventurado negarlo en absoluto, desde que hoy es corrientemente empleado el procedimiento de «reactivación» de los sueros de Wassermann negativos los que por simple inyección de 0.15 ó 0.50 de salvarsan resultan a veces francamente positivos.

Damos a continuación otro cuadro de experiencias siempre en el mismo sentido.

**Ensayo comparativo**

SUERO Nº.	A. XIX-1/12	A. XX-1/15	AE V	AE VI
12846	—	—	—	—
47	—	—	—	—
48	p	+	+	p
50	p	p	p	p
51	—	—	—	—
52	—	—	—	—
53	+	+	+	+
54	—	—	—	—
56	+	+	+	—
57	—	—	—	—
58	p	p	p	+
59	p	+	p	—
60		+	+	+
61		—	—	—
62	+	+	+	+
63	—	—	—	—
64	—	—	—	—
65	—		—	—
66	+	+	+	+
67	+	+	+	+
68	+	+	+	+
69	+	+	+	+
22	—	—	—	—
24	—	p	—	p
94	—	—	—	—
95	+	+	+	+
96	—	p	—	—
97	+	+	+	+
98	p	p	p	p
99	+	+	+	+
900	+	+	+	+

Según hemos ya manifestado en páginas anteriores parece una regla general el hecho de que sueros francamente positivos (sífilis primaria a partir del vigésimo día de la aparición de lesiones y sífilis secundaria sin tratamiento aún), lo son vis a vis de cualquier buen antígeno; lo mismo sucede con los sueros completamente negativos (de sujetos indemnes); pero la cosa se complica cuando entran a escena sueros de sujetos en tratamiento. La reacción de Wassermann sabemos que es cuantitativa, de ahí las «divergencias de grado» en sus

resultados. Es el mismo caso que cuando en química analítica deseamos investigar un cuerpo cualquiera en una solución diluidísima por medio de diferentes reactivos de distinta sensibilidad. Mientras unos nos acusen la presencia de la sustancia los otros ya no lo harán. Y aquí en biología el problema se oscurece por el hecho de que un antígeno puede ser más sensible que otro respecto de los anti-cuerpos de un cierto suero; y menos en presencia de otro, ya se trate de positivos o parciales. Es que aquí la cantidad de sustancias en reacción constituye cada una, un posible motivo de error.

En el cuadro siguiente se pone de manifiesto una ligera superioridad del antígeno XX sobre el XIX:

**Ensayo comparativo**

SUERO N°.	A. XIX 1/15	A. XX 1 15	AE II
13583	—	—	—
82	—	—	—
602	—	—	—
575	p	—	+
503	p	—	+
505	—	—	—
507	—	—	—
508	—	—	—
515	—	—	—
516	—	—	—
517	p	p	p
518	—	p	+
521	—	—	—
525	—	—	—
549	—	—	—
548	+	—	—
547	+	+	+
559	—	—	—
551	—	—	p
501	—	—	—
502	—	—	—
15000	—	p	p
12955	—	—	—
997	—	p	p

En los casos 575, 503 y 518 el suero provenía de un sujeto con lesiones primarias (14 días). Los casos 551 como el 997 y 15000 eran sueros de sujetos de sífilis secundaria en tratamiento desde varios

meses. Como aún no lo habíamos hecho, estudiamos paralelamente los antígenos XIV, XIX y XX frente a un extracto específico:

**Ensayo comparativo**

SUERO N°.	A. XIV 1/13	A. XIX 1/15	A. XX /115	AE. IV
13673	—	—	—	—
684	—	—	—	—
753	—	—	—	—
754	p	p	+	+
745	p	—	—	—
748	+	+	+	+
750	+	+	+	+
752	—	—	—	p
744	—	—	—	—
739	—	—	—	—
715	—	—	—	—
714	—	—	—	—
723	—	p	p	—
721	p	p	p	p
726	p	p	p	p
725	—	—	—	—
728	+	+	+	+
689	+	+	p	+
705	+	+	+	+
687	—	—	—	—
705	—	—	—	—
701	+	+	+	+
699	—	—	—	—
669	—	—	—	—

El suero 754 era de un sífilítico secundario, aún no en tratamiento. Luego los antígenos XIV y XIX son en ese caso débiles.

Los sueros 745 y 752 eran normales, luego allí tanto el antígeno específico como el XIV revelan poder anti-hemolítico.

En el caso 689 es el antígeno XX que se muestra débil (sífilis secundaria aún no en tratamiento). Se comprueba aquí lo que afirmábamos hace un instante respecto de la variable sensibilidad de los antígenos.

En el cuadro que a continuación detallamos, damos cuenta de los resultados obtenidos al practicar la suero-reacción con los antígenos XVII, XVIII, XX y uno específico:

SUERO N°.	A. XVII 1/15	A. XVIII 1/15	A. XX 1/15	AE 1
13882	+	+	+	+
84	+	+	+	p
85	—	—	—	—
87	+	+	+	+
88	—	p	p	p
89	—	—	—	—
63	+	+	+	+
62	+	+	+	—
66	p	p	p	p
65	—	—	—	—
68	—	—	—	—
67	—	—	—	—
81	+	+	+	+
59	+	+	p	p
57	—	—	—	—
91	p	p	p	p
92	—	—	—	—
93	+	+	p	p
904	—	—	p	—
875	—	—	—	—
880	—	—	—	—
876	+	+	+	+
874	—	—	—	—
873	—	—	—	—

Debemos hacer resaltar que en esta serie de experiencias que representan 96 reacciones de Wassermann, con 4 antígenos, no se registra ninguna discordancia absoluta y solo 5 diferencias de grado. (Casos 84, 89, 59, 93 y 904).

Si consideramos solamente los resultados del antígeno XX y los del específico, vemos que nada más que en dos sueros sobre 24, los resultados han diferido; en el caso 84 en que el extracto específico se mostró insuficientemente sensible y en el 904 en que el antígeno artificial se manifestó anti-hemolítico. Después de todo, hemos visto en cuadros anteriores que las divergencias entre buenos extractos específicos no eran menores.

Ante la evidencia de los aceptables resultados del antígeno XX nos propusimos estudiarlo más profundamente descartando ya los demás que se mostraban inferiores en calidad.

Comenzamos por titularlo paralelamente al mejor de todos los extractos específicos que habíamos preparado y que M. Latapie según hemos dicho había puesto amablemente a nuestra disposición.

**Titulación comparativa de antígenos**

SUEROS POSITIVOS (1)

	TUBO	AF	A.XX		AE		S	A	H	SG	HEMOLISIS	
											A.XX	AE
+	1	1.55	0.05	1/30	0.05	1/40	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	0
	2	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	p	0
	3	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	4	1.4	0.2	1/15	0.2	1/20	0.2	0.1	0.1	»	0	0
	5	1.3	0.3		0.3		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	6	1.6					0.2	0.1	0.1	»	c	c
+	1	1.55	0.05	1/30	0.05	1/40	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	p
	2	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	c	0
	3	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	p	0
	4	1.4	0.2	1/15	0.2	1/20	0.2	0.1	0.1	»	0	0
	5	1.3	0.3		0.3		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	6	1.6					0.2	0.1	0.1	»	c	c
+	1	1.55	0.05	1/30	0.05	1/40	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	p	0
	2	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	3	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	4	1.4	0.2	1/15	0.2	1/20	0.2	0.1	0.1	»	0	0
	5	1.3	0.3		0.3		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	6	1.6					0.2	0.1	0.1	»	c	c
+	1	1.55	0.05	1/30	0.05	1/40	0.2	0.1	0.1	1 c.c.	c	0
	2	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	p	0
	3	1.5	0.1		0.1		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	4	1.4	0.2	1/15	0.2	1/20	0.2	0.1	0.1	»	0	0
	5	1.3	0.3		0.3		0.2	0.1	0.1	»	0	0
	6	1.6					0.2	0.1	0.1	»	c	c

(1) Para las abreviaturas recurrir a las págs. 36 y 37.

**Titulación comparativa de antígenos**

SUEROS NEGATIVOS

TUBO	AF	A. XX	AE	S	A	H	SG	HEMOLISIS		
								A. XX	AE	
1	1.5	0.1 1/15	0.1 1/24	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	
2	1.4	0.2 »	0.2 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
3	1.3	0.3 »	0.3 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
4	1.2	0.4 »	0.4 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
5	1.1	0.5 »	0.5 »	0.2	0.1	0.1	»	c	p	
6	1.6	—	—	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
1	1.5	0.1 1/15	0.1 1/24	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	
2	1.4	0.2 »	0.2 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
3	1.3	0.3 »	0.3 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
4	1.2	0.4 »	0.4 »	0.2	0.1	0.1	»	c	p	
5	1.1	0.5 »	0.5 »	0.2	0.1	0.1	»	p	0	
6	1.6	—	—	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
1	0.1	1.1 1/15	0.1 1/24	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	
2	0.2	1.2 »	0.2 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
3	0.3	1.3 »	0.3 »	0.2	0.1	0.1	»	p	c	
4	0.4	1.4 »	0.4 »	0.2	0.1	0.1	»	0	p	
5	0.5	1.5 »	0.5 »	0.2	0.1	0.1	»	0	0	
6	0.6	—	—	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
1	0.1	1.1 1/15	0.1 1/24	0.2	0.1	0.1	1c.c.	c	c	
2	0.2	1.2 »	0.2 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
3	0.3	1.3 »	0.3 »	0.2	0.1	0.1	»	c	c	
4	0.4	1.4 »	0.4 »	0.2	0.1	0.1	»	0	p	
5	0.5	1.5 »	0.5 »	0.2	0.1	0.1	»	0	0	
6	0.6	—	—	0.2	0.1	0.1	»	c	c	

De la titulación se desprende que el antígeno XX presenta menos elasticidad que el extracto específico, pues es menos sensible y más antihemolítico que éste, ofreciendo sin embargo suficiente especificidad.

Estudiamos luego separadamente la sensibilidad del antígeno XX sobre sueros positivos y parciales vis a vis del antígeno específico. Primeramente empleamos el suero puro, diluyendo el antígeno progresivamente.

SUERO N.º	A. XX.		
	1/15	1/30	1/60
14306	+	—	—
309	+	+	+
202	p	—	—
101	+	+	+
160	+	+	p
265	+	+	+
598	p	p	—

Comprobamos aquí que para ciertos sueros el mismo antígeno constituye un reactivo de marcada sensibilidad (309 y 265) para otros de sensibilidad media (360 y 298) y en fin en presencia de ciertos sueros esta sensibilidad es pequeña (306 y 202).

Luego empleamos el antígeno a una dilución constante pero diluyendo en cambio los sueros en agua fisiológica. Los sueros eran todos francamente positivos.

**Sueros diluidos Antígeno XX 1/15**

SUERO N.º	1/10	1/20	1/50
97	+	+	+
98	+	p	—
100	p	—	—
101	—	—	—
102	+	+	+
105	+	+	+
105	+	p	p
106	—	—	—

Como es natural, sucede aquí lo mismo que cuando operábamos con distintas diluciones de antígeno. Ciertos sueros permiten una dilución muy grande sin dejar de ser positivos, otros en cambio ya a una dilución de 1 en 9 o sea al 1/10 resultan negativos.

Pero esta inconstancia en la sensibilidad la hemos también encontrado en los mejores extractos específicos comparados entre ellos (ver cuadros anteriores), de suerte que es una propiedad inherente a todo antígeno. Y esto es lógico y fácil de comprender si se recuerda que la «cantidad de anticuerpos» o mucho mejor dicho «la alteración físico-química» de un suero específico, por la presencia en el organismo del treponema, puede ser más o menos intensa, de ahí que el mismo reactivo pueda dar con sueros sifilíticos, resultados que difieran cuantitativamente. Como quiera que sea, la experiencia nos dice que el antígeno XX es aceptable como reactivo de la avariosis. Era menester pues estudiarlo sobre mayor número aún de sueros. En efecto así lo hicimos sobre sangre de enfermos del servicio de M. Ravaut cuyos datos clínicos este sabio tuvo la generosidad de suministrarnos de manera precisa.

A continuación detallamos estas experiencias:

SUERO N°.	A. XX 1/15	AE
595	+	+
98	p	p
92	+	+
600	+	+
594	+	+
593	p	p
596	+	+
599	+	+
792	+	+
781	+	+
783	—	—
784	+	+
785	—	—
895	+	+
896	p	—
897	+	+
898	p	p
899	+	+
900	+	+
901	—	—
583	—	—
582	—	—
726	p	—
725	—	—
728	+	+
729	p	+
866	p	p
865	—	—
868	—	—
960	+	+
959	+	+
964	—	—
965	+	+
962	—	—
961	—	—
963	—	—
478	+	+
773	—	p
472	—	—
480	—	—
479	—	—
481	—	—
475	—	—
474	—	—
476	—	—
669	+	—
668	+	+
666	—	—
665	+	+
667	p	p
997	+	+
996	+	+
995	—	—
994	p	p

Sobre estos 54 sueros y líquidos céfalo-raquídeos, se registran 4 discordancias de grado y una absoluta.

Esta última era un caso clínicamente clasificado de «heredo sifilis?». Con otros tres antígenos específicos arrojó resultado negativo y con otros dos parcial. Es probable que en el caso del antígeno XX se trate de una ligera modificación del estado físico químico del suero en cuestión unida a un cierto poder antihemolítico del antígeno XX en presencia de dicho suero.

Para concretar vamos a resumir porcentajes de resultados de todas las mezclas artificiales a que hemos pasado revista en detalle, en páginas anteriores, de modo que nos sea más fácil interpretar las variaciones en sus calidades por supresión o cambio en la dosis de un determinado producto.

(1) Antígeno ASD (a) 1/16	{	Sobre 100 sueros positivos	80 +	
		» » » negativos	70 —	
		Igualdad de resultados 79 %		
Antígeno ASD (b) 1/15	{	Sobre 100 sueros positivos	60 +	
		» » » negativos	61 —	
		Igualdad de resultados 62 %		
Antígeno ASD (c) 1/20	{	Sobre 100 sueros positivos	60 +	
		» » » negativos	50 —	
		Igualdad de resultados 41 %		
Antígeno I 1/17	{	Sobre 100 sueros positivos	60 +	
		» » » negativos	60 —	
		Igualdad de resultados 58 %		
Antígeno III	{	Sobre 100 sueros positivos	80 +	
		» » » negativos	60 —	
		Igualdad de resultados 79 %		
Antígeno IV	{	Sobre 100 sueros positivos	100 +	
		» » » negativos	25 —	
Antígeno IX	{	Sobre 100 +	40 +	Igualdad de resultados 58 %
		50 p	50 —	
		Sobre 100 —	100 —	
Antígeno XI	{	Sobre 100 +	10 +	Igualdad de resultados 45 %
		60 p	50 —	
		Sobre 100	89 —	
			11 p	

(1) Las fórmulas han sido mencionadas en páginas anteriores.

Antígeno XII	\ resultó sumamente hemolítico, según vimos al / tratarlo en detalle.																																																																																																																																																																																						
	1/10	<table border="0"> <tr> <td>Sobre 100 +</td> <td>70 +</td> <td rowspan="3">}</td> <td rowspan="3">Ig. de res. 75 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td>24 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td>6 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>82 -</td> <td rowspan="3">}</td> <td rowspan="3"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>16 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>2 +</td> </tr> <tr> <td rowspan="4">Antígeno XIV</td> <td rowspan="2">1/15</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>75 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 75 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td>16 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td>9 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td>Sobre 100 +</td> <td>74 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>25 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>3 +</td> </tr> <tr> <td></td> <td rowspan="2">1/20</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>84 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 75 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>16 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>66 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>25 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>9 +</td> </tr> <tr> <td>Antígeno XV</td> <td rowspan="2">1/14</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>60 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 79 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>18 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>22 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>74 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>26 p</td> </tr> <tr> <td>Antígeno XVI</td> <td rowspan="2">1/15</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>64 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 67 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>20 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>16 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>72 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>28 p</td> </tr> <tr> <td>Antígeno XVII</td> <td rowspan="2">1/14</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>80 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 79 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>4 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>16 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>84 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>14 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>2 +</td> </tr> <tr> <td>Antígeno XVIII</td> <td rowspan="2">1/18</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>96 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">Ig. de res. 78 %</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>4 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>78 -</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>14 p</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>8 +</td> </tr> <tr> <td>Antígeno XIX</td> <td rowspan="2">1/15</td> <td>Sobre 100 +</td> <td>100 +</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2"></td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td>Sobre 100 -</td> <td>96 -</td> </tr> <tr> <td></td> <td></td> <td></td> <td>4 p</td> </tr> </table>	Sobre 100 +	70 +	}	Ig. de res. 75 %		24 p		6 -			Sobre 100 -	82 -	}					16 p				2 +	Antígeno XIV	1/15	Sobre 100 +	75 +	}	Ig. de res. 75 %		16 p		9 -	}		Sobre 100 +	74 -				25 p				3 +		1/20	Sobre 100 +	84 +	}	Ig. de res. 75 %			16 p			Sobre 100 -	66 -	}					25 p				9 +	Antígeno XV	1/14	Sobre 100 +	60 +	}	Ig. de res. 79 %				18 p				22 -	}				Sobre 100 -	74 -				26 p	Antígeno XVI	1/15	Sobre 100 +	64 +	}	Ig. de res. 67 %				20 p				16 -	}				Sobre 100 -	72 -				28 p	Antígeno XVII	1/14	Sobre 100 +	80 +	}	Ig. de res. 79 %				4 p				16 -	}				Sobre 100 -	84 -				14 p				2 +	Antígeno XVIII	1/18	Sobre 100 +	96 +	}	Ig. de res. 78 %				4 p			Sobre 100 -	78 -	}					14 p				8 +	Antígeno XIX	1/15	Sobre 100 +	100 +	}				Sobre 100 -	96 -				4 p
Sobre 100 +	70 +	}	Ig. de res. 75 %																																																																																																																																																																																				
	24 p																																																																																																																																																																																						
	6 -																																																																																																																																																																																						
		Sobre 100 -	82 -	}																																																																																																																																																																																			
			16 p																																																																																																																																																																																				
			2 +																																																																																																																																																																																				
Antígeno XIV	1/15	Sobre 100 +	75 +	}	Ig. de res. 75 %																																																																																																																																																																																		
			16 p																																																																																																																																																																																				
		9 -	}																																																																																																																																																																																				
	Sobre 100 +	74 -																																																																																																																																																																																					
			25 p																																																																																																																																																																																				
			3 +																																																																																																																																																																																				
	1/20	Sobre 100 +	84 +	}	Ig. de res. 75 %																																																																																																																																																																																		
			16 p																																																																																																																																																																																				
		Sobre 100 -	66 -	}																																																																																																																																																																																			
			25 p																																																																																																																																																																																				
			9 +																																																																																																																																																																																				
Antígeno XV	1/14	Sobre 100 +	60 +	}	Ig. de res. 79 %																																																																																																																																																																																		
						18 p																																																																																																																																																																																	
			22 -	}																																																																																																																																																																																			
		Sobre 100 -	74 -																																																																																																																																																																																				
			26 p																																																																																																																																																																																				
Antígeno XVI	1/15	Sobre 100 +	64 +	}	Ig. de res. 67 %																																																																																																																																																																																		
						20 p																																																																																																																																																																																	
			16 -	}																																																																																																																																																																																			
		Sobre 100 -	72 -																																																																																																																																																																																				
			28 p																																																																																																																																																																																				
Antígeno XVII	1/14	Sobre 100 +	80 +	}	Ig. de res. 79 %																																																																																																																																																																																		
						4 p																																																																																																																																																																																	
			16 -	}																																																																																																																																																																																			
		Sobre 100 -	84 -																																																																																																																																																																																				
			14 p																																																																																																																																																																																				
			2 +																																																																																																																																																																																				
Antígeno XVIII	1/18	Sobre 100 +	96 +	}	Ig. de res. 78 %																																																																																																																																																																																		
						4 p																																																																																																																																																																																	
		Sobre 100 -	78 -	}																																																																																																																																																																																			
			14 p																																																																																																																																																																																				
			8 +																																																																																																																																																																																				
Antígeno XIX	1/15	Sobre 100 +	100 +	}																																																																																																																																																																																			
			Sobre 100 -			96 -																																																																																																																																																																																	
			4 p																																																																																																																																																																																				

Pero sin elegir previamente los sueros, obtuvimos con el antígeno XIX, 82 veces sobre 100 una concordancia absoluta.

Antígeno XX	Sobre 100 +	96 +	4 p
1/15	Sobre 100 -	88 -	12 p

En cambio sin elegir de antemano los sueros, obtuvimos sobre 100 casos de Wassermann X, 94 veces una concordancia absoluta vis a vis del antígeno Latapie (específico) Sobre 50 líquidos céfalo raquídeos obtuvimos 50 veces el mismo resultado.

Ahora bien, resumiremos igualmente aquí los resultados de los antígenos específicos comparados entre sí.

### EXTRACTOS ESPECÍFICOS

Antígeno A vis a vis del antígeno B = 84 % de concordancia
» A » » » » » C = 96 » » »
» B » » » » » C = 88 » » »

Es decir que comparados los resultados de la reacción de Wassermann practicada con los antígenos específicos A y B a sus respectivas diluciones óptimas, hemos obtenido 84 veces sobre 100 idénticos resultados y 16 veces sobre 100 diferencias de grado.

En suma, estas estadísticas tanto de las mezclas artificiales como de los extractos específicos, son suficientemente elocuentes para que se pueda juzgar del valor de cada antígeno. Apuntaremos sin embargo algunas observaciones que creemos oportunas.

Al establecer los porcentajes de resultados de cada antígeno, hemos calculado sobre 100 sueros perfectamente positivos y negativos frente del mejor extracto específico del Instituto Pasteur.

Un caso realmente interesante constituye el antígeno XIV pues la dilución no hace variar el porcentaje global de sus resultados. Preferimos sin embargo la dilución al 1/10 y mejor aún la óptima 1/15 por acusarnos menos discordancias absolutas.

Para los antígenos XIX y XX además de proceder en esa forma, calculamos también, sobre 100 sueros tomados al acaso y con los que aún no se había practicado la reacción de Wassermann, con el antígeno específico. Quedaban englobados, aquí también los sueros parcialmente positivos.

## CONCLUSIONES

De los datos y experiencias consignados en el presente trabajo nos creemos autorizados a emitir las siguientes conclusiones:

- 1)—Ninguno de los procedimientos enumerados en esta monografía incluso el de Popoff, que hemos tenido oportunidad de ensayar ultimamente, puede sustituir a la reacción de Wassermann en el diagnóstico de la sífilis.
- 2)—El método rápido y la técnica Wassermann dan resultados generalmente concordantes y frente a divergencias entre uno y otro, la determinación del índice hemolítico o del poder aléxico o anti-aléxico dirá de parte de quien está la razón. (Somos partidarios de practicarlos simultáneamente).
- 3)—Los antígenos artificiales de Sachs-Rondoni y Desmoulière carecen de suficiente especificidad, siendo el primero manifiestamente hemolítico.
- 4)—Si Mutermilk consigue distinguir un suero sífilítico de uno normal por precipitación de las globulinas por el CO<sub>2</sub> en el primero, cosa que no sucede en el segundo; si Landau los diferencia igualmente valiéndose del yodo; y si en fin nosotros logramos hacerlo con la cupla «ácidos grasos, grasas, colesteroles y lecitina», nos parece indiscutible la *diferencia química* entre uno y otro.
- 5)—Si el suero de conejo normal y por consiguiente indemne de sífilis, acusa con bastante frecuencia un Wassermann positivo, podría suponerse una analogía de composición química con el suero humano sífilítico; en lo que respecta al «grupo químico» capaz de fijar el complemento.
- 6)—De entre todas las mezclas artificiales por nosotros ensayadas los antígenos XIX y XX resultan superiores al resto.
- 7)—Sin constituir aún el ideal de un antígeno artificial, la mezcla XIX y sobre todo la XX, son sin embargo recomendables pues no acusa mayor divergencia de resultados vis a vis de un buen extracto específico, que cuando se comparan dos antígenos naturales entre sí; ofreciendo por otra parte la constancia de fórmula y simplicidad de preparación.
- 8)—La intensidad de la fijación es la misma con el antígeno artificial XX y el específico, sobre todo tratándose de sífilis primaria y secundaria. Es en la avariosis latente donde raras veces se notan divergencias de grado, que por otra parte también se presentan al comparar dos extractos específicos.

La Plata, julio 25 1914.

Presentada en la fecha, con 156 fojas; pase a la Comisión Examinadora de Tesis, que deberá expedirse dentro del término de un mes, fijando las proposiciones accesorias, de acuerdo con las prescripciones reglamentarias.

E. HERRERO DUCLOUX.  
Director interino

*M. de Barrios,*  
Pro-Srio.

---

La Plata, 24 de agosto de 1914.

La Mesa Examinadora que suscribe ha estudiado la tesis del ex alumno Carlos A. Sagastume y resolvió aceptarla, fijando para el acto del examen las siguientes proposiciones accesorias:

- 1.—Hemodiasis en el suero-diagnóstico.
- 2.—Citoculturas e inmunidad.
- 3.—Origen de las bacteriolisinas séricas.

*E. Herrero Ducloux.—Juan Carlos Delfino.*  
*—P. T. Vignau.—Atilio Bado.—A. Cogliati*

