UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS QUIMICAS

UNA REACCION MEXICANA PARA EL SERODIAGNOSTICO DE LA SIFILIS

TESIS

que presenta la alumna

ELOISA DI-BELLA RAMON

para su exámen profesional de

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

México, D. F. - 1945

A mi padre
con veneración infinita, mi gran apoyo y guía por quien he logrado llevar a cabo este trabajo.

A mi madre
y hermanos.

Mi sincero agradecimiento a
las personas que contribuyeron
a la realización de este trabajo.

A TODOS MIS MAESTROS:

del "Instituto Froebel de Tampico"
de la "Escuela Preparatoria de Tampico"
de la "Escuela Nacional Preparatoria" y
de la "Escuela Nacional de Ciencias Químicas"
cuya sapiencia y abnegación forjaron mi mente y mi espíritu.

Con veneración y gratitud, dedícoles este último trabajo de mi vida estudiantil.

INTRODUCCION

INTRODUCCION

Los glóbulos rojos de la sangre de los animales, cuando se ponen en contacto con varias substancias, liberan su hemoglobina y el estroma se disuelve. Este fenómeno se llama "hemólisis" y la substancia que lo provoca se dice que es "hemolítica", para los glóbulos que es capaz de disolver. El suero fresco de muchos animales de distintas especies es hemolítico para los glóbulos rojos de algunas especies de animales, pero no todas.

La acción hemolítica del suero resulta de la función coordinada de dos factores distintos: primero el "amboceptor" ("sensibilizador" de Bordet o "fijador" de Matchinkoff), y segundo el "complemento" ("alexina"de Bordet o "citasa" de Metchinkoff'; este último se encuentra siempre en el suero fresco, en cambio el primero no siempre está presente.

Si se agregan glóbulos rojos a un suero que contiene solamente amboceptor, estos lo absorben y lo retienen tan fuertemente que ni con frecuentes lavados con suero fisiológico se logra desprenderlo. Los eritrocitos cargados con amboceptor, se dice que están "sensibilizados". Si se agrega complemento a eritrocitos de esta manera sensibilizados, estos se disuelven rápidamente.

Los eritrocitos son incapaces de absorber el complemento de un suero si no existe amboceptor. La función del amboceptor es, pues, la de preparar o sensibilizar los eritrocitos para el ataque del complemento; y la función del complemento es la de disolver el eritrocito sensibilizado.

Estos dos elementos indispensables para que se efectúe el fenómeno de la hemólisis: complemento y amboceptor, no solamente se diferencian en su función biológica, sino también en su resistencia a la destrucción, espontanea o por efecto del calor u otros factores físicos o químicos. La exposición durante 30 minutos a una temperatura de 55°-56° destruye totalmente la acción del complemento. El amboceptor es más estable, por lo general es activo en sueros que se han conservado durante más de un

año y no es destruido por la acción de temperaturas de 55°-56°.

El proceso de destrucción del complemento de un suero por la calefacción a 55°-56°, se llama "inactivación". El proceso de devolver a un suero su poder hemolítico por la adición de suero fresco, se llama "reactivación". Suero fresco empleado para tal objeto, siendo inactivo por si solo, funciona en virtud de su contenido de complemento, llamándosele en términos generales "complemento" y agregando el nombre del animal de donde proviene.

El complemento siempre es capaz de reactivar el suero de la especie de donde se deriva, pero no todos los complementos son capaces de reactivar sueros inactivos de otras especies; esto es, el complemento de determinada especie animal no es idéntico en su acción al de otra especie.

El intercambio de complementos, o sea la substitución de uno por el de otra especie animal, es posible solamente en muy contados casos. El complemento del Cuy se distingue por su propiedad extraordinaria para substituir el complemento de otras especies; por eso es el más empleado en las reacciones de esta índole.

El amboceptor de una especie siempre actúa con el complemento de la misma especie, y sólo en raras ocasiones, con el complemento de otras especies.

En su relación con los eritrocitos, el amboceptor es específico, esto es, el amboceptor que es capaz, por ejemplo, de sensibilizar glóbulos de carnero, no puede sensibilizar glóbulos de conejo, de perro o de cualquier otro animal. Los amboceptores se nombran con el prefijo "anti" y el nombre de la especie sobre cuyos eritocitos es capaz de actuar. Por ejemplo: Amboceptor "Anti-carnero", para indicar un amboceptor suceptible a sensibilizar los eritrocitos de carnero.

El suero de una especie animal puede hacerse amboceptor para los eritrocitos de otra especie, por la inyección repetida de suspensiones de eritrocitos de la especie deseada, creando en dicho suero el amboceptor específico. A esta operación se le llama inmunización.

Un fenómeno similar se observa cuando en vez de eritrocitos se inyectan suspensiones de bacterias muertas. Se provoca en el suero un amboceptor específico para la bacteria inyectada. Cuan-

do suspensiones de esta bacteria se ponen en contacto con este amboceptor, se disuelven al agregar complemento. A este fenómeno se le llama "bacteriolisis" y al amboceptor, "amboceptor bacteriolítico".

Se sabe que cuando se inyecta en un organismo animal substancias protéicas, se provoca una reacción similar, dando lugar a la formación de substancias específicamente inmunes que se llaman "precipitinas".

Cuando un suero conteniendo precipitinas se pone en contacto con una solución de proteínas de la mismas clase que la empleada para inmunizar al animal, se forma un precipitado; pero si este mismo suero se mezcla con solución de cualquier otra proteína no formará ningún precipitado.

Las substancias: eritrocitos, bacterias o proteínas que se emplean para producir productos de reacción específica, se llaman "antígenos". Los productos de reacción de cualquier clase producidos por el animal, se llaman "anticuerpos" o "reactinas".

La característica más notable de los anticuerpos es su especificidad para los correspondientes antígenos, así: el antígeno "A" es capaz de dar lugar a la formación de anticuerpos "A" y los anticuerpos "A", fuera del organismo' solamente reaccionan con antígeno "A".

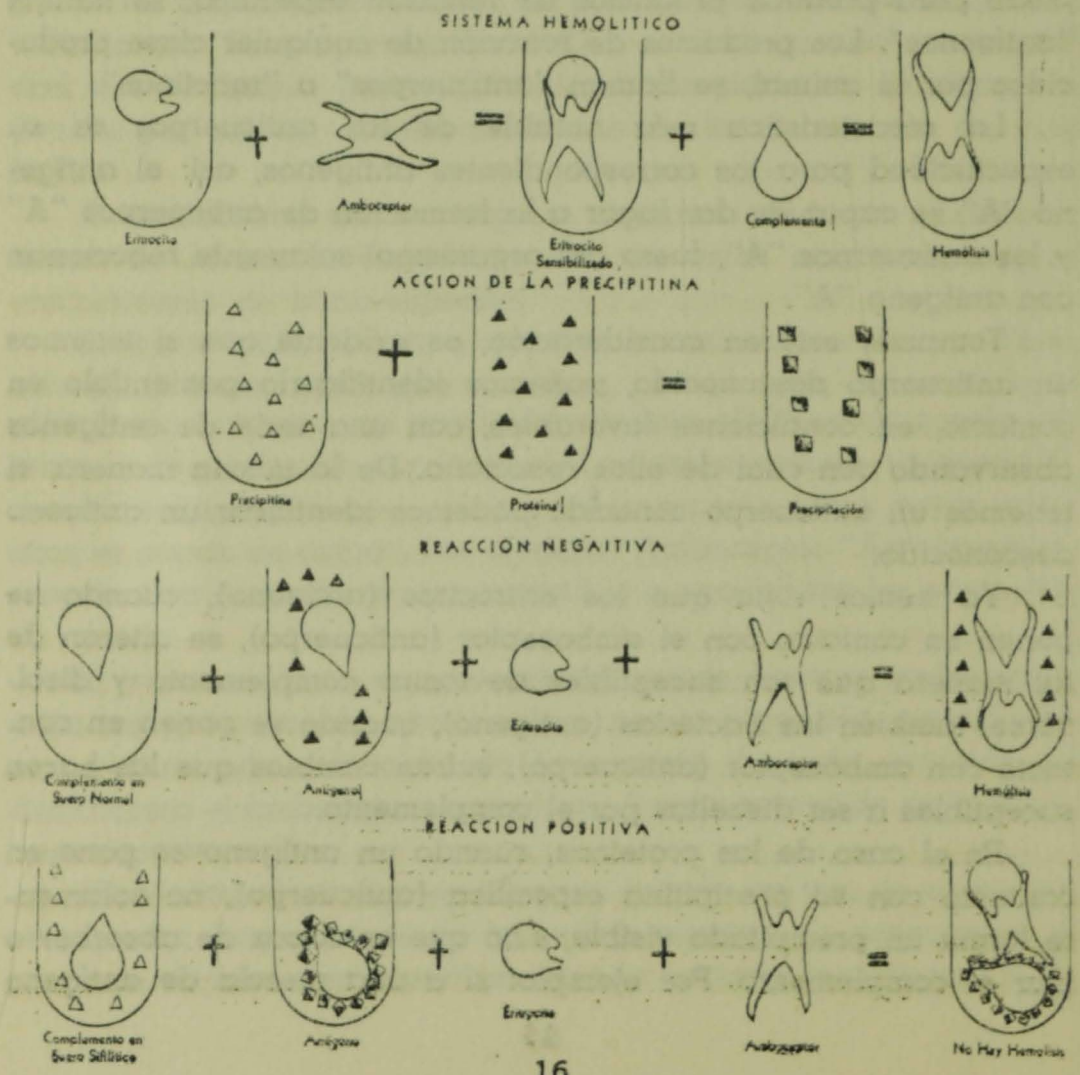
Tomando esto en consideración, es evidente que si tenemos un anticuerpo desconocido, podemos identificarlo poniendolo en contacto, en condiciones favorables, con una serie de antígenos observando con cual de ellos reacciona. De la misma manera, si tenemos un anticuerpo conocido podemos identificar un antígeno desconocido.

Ya hemos visto que los eritrocitos (antígeno), cuando se ponen en contacto con el amboceptor (anticuerpo), se alteran de tal manera que son suceptibles de tomar complemento y disolverse; también las bacterias (antígeno), cuando se ponen en contacto con amboceptor (anticuerpo), sufren cambios que las hacen suceptibles a ser disueltas por el complemento.

En el caso de las proteínas, cuando un antígeno se pone en contacto con su precipitina específica (anticuerpo), no solamente forma un precipitado visible, sino que es capaz de absorber o fijar el complemento. Por ejemplo: si a una mezcla de antígeno

y su precipitina se le agrega somplemento durante el período de reacción y se busca subsecuentemente su presencia por la adición de eritrocitos y su amboceptor hemolítico específico, se encontrará que el complemento ha desaparecido; esto es, no habrá hemólisis, a ese fenómeno de la desaparición del complemento en la mezcla de antígeno y anticuerpo, se le llama "fijación del complemento", o también "desviación del complemento", debido a que el complemento se desviado por la combinación del antígeno y el anticuerpo evitándole de tomar parte en el porceso hemolítico.

Este fenómeno, explicado por las investigaciones de Bordet y Gengou (1898), es conocido por el fenómeno Bordet-Gengou de fijación del complemento. El mecanismo de este fenómeno es explicado gráficamente por el esquema siguiente:



El descubrimiento del fenómeno de la fijación del complemento por Bordet condujo al descubrimiento de que no era necesario el empleo de bacterias para llevar a cabo la prueba, que esta podría hacerse con igual exactitud empleando extractos acuosos de las mismas como antígeno. Esto condujo a Wassermann y Bruck a usar la tuberculina como antígeno en la fijación del complemento en la tuberculosis; y fué entonces cuando concibió la idea de aplicarla al diagnóstico de la sífilis. En esa época Schaudin había descubierto que el agente etiológico de la sífilis era el Treponema pellidum, el que se encontraba en grandes cantidades en los tejidos de distintos órganos y fué de estos órganos de donde Wassermann obtuvo sus extractos para emplearlos como antígenos, pues el treponema no era cultivable en medios artificiales.

Los primeros elementos empleados por Wassermann, trabajando con Neisser y Bruck en su reacción para la sífilis, fué un extracto acuoso de órganos sifilíticos (hígado), como antígeno y sueros sanguineos de monos sifilíticos como amboceptor y como lo esperaba, obtuvo resultados satisfactorios.

Wassermann consideraba su reacción de fijación del complemento de la sífilis como una verdadera reacción antígeno-anticuerpo, la fijación se debía a anticuerpos o amboceptores específicos presentes en la sangre y debidos al treponema agente etiológico de la enfermedad.

Esta concepción de la reacción fué aceptada hasta 1907 en que varios investigadores demostraron que la fijación del complemento ocurría no solamente cuando se usaba como antígeno el extracto de órganos sifilíticos, sino también cuando se empleaban extractos de otros órganos y aun ciertos reactivos químicos.

En 1907, Weygandt obtuvo reacciones positivas en casos de tabes usando antígenos obtenidos de extractos de bazo normal; al mismo tiempo Marie y Levaditi, lograron reacciones positivas empleando extracto acuoso de hígado normal en casos de paresis.

Más tarde, Plaut, Landsteiner y otros, obtuvieron resultados satisfactorios empleando extractos acuosos de distintos órganos tanto humanos como animales.

Posteriormente, Poltz, Muller y Landsteiner, demostraron que

con extractos alcohólicos de corazón de cuy se obtenían buenos resultados en la fijación del complemento en la sífilis. Esta observación pronto fué confirmada por otros investigadores y se obtuvo la certeza de que los extractos alcohólicos de órganos tanto de humanos como de animales, eran tan ricos en substancias fijadoras del complemento como los órganos que contenían el Treponema pallidum.

Noguchi agregó mucho al conocimiento de la materia al demostrar que las substancias que fijaban el complemento en la reacción de Wassermann eran insolubles en acetona, indicando de esta manera, que consistían esencialmente de lipoides, y un análisis posterior demostró que tales antígenos contenían lecitina, colesterol y oleato de sodio.

Browning y Cruickschank descubrieron que agregando ciertas cantidades de colesterol a estos antígenos se aumentaba grandemente su poder antigénico. Esto fué pronto comprobado por otros investigadores, principalmente Walker y Swift. Actualmente, estos antígenos son los generalmente empleados y son perfectamente seguros y más valiosos cuando se controlan debidamente.

El descubrimiento de que los antígenos usados por Wassermann, de órganos sifilíticos, podían ser substituídos por extractos alcohólicos de órganos normales y que ciertos compuestos químicos como el colesterol, aumentaban su poder antigénico en el diagnóstico de la enfermedad, demostraron, fuera de duda, que la reacción de fijación del complemento de Wassermann, para el diagnóstico de la sífilis, no es una reacción antígeno-anticuerpo específica y que no puede considerarse como "ESPECIFICA", desde el punto de vista de la interpretación que la inmunulogía da al término. Aun cuando esto es verdad, la aplicación práctica de la prueba a cientos de miles casos de sífilis ha probado que, con excepción de algunos casos fácilmente reconocibles, la reacción ES ESPECIFICA PARA LA SIFILIS y que, clínicamente, probablemente es más valiosa que si se tratara de un verdadero fenómeno Bordet-Gengou, a juzgar por los resultados obtenidos en la fijación del complemento en otras enfermedades que sí presentan verdaderas reacciones antígeno-anticuerpo.

NATURALEZA DE LA REACCION DE WASSERMANN

NATURALEZA DE LA REACCION DE WASSERMANN

La naturaleza exacta de la reacción de Wassermann, a pesar de la enorme cantidad de trabajos que hasta la fecha se han practicado, aun es desconocida. El hecho de que extractos de tejidos que no contienen el Treponema pallidum sirven tan bien y aún mejor que los antígenos preparados de cultivos del gérmen, prueba que la reacción, en sí, no es una reacción antígeno-anticuerpo. Los experimentos de Noguchi demostrando que los principios antigénicos activos en los extractos de tejidos eran lipoides y sus conclusiones de que la reacción dependía de substancias lipotrópicas encontradas en el suero de los enfermos, pusieron de manifiesto que la causa de la reacción está íntimamente ligada con la química de los lipoides. Esto es, lo que hasta la fecha, podemos considerar que sabemos respecto a la exacta naturaleza del fenómeno; a pesar de las inumerables e interesentes teorías expuestas.

Ninguna de las diferentes teorías expuestas hasta la fecha han sido aceptadas como la verdadera explicación del proceso de la fijación del complemento en la sífilis. Lo más que se puede decir respecto de la reacción es que es debida a la interacción de substancias lipotrópicas que se encuentran presentes en el suero de enfermos de sífilis y los lipoides de los extractos antigénicos.

Una mezcla de extracto lipóidico y suero de un enfermo sifilítico es capaz de absorber una gran cantidad de complemento, de esto se deduce que la substancia o substancias encontradas en dicho suero deben ser de naturaleza lipotrópica.

La presencia de substancias lipotrópicas es más constante en la sangre de los sifilíticos que en los de ninguna otra enfermedad. Las investigaciones han demostrado que estas substancias lipotrópicas son debidas a cambios aun no conocidos, en los tejidos o sueros sanguineos, provocados por la inversión de los tejidos por el Treponema pallidum y que la reacción desaparece con la cura de la infección; por lo tanto, su positividad es una prueba de la existencia de la sífilis, aun cuando no se observen signos clínicos en el paciente.

FACTORES QUE ALTERAN EL RESULTADO DE LA PRUEBA.—La reacción de Wasseramnn es de naturaleza cuantitativa y, a menos que todos los reactivos sean cuidadosamente titulados y exactamente medidos, se observarán resultados erróneos. La cantidad de suero a emplear, su inactivación apropiada, la cantidad de complemento y su orígen, el amboceptor y antígeno usados, son factores inportantísimos que deben tomarse en cuenta como causas suceptibles de alterar los resultados de una reacción. Otros factores, también importantes, que hay que tomar en consideración, son: la técnica seguida y la escrupulosa limpieza de los aparatos usados. Aparte de estos, que son fácilmente controlables por el operador, deben tomarse en consideración, como los más importantes, los siguientes:

INGESTION DE ALCOHOL.—En 1911, Nichols y Craig, del Cuerpo de Sanidad Militar de los Estados Unidos, llamaron la atención sobre los efectos de la ingestión de distintas cantidades de alcohol en los resultados de la reacción de Wasserann. Comprobaron que la ingestión de cerveza o wiskey puede convertir una reacción fuertemente positiva en negativa, si esta se practica dentro de las 24 horas siguientes a la ingestión y que, en algunos casos, la sangre suele continuar negativa tres o cuarto días más, aun cuando por lo general, esta recupera su positividad a las 24 horas.

Por lo anterior se verá que una reacción negativa, es una sangre obtenida después de que el paciente ha ingerido alcohol, carece de valor.

INFLUENCIA DE CIERTAS BACTERIAS.—Es un hecho bien conocido que los sueros, cuando se dejan envejecer durante un tiempo más o menos largo, son capaces de desarrollar ciertas substancias anticomplementarias que provocan la inhibición de la hemólisis en los tubos que contiene el antígeno y los de control. La mayoría de estos cuerpos son destruídos por el calentamiento del suero a 55°-56° durante 30 minutos; pero, en algunos casos, el hecho persiste a pesar del calentamiento, y en estos sueros es imposible la lectura del resultado debido a que la hemólisis es inhibida, tanto en los tubos con antígeno como en los tubos de control.

De estas observaciones, es evidente que estos cuerpos anti-

complementarios son de dos clases: uno termolábil y otro termoestable y que el calentamiento solamente destruye el termolábil.

Aún cuando la naturaleza exacta de estos cuerpos anticomplementarios está aun en duda, Craig ha demostrado que algunos de ellos son producidos por el desarrollo de bacterias en el suero, cuando este se conserva algún tiempo. No solamente algunas bacterias son capaces de producir substancias anticomplementarias que inhiben la hemólisis en los tubos de antígeno y de control; hay ciertas especies que son suceptibles a inhibir la hemólisis en los tubos de antígenos solamente, dando lugar a reacciones no específicas.

Según los experimentos de Craig y Kyntokn, existen bacterias que cuando proliferan en el suero sanguíneo, son capaces de producir substancias anticomplementarias termolábiles y termoestables, de estas, las más comunes son: B. Coli; B. Subtilis; B. Tifico Estafilococo dorado y el Estafilococo blanco.

PRUEBAS DE FLOCULACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA SIFILIS

PRUEBAS DE FLOCULACION EN EL DIAGNOSTICO DE LA SIFILIS

Poco tiempo después del descubrimiento de la reacción de Wassermann, Michaelis (1907), observó que a veces, cuando se agregaba el extracto acuoso al suero sifilítico se formaba un precipitado. Algunos años más tarde, Jacobsthal (1910), así como Bruck y Hidaka, observaron que cuando se mezclaba el extracto alcohólico, tanto de hígado sifilítico como de corazón de cuy, previamente diluído con suero fisiológico, con suero sifilítico, se formaban agregados microscópicos de partículas de lipoides.

Pasaron unos diez años antes de que este fenómeno de precipitación se estudiase lo suficiente para poderlo utilizar con confianza en el diagnóstico de la sífilis. Sin embmargo, de entonces acá y debido proincipalente a los estudios de Sachs-Georgi y de Kahn, numerosas técnicas han surgido, muchas de ellas son consideradas en la actualidad, tan sensibles y específicas, o más, que la reacción de Wassermann.

Numerosos investigadores se han dedicado al estudio del fenómeno (el que debido a su simplicidad de manipulación sensibilidad y especificidad, está llamado a reemplazar las antíguas de Wassermann sus sucesores), y en la actualidad contamos con numerosas técnicas, todas ellas tendientes a simplificar la manipulación y a aumentar su sensibilidad y especificidad.

No se acepta que todas estas reacciones tengan la misma naturaleza: el fenómeno de la combinación de reactina-globulina con las partículas de lipoides, dando por resultado la floculación del compuesto; ni que sea la misma la que determine tanto la fijación del complemento como la precipitación (Eagle), sin embargo, todas las reacciones de precipitación o floculación: Hecht, Sachs-Georgi Meinicke, Kline, Kahn y la mexicana que es objeto de nuestro estudio: la A0.3, estan basadas en el fenómeno estudiado por Michaelis y Jacobsthal, diferenciándose principalmente en los estados físicos de la suspensión de los lipoides, relación cuanti-

tativa de los reactivos y en las manipulaciones necesarias para llevar a cabo la prueba.

NATURALEZA QUIMICA DE LA REACTINA.—Hay en la actualidad suficientes pruebas para asegurar que la substancia activa en los sueros sifilíticos, como todos los anticuerpos en general, es de naturaleza protéica y que los agregados que se forman al adicionar un extracto alcohólico (antígeno) al suero sifilítico, son debidos a la disposición de esta proteína-reactina, formando una capa alrededor de las partículas de lipoides en suspensión en el antígeno.

La reactina siempre está asociada a la fracción **globulina** de la proteína del suero. La fracción **albúmina** del suero sifilítico siempre es Wassermann negativa. Según R. Stern, si se separa toda la globulina de un suero positivo, este se vuelve negativo.

Si se agrega antígeno a un suero sifilítico y se lavan los agregados que se forman, con suero fisiológico, se encontrará que estos han perdido la propiedad de reaccionar con suero sifilítico; pero si en cambio, se calientan estos agregados a 100°, se observará que recuperan su propiedad de combinarse con reactina (Sachs y Sahlmann), lo que indica que el lipoide se encuentra en el precipitado, pero que los grupos reaccionantes en la superficie de las partículas, se encuentran bloqueados por las reactinas adsorbidas antes. La naturaleza protéica de la película de reactina se demuestra por su destrucción a 100°.

Si los agregados lipoide-reactina se inyectan a un cuy, este se sensibilizará a las proteínas de suero humano. Otra demostración de que los agregados contiene proteína (Otto-Winkler).

El antígeno-lipoide, no es antígeno pues no provoca la formación de anticuerpos cuando se inyecta a conejos.

Si los agregados obtenidos por la acción de las reactinas sobre los lipoides del antígeno, se extraen con alcohol, eter o cloroformo, se obtendrá una solución conteniendo los lipoides y quedará un residuo insoluble que dará las reacciones usuales de las porteínas, las que forzosamente deben provenir del suero.

MECANISMO DE LAS PRUEBAS DE FLOCULACION.—La suspensiones coloidales en agua, se clasifican por lo general, como **hidrófilas** e **hidrófobas.** A esta última clase pertenecen las suspensiones que permanecen estables solamente por la fuerza repe-

lente, mutua de las partículas. Tan pronto como este potencial, medido por la velocidad del movimiento en un campo eléctrico, es deprimido más abajo del nivel crítico, como por ejemplo, por la adición de un electrolito, las partículas pueden aproximarse dentro de su radio de atracción y se adhieren unas a otras para formar agregados inestables que sedimentan por aumento de tamaño. La cantidad de electrolito necesaria para flocular un sol, varía con la substancia, su concentración, el tamaño de la partícula, la temperatura a que opera, el pH y la valencia del ión activo.

En un coloide hidrófilo (proteína), sin embargo, la potencia superficial de las partículas es de relativamente menor importancia; pues, aun si es totalmente suprimida por la adición de electrolitos, las partículas permanecen dispersas y la suspensión se conserva estable. Probablemente las fuerzas, bien de hidratación o de polaridad entre las partículas y la fase dispersora (agua), se sobreponen a la fuerza cohesiva de las partículas y estas permanecen dispersas.

Entre estos dos extremos, se encuentran todas las graduaciones posibles, más aun, una misma substancia en dos estados distintos, puede ser hidrófoba e hidrófila. Así, la proteina en solución es el prototipo del coloide hidrófilo; coagulada (por el calor), en una interfase agua-aire (espuma), se vuelve hidrófoba. Más aun, un coloide hidrófobo, como el oro coloidal disperso, puede volverse hidrófila si sus partículas adsorben una substancia hidrófila, como sero-albúmina. La estabilidad de las partículas se determinan solamente por las propiedades de la superficie. Las partículas fácilmente floculables de oro se vuelven tan resistentes a la acción de un electrolito como la proteína. La película de proteína adsorbida por la superficie, se dice que funciona como coloide protector.

A la inversa, si las partículas dispersas de un coloide hidrófilo se cubren con una substancia hidrófoba, las partículas suspendidas se vuelven hidrófobas y fácilmente floculables por el electrolito.

La solución alcohólica de extractos de tejidos, usada como antígeno, libre de grasas, ácidos grasos y jabones, es una mezcla de substancias heterogenas; si la porción insoluble en aceto-

na, pero soluble en alcohol, de tal antígeno, y que es la que contiene los principios activos, se disuelve en alcohol y esta solución se agrega gota a gota y con agitación, a un exceso de agua, se forma una suspensión opalescente y estable de partículas coloidales uniformemente dispersadas, algunas de las cuales pueden verse si se examinan al campo obscuro, las que están cargadas negativamente a un pH. de 2. Estas partículas son relativamente hidrófilas, pues aún después de que se ha casi suprimido su potencia superficial, como por la adición de cloruro de sodio, la suspensión permanece estable. Ciertos electrolitos pueden hacer que las partículas se agreguen, pero solamente a grandes concentraciones.

La concentración exacta de electrolito para coagular un sol, varía con el pH. de la solución, cantidad de lipoide, cantidad de colesterol agregado al antígeno, cantidad de impurezas (grasa, ácidos grasos), y el método empleado para la dilución del antígeno. Por lo general varía entre 0.5 y 2 M. para sales con catión monovalentes (Na Cl) y de 0.01 a 0.04 M. para sales de catión bivalente (Ca Cl2).

La adición de suero normal a una suspensión de lipoides, proteje a estos de la acción coagulante del electrolito. Las partículas, aparentement,e adsorben la proteína del suero y su punto isoeléctrico se desvía de su valor original (aproximadamente pH.2), hacia el de la proteína del suero, dependiendo el grado de desviación, de la concentración del suero. A este nuevo punto isoeléctrico, las partículas se agregan rápidaente y forman flóculos más o menos gruesos y sedimentables.

Hay mucha semejanza entre las propiedades de la superficie de los lipoides cuando se colocan en suero normal, como se explica antes, y las propiedades de los mismos cuando se colocan en suero sifilítico. En ambos casos hay una desviación de la zona isoeléctrica, cataforética y floculante, hacia la de la proteína del suero. Hasta aquí, sin embargo, la semejanza termina. Un suero normal, cuando es adsorbido por las partículas de antígeno, afecta solamente su punto isoeléctrico; su estabilidad no es afectada: las partículas de proteína adsorbidas retienen sus propiedades de hidrosolubilidad al pH. del suero y pueden ser fá-

cilente removidas de las partículas de lipoides por lavados adecuados. En contraste, los compuestos formados por la acción de la reactina sobre los lipoides, floculan a cualquier pH. entre 3 y 9 por la presencia de huellas de un electrolito. La reactina con que la partícula lipoide se combina, no solamente desvía el punto isoeléctrico, como la hace la proteína del suero normal sino que además, aumenta el potencial crítico de 1-5 milivoltios a 10-15 milivoltios. Huellas de electrolito (el catión es el efectivo), son suficientes para disminuir el potencial de la superficie y las partículas se agregan unas a otras para formar flóculos.

La diferencia entre las propiedades de las partículas lipoides en presencia de un suero normal y uno sifilítico pueden sumarizarse en la siguiente tabla formada por Eagle:

	ANTIGENO EN SUERO NORMAL	ANTIGENO EN SUERO SIFILITICO
Zona óptima de floculación.	pH.3-5 depende de la concentración del suero. La película de proteína adsorbida puede removerse casi totalmente por lavados.	pH.3-5 depende de la concentración del suero. La proteína adsorbida no puede ser removida con 3 o 4 lavados.
Composición de las partículas.	No hay proteína analíticamente demostrable en las partículas lavadas.	Las partículas lavadas contienen hasta 6% de proteína, según la cantidad de reactina contenida en el suero.
Concentración de Na Cl requerida para hacer visibles los agregados floculados.	0.5 a 2 N.	0.02 a 0.04 N.
Otras propiedades.	No fija el complemento. Puede combinarse con reactina después de lavado.	Fija el complemento. No puede combinarse con reactina después de lavado, pues los grupos reaccionantes de las partículas de lipoides están ya unidas a reactina.

RELACIONES DE LAS PRUEBAS DE FLOCULACION Y LA REACCION DE WASSERMANN:—Se ha comprobado que la substancia que reacciona en la reacción de Wassermann (fijación del complemento con lipoides tisulares) y que se encuentra en el suero del enfermo, es la misma que ocasiona la floculación en las reacciones de este tipo.

A pesar de las opiniones en lo contrario (Mandelbaum; Gloor y Kingler; Felke, 1921 y Skrop), está definitivamente comprobado que las reactinas de la fijación del complemento y las de la floculacaión, se encuentran en la fracción globulínica del suero.

En toda reacción de Wassermann (no importa la técnica seguida) se presenta el fenómeno de la agregación de las partículas microscópicas de los lipoides del antígeno. Por lo general, no son visibles a la simple vista por que el antígeno es usado a concentraciones demasiado débiles para formar flóculos de un tamaño visibles. (Blumenthal; Chevrel-Bodin; Eagle, 1930).

El hecho de que ciertas condiciones son capaces de inhibir la fijación del complemento sin afectar la floculación (Borowskaja, 1932) no significa que se trata de dos substancias diferentes. La reacción básica en toda prueba serológica para la sífilis es la misma: partículas de lipoides tisulares, usadas como antígeno se combinan con reactina, la que es, probablemente, depositada, como una película incompleta de globulina, alrededor de la partícula de lipoide. La agregación subsecuente de estas partículas, sensibilizadas, por el electrolito y la subsecuente fijación del complemento, debida a la, hasta hoy no explicada, avidez de la película de reactina por el factor hemolítico del suero fresco, son procesos enteramente diferentes.

La fijación del complemento tiene lugar a un pH. de 5 a 8.2 y a una concentración de cloruro de sodio de 0.07 a 0.25 N. Es poco afectada por la agitación y suprimida totalmente por la adición de concentración muy débiles de cationes bivalentes. Por otro lado, la cohesión de las partículas cubiertas por reactina, tiene lugar más rápidamente a pH. 3.5 a 6.0, se acelera enormemente por la agitación, por la acción de los cationes bivalentes y por la elevación de la temperatura a 56°.

ALGUNOS FACTORES QUE AFECTAN LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DEL FENOMENO:—La sensibilidad y especifici-

dad de las reacciones de floculación para el diagnóstico de la sífilis, se dividen en dos grupos: Al primero pertenecen aquellos que afectan las propiedades de la suspensión de los lipoides empleados como antígeno; entre estos está el método de purificación de los tejidos de donde se obtienen los lipoides, el método de extracción, la concentración del alcohol empleado en la extracción, las substancias agregadas al extracto alcohólico como sensibilizadores y su concentración; la concentración, pH., temperatura y cantidad de la solución eelctrolítica empleada como diluyente; el método de mezclar el diluyente con el antígeno, la edad de la suspensión y la temperatura a que se ha conservado.

En un extremo tenemos una suspensión poco sensible que requiere grandes cantidades de reactina y largos períodos de incubación para producir una agregación de partículas visible; en el otro, tenemos suspensiones no específicas que dan floculaciones falsas con sueros normales (en ausencia de reactina). Entre estos dos extremos, tenemos una angosta zona en la que se combinan sensibilidad y especificidad en grado óptimo.

El segundo grupo lo constituyen los factores que afectan la reacción después de que el antígeno se ha combinado con la reactina del suero positivo. Estas incluyen las propiedades del suero, en particular el grado de inactivación; la relación antígeno suero; la duración y velocidad de la agitación; el tiempo y velocidad de la centrifugación; el electrolito y el pH. de la mezcla final.

LA REACCION AO-3

LA REACCION AO-3

El investigador mexicano, Sr. Dr. Alfonso Ortega Iragorri, estudiando las reacciones de floculación en uso, se propuso buscar una modificación a las técnias conocidas, con objeto de facilitar su ejecución y mejorar la lectura de sus resultados ya que muchas de las que en la actualidad son de mayor uso, como la de Kahn, requieren artificios más o menos complicados para efectuar una lectura correcta.

Al presentar el Dr. Ortega su técnica a la profesión, dice: "En el desarrollo de este propósito, llevado a cabo durante casi seis años, varias ideas se pusieron en práctica, algunas observaciones se fueron aprovechando y algunos conocimientos se adquirieron y como resultado de todo ello, creo justificado dar a conocer lo que a mi modo de ver, tiene ya posibilidades precisas de aplicación práctica. Creo que el propósito inicial de estas investigaciones, fué logrado ampliamente, hasta el punto de haberme decidido a dar a conocer mis técnicas, por que considero que habiéndose logrado la clara lectura de los resultados; en el curso de estos estudios se llegó, además, a una simplificación máxima de la técnica y del equipo necesario.

Quiero hacer la advertencia categórica de que las técnicas aquí presentadas son el resultado de **un modo de hacer** personal que se refiere, en parte a la ejecución misma de la reacción y fundamentalmente, al empleo de un antígeno preparado, titulado y estudiado en condiciones especiales y dotado de características que le son propias. Mis reacciones están basadas en hechos inmunológicos, físicos, químicos y fisio-químicos conocidos y por lo tanto, no representan el descubrimiento de un hecho científico nuevo, ni de fenómenos desconocidos hasta la fecha". (Rev. Médica del Hospital General. Méx. Dic. 1942.).

El autor, en el curso de sus invesigaciones, ha hecho tres modificaciones a su antígeno y al "modus operandi": AO.1—AO.2 y AO.3. De esta última nos ocuparemos exclusivamente, ya que es

la que hemos usado en el desarrollo del presente trabajo y es, la que hasta la fecha, representa la manipulación óptima.

EL ANTIGENO:—Está formado por una solución concentrada de lipoides de tejidos de órganos de mamífero (Corazón de buey), insolubles en éter, pero solubles en alcohol etílico concentrado. Esta solución está debidamente reforzada con cantidades variables de colesterol, cuya cantidad se determina en cada lote, previas las titulaciones adecuadas.

A las pruebas de sensibilidad y especificidad que ordinariamente se practican a toda antígeno antes de ser aceptado como tal se agrega la de estabilidad de la mezcla antígeno-diluyente, que debe permanecer inalterable a la temperatura ordinaria del laboratorio, durante un mínimo de 10 días. El alcohol empleado en la preparación del antígeno es de casi 100%; esto es de capital importancia, pues con alcoholes de baja concentración no se puede lograr la estabilidad de los esteroles sensibilizantes y se corre el riesgo de disolver las substancias que causan la granulación en la dilución del antígeno.

LA SOLUCION SALINA DILUYENTE:—El diluyente empleado para el antígeno, en esta prueba, reúne ciertas características especiales. Desde luego, no se trata de simple solución de cloruro de sodio a las diferentes concentraciones que se emplean en otras técnicas. Se trata de una solución de cloruro de sodio en una solución "BUFFER" de tal concentración que su función electrolítica sea la óptima y que mantenga el pH. de la reacción a 6.3.

Esta solución preparada con agua bidestilada y con sales químicamente puras y pesadas previa desecación, está considerada como punto básico importante en esta reacción, ya que está calculada a dar determinada densidad a las mezclas finales, con objeto de que los floculados de las reacciones positivas, aún las más débiles, suban a la superficie en lugar de depositarse en el fondo durante la centrifugación.

PREPARACION DEL ANTIGENO:—Tómense 0.15 c.c. del antígeno y pásese a un pequeño tubo de ensaye (7 x 1 Cmts.); con otra pipeta, mídanse 0.75 de la solución diluyente (esta cantidad puede variar en los distintos lotes de antígeno. La variación viene indicada en la etiqueta.), inyéctese sobre el antígeno, soplando en la pipeta y agítese la mezcla rápidamente durante 30 segundos. Ma-

dúrese el antígeno así preparado, colocando el tubo a baño de maría a 55°—56° durante 20 minutos. El antígeno ya madurado está listo para usarse. No es preciso usar toda la mezcla antigénica en una sola vez; tapando el tubo con un corcho cubierto con papel de estaño y manteniéndolo vertical y al abrigo de la luz, se conservará absolutamente estable, a la temperatura del laboratorio, durante un mínimum de 10 días. Un antígeno madurado por calentamiento, NO debe calentarse nuevamente antes de usarse en pruebas ulteriores.

TECNICA DE LA REACCION PROPIAMENTE DICHA:—Aparatos:

Tubos para hemólisis.
Pipetas de 1 c.c. graduadas en centésimos.
Pipetas de 0.10 ó 0.20 graduadas en milésimos.
Baño de maría con termostato.
Agitador mecánico (es preferible pero no indispensable).
Centrífuga de 3 000 R. P. M.

Nota: Toda la cristalería debe ser rigurosamente limpia, de preferencia sumergida durante 24 horas en mezcla crómica y luego enjuagada perfectamente con agua destilada.

Modus operandi:—El suero separado del coágulo y centrifugado, se calienta a baño maría a 55°—56° durante 30 minutos. Los sueros serán de preferencia frescos; pero pueden usarse sueros envejecidos, los que deberán calentarse precisamente antes de la reacción. Los sueros hemolizados pueden ser estudiados perfectamente con esta reacción.

2.—En un tubo para hemólisis, colóquese, introduciendo la pipeta hasta el fondo, 0.05 c.c. de la mezcla antigénica madurada.

3.—Agréguese 0.20 c.c. del suero previamente calentado.

4.—Mézclese agitando suavemente y déjese reposar durante 10 a 15 minutos.

5.—Llévese al baño de maría a 55°—56° durante 15 minutos.

6.—Agítese en un soporte adecuado, a mano o en agitador mecánico durante tres minutos. La agitación en agitador mecánico no es indispensable, pero es una comodidad.

7.—Centrifúguese a 2 800 a 3 000 R. P. M. durante 5 minutos.

8.—Agréguese 2 c.c. de agua destilada o suero fisiológico y léase el resultado.

Las lecturas se pueden hacer ante una ventana o usando luz artificial y observando el tubo inclinado sobre un fondo negro. Yo usé, con magníficos resultados, la lámpara del microscopio haciendo la lectura de arriba a abajo sobre fondo negro de la mesa de trabajo.

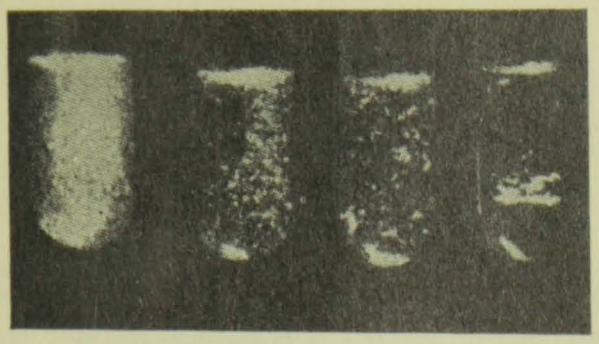
INTERPRETACION DE LA LECTURA:—Los tubos cuyo contenido es homogéneo, lechoso y que al agitarse suavemente producen ondas "sedosas", se consideran NEGATIVAS.

Tubos con grumos más o menos grandes, a veces un solo grumo grande, aplanado y de color blanco, y el líquido transparente, se leerá: POSITIVA.

En las reacciones negativas, la dispersión de los granos de antígeno es completa, la más ligera agitación del líquido refracta la luz produciendo el aspecto de la seda al agitarse. En las reacciones positivas, los gránulos formados persisten a pesar de la agitación que se le dé al tubo.

Para la anotación de los resultados puede emplearse la terminología convencional usada por casi todo el mundo: NEGATIVA, POSITIVA DEBIL, POSITIVA FUERTE o DUDOSA, según el tamaño y visibilidad de los grumos. Yo me inclino por la designación simple de: NEGATIVA, DUDOSA o POSITIVA.

LA REACCION AO-3



De izquierda a derecha

Negativa.
Positiva débil.
Positiva mediana
Positiva intensa.

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REACCION AO-3, WASSERMANN, KAHN Y LAUGHLEN

ESTUDIO COMPARATIVO DE LA REACCION AO-3, WASSERMANN, KAHN Y LAUGHLEN

Con objeto de comprobar la sensibilidad y especificidad de la Reacción AO-3, se examinaron 146 sueros de individuos CLINICA Y SEROLOGICAMENTE sifilíticos, los que me fueron proporcionados en el Hospital General y en el Sanatorio del Instituto del Seguro Social, practicándose simultáneamente la Reacción de Wassermann, la de Kahn y la de Laughlen.

Para la reacción de Wassermann se siguió la técnica Colmette-Massol, utilizando antígeno del Instituto de Higiene de la Secretaría de Salubridad y Asistencia Pública; para la reacción de Kahn se siguió la técnica Standard, utilizando antígeno preparado por el Departamento de Salubridad del Estado de Michigan, EE. UU.; para la reacción de Laughlen se siguió la técnica Standard del autor, con suero no calentado y empleándose el antígeno preparado por la casa Lederle de New York. El antígeno para la reacción AO-3, fué adquirido del Laboratorio del Sr. Dr. Alfonso Ortega, autor de la reacción.

También se examinaron 161 sueros de individuos NO diagnosticados, muchos de ellos gozando, aparentemente, de perfecta salud. Se hicieron las mismas pruebas y se siguieron las mismas técnicas que las seguidas para sueros sifilíticos.

Según se desprende de las tablas que se insertan más abajo, los resultados obtenidos fueron los siguientes:

CON SUEROS SIFILITICOS:

Wassermann: 140 Positivos; 4 Negativos; 2 Dudosos; Total 146.
Kahn: 136 Positivos; 6 Negativos; 4 Dudosos; Total 146.
Laughlen: 135 Positivos; 11 Negativos; 0 Dudosos; Total 146.
AO-3: 139 Positivos; 7 Negativos; 0 Dudosos; Total 146.

CON SUEROS NO DIAGNOSTICADOS

Wassermann: 106 Negativos; 52 Positivos; 3 Dudosos; Total 161.
Kahn: 108 Negativos; 48 Positivos; 5 Dudosos; Total 161.
Laughlen: 98 Negativos; 63 Positivos; 0 Dudosos: Total 161.
AO-3: 105 NEGATIVOS; 56 Positivos; 0 Dudosos; Total 161.

REACCIONES PRACTICADAS EN SUEROS DE INDIVIDUOS CLINICAMENTE SIFILITICOS

REACCIONES PRACTICADAS EN SUEROS DE INDIVIDUOS CLINICAMENTE SIFILITICOS

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
1	Dic. 21	A. B.	+	+	+	+
2	" 21	B. C.	+	+	+	+
3	" 21	R. V.	+	+	+	+
4	" 21	E. R.	+	+	+	+
5	" 23	M. A.	+	—	+	+
6	" 23	A. B.	+	+	+	+
7	" 23	A. CH.	+	+	+	+
8	" 23	F. B.	+	+	+	+
9	" 28	C. V.	±	+	+	+
10	" 28	H. Z.	+	+	+	+
11	Ene. 3	S. I.	+	+	+	+
12	" 4	A. M. O.	+	+	+	+
13	" 4	E. M.	+	+	+	+
14	" 4	C. L.	+	+	+	+
15	" 5	A. H.	+	+	—	+
16	" 5	O. A.	+	+	+	+
17	" 5	E. D.	+	+	+	+
18	" 9	A. R.	+	+	+	—
19	" 9	F. L.	+	+	+	+
20	" 10	M. G.	+	+	+	+
21	" 10	A. C.	+	+	+	+
22	" 11	O. R.	+	+	+	+
23	" 11	B. N.	+	+	+	+
24	" 11	R. P.	+	—	+	+
25	" 12	E. S.	+	—	+	+
26	" 12	M. M.	+	+	+	+
27	" 12	G. G.	+	+	—	+
28	" 12	F. V.	+	+	+	+
29	" 12	S. J.	+	+	+	+
30	" 12	S. C.	+	+	+	+
31	" 12	I. C.	+	+	+	+
32	" 12	M. C.	+	+	+	—
33	" 12	P. S.	+	+	+	+
34	" 15	G. C.	+	+	+	+
35	" 15	W. N.	+	+	+	+
36	" 15	A. B.	+	+	+	+

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
37	„ 15	S. C.	+	±	+	+
38	„ 15	B. T.	+	+	+	+
39	„ 15	A. T.	+	+	+	+
40	„ 16	H. O.	+	+	+	+
41	„ 17	S. L.	+	+	+	+
42	„ 17	P. Q.	+	+	+	+
43	„ 17	F. M.	+	+	—	+
44	„ 17	S. C.	+	+	+	+
45	„ 17	V. R.	+	+	+	+
46	„ 17	C. M.	+	+	+	+
47	„ 19	E. F.	—	+	+	+
48	„ 19	A. T.	+	+	+	+
49	„ 22	P. R.	+	+	+	+
50	„ 22	R. E.	+	+	+	+
51	„ 22	E. F.	+	+	+	+
52	„ 22	O. R.	+	+	—	+
53	„ 22	B. N.	+	+	+	+
54	„ 22	M. Z.	+	+	+	+
55	„ 22	S. O.	+	+	+	+
56	„ 22	G. A.	+	+	+	+
57	„ 23	U. A.	+	+	+	—
58	„ 23	G. L.	+	+	+	+
59	„ 23	E. V.	+	+	+	+
60	„ 23	R. R.	+	+	+	+
61	„ 23	M. L.	+	—	+	—
62	„ 23	G. H.	+	+	+	+
63	„ 23	R. N.	+	+	+	+
64	„ 23	B. H.	+	+	+	+
65	„ 24	L. N.	+	+	+	+
66	„ 24	C. P.	+	+	+	+
67	„ 24	S. P.	+	+	+	+
68	„ 24	S. G.	+	+	—	+
69	„ 24	E. L.	+	+	+	+
70	„ 25	E. B.	+	+	+	+
71	„ 25	G. R.	+	+	+	+
72	„ 26	C. R.	+	—	+	+
73	„ 26	F. G.	+	+	+	+
74	„ 26	J. O.	+	+	+	+
75	„ 26	A. F.	+	+	+	+
76	„ 26	M. M.	+	+	—	+
77	„ 26	J. N.	+	+	+	+
78	„ 29	S. R.	±	+	+	+
79	„ 29	V. M.	+	+	+	+
80	„ 29	M. P.	+	+	+	—

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
81	„ 29	C. M.	+	+	+	+
82	„ 29	C. G.	+	+	+	+
83	„ 30	J. O.	+	+	+	+
84	„ 30	N. S.	+	+	+	+
85	„ 30	J. V.	+	+	+	+
86	„ 30	I. H.	+	+	—	+
87	„ 30	I. A.	+	+	+	+
89	„ 31	R. A.	+	+	+	+
88	„ 31	P. G.	+	—	+	+
90	„ 31	D. B.	+	+	+	+
91	„ 31	C. N.	+	+	+	+
92	„ 31	L. C.	+	+	+	+
93	„ 31	C. S.	+	+	+	+
94	Feb. 2	M. A.	+	+	+	+
95	„ 2	C. H.	+	+	+	+
96	„ 2	C. Q.	+	+	+	+
97	„ 2	I. M.	—	+	+	+
98	„ 2	N. R.	+	+	+	+
99	„ 2	G. S.	+	+	—	+
100	„ 2	I. A.	+	+	+	+
101	„ 2	A. R.	+	+	+	+
102	„ 2	S. N.	+	+	+	+
103	„ 2	V. M.	+	+	—	+
104	„ 7	J. R.	+	+	+	+
105	„ 7	L. R.	+	+	+	+
106	„ 7	J. V.	+	+	+	+
107	„ 7	A. N.	+	+	+	+
108	„ 7	L. M.	+	+	+	+
109	„ 7	J. P.	+	+	+	+
110	„ 7	V. V.	+	+	+	+
111	„ 7	G. T.	+	+	+	+
112	„ 7	O. H.	+	±	+	+
113	„ 7	V. G.	+	+	+	+
114	„ 7	M. C.	+	+	+	+
115	„ 7	J. U.	+	+	+	+
116	„ 7	R. R.	+	+	+	+
117	„ 7	P. R.	+	+	+	+
118	„ 12	L. F.	+	+	+	+
119	„ 12	M. M.	+	+	+	—
120	„ 12	M. A.	+	+	+	+
121	„ 12	M. G.	+	+	+	+
122	„ 12	M. J.	+	+	+	+
123	„ 12	A. T.	+	+	+	+
124	„ 12	E. C.	+	+	+	+

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
125	„ 13	F. A.	+	+	—	+
126	„ 13	I. H.	+	+	+	+
127	„ 13	A. C.	+	+	+	+
128	„ 13	J. V.	+	+	+	+
129	„ 13	T. V.	+	+	+	+
130	„ 14	A. A.	—	±	+	+
131	„ 14	J. C.	—	+	+	+
132	„ 16	L. S.	+	+	+	+
133	„ 16	J. R.	+	+	+	+
134	„ 16	V. G.	+	+	+	+
135	„ 16	A. C.	+	+	+	—
136	„ 16	R. G.	+	+	+	+
137	„ 16	H. M.	+	+	—	+
138	„ 16	M. G.	+	+	+	+
139	„ 16	J. B.	+	+	+	+
140	„ 16	L. M.	+	+	+	+
141	„ 16	M. G.	+	±	+	+
142	„ 16	A. S.	+	+	+	+
143	„ 16	M. S.	+	+	+	+
144	„ 16	R. V.	+	+	+	+
145	„ 16	A. R.	+	+	+	+
146	„ 16	J. P.	+	+	+	+

REACCIONES PRACTICADAS EN SUEROS DE INDIVIDUOS NO DIAGNOSTICADOS

REACCIONES PRACTICADAS EN SUEROS DE INDIVIDUOS NO DIAGNOSTICADOS

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
1	Dic. 18	A. B.	+	+	+	+
2	" 18	E. P.	+	+	+	+
3	" 18	P. O.	—	—	+	—
4	" 19	S. T.	—	—	—	—
5	" 19	S. H.	—	—	—	—
6	" 20	M. M.	+	+	+	—
7	" 20	A. S.	+	+	+	+
8	" 20	M. G.	+	+	—	+
9	" 20	A. G.	+	+	+	+
10	" 23	N. N.	+	+	+	+
11	" 23	I. N.	+	+	+	+
12	" 26	M. S.	—	—	—	—
13	" 26	M. D.	+	+	+	+
14	" 27	L. A.	+	+	+	+
15	" 28	Z. G.	+	+	—	+
16	Ene. 2	L. C.	+	+	+	+
17	" 2	A. L.	—	—	—	—
18	" 3	N. I.	+	+	+	+
19	" 4	J. M.	—	—	+	—
20	" 4	A. H.	+	+	+	+
21	" 4	C. U.	+	+	+	+
22	" 4	G. M.	+	+	+	—
23	" 4	E. R.	+	+	+	+
24	" 5	N. M.	+	+	+	+
25	" 8	J. P.	+	+	+	—
26	" 8	F. C.	+	+	+	+
27	" 8	A. P.	+	+	+	+
28	" 8	G. P.	+	+	+	+
29	" 8	B. C.	—	—	—	—
30	" 8	E. P.	—	—	—	—
31	" 8	L. S.	+	—	—	—
32	" 9	F. L.	—	—	—	—
33	" 9	J. S.	+	+	+	—
34	" 9	T. P.	—	—	—	—
35	" 9	M. H.	—	—	—	—
36	" 9	N. D.	—	—	—	—

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
37	„ 9	L. V.	—	—	—	—
38	„ 10	G. R.	+	+	+	+
39	„ 10	A. T.	+	+	+	+
40	„ 10	G. D.	+	+	+	+
41	„ 10	J. L.	—	—	—	—
42	„ 10	E. M.	—	—	—	—
43	„ 10	A. O.	+	+	+	+
44	„ 11	F. B.	+	+	+	+
45	„ 12	G. P.	—	—	+	—
46	„ 12	F. M.	—	—	—	—
47	„ 12	O. R.	—	—	—	—
48	„ 12	J. R.	—	—	—	—
49	„ 12	M. P.	—	—	—	—
50	„ 13	S. T.	+	±	+	+
51	„ 15	S. N.	—	—	—	—
52	„ 15	G. G.	—	—	—	—
53	„ 15	R. T.	—	—	—	—
54	„ 15	O. C.	—	—	—	—
55	„ 16	S. M.	—	—	—	—
56	„ 16	A. O.	—	—	+	—
57	„ 16	B. O.	—	—	+	—
58	„ 16	H. G.	—	—	—	—
59	„ 16	B. Y.	—	—	—	+
60	„ 16	N. J.	—	—	—	—
61	„ 16	A. N.	—	—	—	—
62	„ 17	R. H.	—	—	—	—
63	„ 17	H. R.	—	—	—	—
64	„ 17	L. P.	—	—	—	—
65	„ 17	M. C.	+	+	+	+
66	„ 17	I. R.	—	—	—	—
67	„ 17	A. A.	—	—	—	—
68	„ 18	M. M.	—	—	—	—
69	„ 18	R. B.	—	—	—	—
70	„ 18	A. R.	—	—	—	+
71	„ 18	R. E.	—	—	—	—
72	„ 18	J. H.	—	—	—	—
73	„ 18	E. A.	—	—	+	—
74	„ 18	R. J.	—	—	—	—
75	„ 18	C. A.	—	—	—	—
76	„ 18	P. H.	+	+	+	+
77	„ 18	M. N.	—	—	—	—
78	„ 18	C. C.	+	±	+	+
79	„ 18	G. R.	+	+	+	+
80	„ 19	R. J.	—	—	—	—

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
81	" 19	B. G.	+	+	+	+
82	" 19	L. S.	—	—	—	—
83	" 19	V. O.	—	—	—	—
84	" 19	E. R.	+	+	+	+
85	" 19	J. A.	+	+	+	+
86	" 20	R. M.	—	—	—	—
87	" 20	L. V.	—	+	+	+
88	" 22	M. F.	—	—	—	—
89	" 22	A. G.	—	—	—	—
90	" 22	R. O.	—	—	—	—
91	" 22	P. R.	—	—	—	—
92	" 22	C. S.	—	—	—	—
93	" 23	E. P.	—	—	—	+
94	" 23	S. L.	—	—	—	—
95	" 24	J. E.	—	—	—	—
96	" 24	R. C.	—	—	—	—
97	" 25	J. O.	—	—	—	+
98	" 25	P. P.	—	—	—	—
99	" 26	G. C.	—	—	—	—
100	" 26	M. D.	+	±	+	+
101	" 26	C. P.	+	+	+	+
102	" 29	T. O.	±	±	—	+
103	" 29	R. I.	—	—	+	—
104	" 29	M. C.	—	—	—	—
105	" 29	S. H.	—	—	—	—
106	" 29	J. R.	+	+	+	+
107	" 30	A. C.	+	—	+	+
108	" 31	J. L.	+	+	+	+
109	" 31	S. L.	—	—	—	—
110	" 31	M. V.	—	—	—	—
111	Feb. 1	C. R.	—	—	—	—
112	" 1	M. A.	—	—	—	—
113	" 2	P. P.	—	—	—	—
114	" 2	C. T.	—	—	—	—
115	" 2	J. P.	+	+	+	+
116	" 2	D. P.	—	—	+	—
117	" 4	A. R.	+	+	+	+
118	" 4	S. C.	+	+	+	+
119	" 7	S. S.	—	—	—	—
120	" 7	G. S.	—	—	—	—
121	" 7	J. P.	—	—	—	—
122	" 7	I. S.	+	—	—	—
123	" 7	P. S.	—	—	—	—
124	" 7	M. R.	—	—	—	—

NUM.	FECHA	NOMBRE	W.	K.	L.	AO3.
125	" 7	R. V.	−	−	+	−
126	" 8	E. S.	+	+	+	+
127	" 8	R. U.	−	−	−	−
128	" 8	A. A.	+	+	+	+
129	" 8	L. B.	−	−	−	−
130	" 8	I. C.	+	+	+	+
131	" 8	F. Z.	−	−	−	−
132	" 9	F. L.	−	−	−	−
133	" 9	J. G.	−	−	−	−
134	" 9	J. R.	−	−	−	−
135	" 9	A. C.	−	−	−	−
136	" 9	A. J.	+	+	+	+
137	" 11	E. T.	−	−	−	−
138	" 11	G. J.	−	−	−	−
139	" 11	P. L.	−	−	−	−
140	" 11	E. M.	−	−	−	−
141	" 12	T. I.	−	−	−	+
142	" 12	A. T.	−	−	−	−
143	" 12	C. P.	−	−	−	−
144	" 12	T. T.	±	±	+	+
145	" 12	B. F.	+	+	+	+
146	" 12	M. G.	±	+	+	+
147	" 13	S. V.	−	−	−	−
148	" 13	C. F.	−	−	−	−
149	" 13	S. R.	+	+	+	+
150	" 13	T. A.	−	−	−	−
151	" 13	J. A. P.	−	−	+	−
152	" 14	C. S.	−	−	−	−
153	" 14	E. S.	−	−	−	−
154	" 14	M. R.	−	−	−	+
155	" 14	J. L.	−	−	−	−
156	" 14	M. M.	−	−	+	−
157	" 14	S. M.	−	−	−	−
158	" 15	L. R.	−	−	−	−
159	" 15	G. S.	−	−	−	−
160	" 15	V. L.	−	−	−	−
161	" 16	L. U.	−	−	−	−

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

I.—La Reacción AO-3 para el Serodiagnóstico de la sífilis, es Específica y su sensibilidad puede ser comparada con la de las reacciones de floculación conocidas y aceptadas hasta la fecha.

II.—Su lectura es fácil, no requiere aparatos especiales ni artificio alguno para hacerla correctamente.

III.—Es económica, su técnica sencilla y no requiere ningún aparataje fuera del que pueda encontrarse en el laboratorio más modesto.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1.—Craig, C. F., The Wassermann Test.

2.—Noguchi, Hideyo, Laboratory Diagnosis of Syphilis.

3.—Ortega Iragorri, Alfonso, Revista del Hospital General, México Dic. de 1942.

4.—Eagle, Harry, Laboratory Diagnosis of Syphilis.

5.—Komer and Boerner, Approved Laboratory Technic.

5.—Kolmer and Boerner, Approved Laboratory Technic.

6.—Tcpley and Wilson, Principles of Bacteriology an Inmunity.

7.—Mc Farland, Joseph, Pathogenic Bacteria and Protozoa.