

Dispensario Antivenereo del Hosp. Español  
Jefe: Doctor ISIDORO GALVEZ

Laboratorio Central  
Jefe: Dr. ANTONIO PODESTA

Por los Doctores  
ISIDORO GALVEZ y  
R. O. TETTAMANTI

## LA GONORREACCION DE MÜLLER-OPPENHEIM

### III. SU TÉCNICA.

HEMOS comentado anteriormente, con cuanta dificultad y cuanta lentitud, la gonorreacción, nacida simultáneamente con la reacción de Bordet Wassermann, ha comenzado a imponerse en la clínica y en el tratamiento de la blenorragia, mientras la otra reacción, se hacía rápidamente un medio precioso en el estudio de la lúes. Dijimos también, que la dificultad mayor estribaba en la standardización del antígeno a emplear, y en las dificultades de su obtención y conservación, de manera de poder uniformar los resultados para obtener conclusiones categóricas sobre el valor de la reacción y su utilización en la práctica.

Al revisar la bibliografía de la reacción de fijación del complemento con antígeno gonocócico, en la parte de técnica de ella, hemos encontrado una anarquía completa. Técnicas complicadas a realizarse con un número alto de tubos, como resultado de la institución de una amplia progresividad de dosis de antígeno, o de la utilización simultánea de distintas diluciones del mismo, o de distintos antígenos a la vez. Otras veces, el elemento utilizado en dosis progresivas, era el complemento y a veces, el propio suero del enfermo. Hemos hallado técnicas que implicaban una doble reacción al utilizar, al mismo tiempo, suero fresco y suero inactivado. Los re-

sultados a que se llegaba con estos métodos, estaban lejos de ser, desde el punto de vista técnico, decididamente aceptables, bien por sus porcentajes amplios de resultados dudosos, o discordantes con la clínica.

Hemos tenido en cuenta, antes de decidírnos por una técnica de la reacción, un factor al que le concedemos capital importancia: las posibles conclusiones a obtener, acerca del valor diagnóstico y pronóstico de la reacción estudiada, debe ser el fruto de un elevado número de casos estudiados con un control riguroso de la parte serológica, con la clínica y la serológica. Por tal causa, nuestra preocupación desde el primer momento fué establecer una técnica que uniese, a la especificidad indispensable y suficiente sensibilidad, la máxima simplicidad.

La técnica que utilizamos para la reacción de Wassermann, reune en nuestro concepto estas condiciones y nos ha parecido lógico, fundándose ambas reacciones, la de Wassermann y la de Müller-Oppenheim, en el mismo fenómeno biológico, el de la fijación del complemento de Bordet y Gengou, tratar de adaptarla, previo estudio del factor antígeno, a nuestro propósito. (Tettamanti).

Esta técnica de la Wassermann, no podemos decir que sea la de determinado autor: tiene las características principales del primitivo método de Wassermann; es de los denominados "dosis mínimas", a "suero inactivado", que por la adopción de la progresividad en las dosis de antígeno, se asemeja a las técnicas de Sormani, Leredde, Rubinstein y otros. Es el resultado de las sucesivas modificaciones de orden personal, introducidas en el curso de muchos años de ejecución y aconsejadas por la misma experiencia en procura de la mayor especificidad, sensibilidad y simplicidad, ya anotadas.

Como en todo procedimiento de fijación del complemento, en la gonorreacción, intervienen los siguientes elementos, cuyas características y formas de uso, detallamos:

1º *Suero del enfermo.* — Separado de la sangre espontáneamente coagulada y centrifugada de inmediato a su coagulación a fin de evitar la presencia en el mismo de elementos provenientes de la redisolución del coágulo, que pueden traer dificultades de orden técnico en la lectura de los resultados finales, incluso la capacidad anti-complementaria del suero por sí mismo. Lo utilizamos inactivado en

la forma corriente por calentamiento a baño maría a 56° durante 30 minutos.

2° *Complemento*. — Lo obtenemos de la sangre del cobayo que punzamos para cada caso (punción cardíaca) en número de 3 a fin de equilibrar la diferencia de poder hemolítico que individualmente puedan presentar, y cuyos sueros mezclamos, después de haberlos separado del coágulo en forma aséptica.

3° *Sistema hemolítico*. — No hacemos la adición del suero hemolítico y de la emulsión de glóbulos de oveja por separado, como hacen muchos autores, sino que, con ambos elementos, formamos antes, nuestro "sistema hemolítico" que añadimos de una sola vez. Para ello mezclamos en partes iguales dilución de suero hemolítico según título, y dilución de hamtíes de oveja al 5 %. Estos últimos, los usamos previo lavado repetido en solución fisiológica de los glóbulos separados de la sangre desfibrinada, a fin de quitarle todo resto de plasma.

4° *Solución fisiológica*. — La utilizamos estéril, en concentración de 9.5 grs. de cloruro de sodio por 1000 de agua destilada.

5° *Antígeno*. — Como dijéramos en un capítulo anterior de nuestro trabajo, en este elemento hemos hallado, tal como todos los que se han ocupado de la cuestión, la máxima dificultad. Como ellos, hemos ensayado las emulsiones microbianas de distintas cepas de gonococos muertos por el calor o por vapores de éter a 42" o bien de gonococos vivos y aún de sus extractos alcohólicos simples o colesterolizados, con resultados insuficientes. La dificultad de obtener por tal vía un antígeno más o menos standardizado, de condiciones uniformes en cada stock, a fin de unificar el significado de los resultados hallados, nos obligó a desecharlos.

El ensayo de la vacuna antigonocócica del Instituto Pasteur de París utilizado también por otros autores, nos permitió obtener el antígeno deseado.

Su uso en forma concentrada (pura) debimos desecharlo de inmediato al iniciar nuestros ensayos de titulación, ya que nos ha resultado en tal forma anticomplementaria y extraespecífico, que cualquier suero de sujeto enfermo o sano, veía impedida la hemólisis por la sola presencia del antígeno.

Proseguimos nuestros ensayos de titulación, usando la vacuna mencionada en dilución de 1x2, 1x5, 1x8, 1x10, 1x20 y 1x50 y en la dosis máxima aadptable al sistema que nos servía de base. Estas distintas diluciones en las dosis indicadas, fueron puestas en presencia de sueros de sujetos indemnes de infección gonocócica y de sujetos enfermos en los que presumíamos un franco estado serológico de inmunidad, y con ellos buscamos cuál era la máxima concentración capaz de dar hemólisis franca (resultado negativo) con los sueros de los primeros, y cuál era la máxima dilución capaz de fijar el complemento, impidiendo la hemólisis (resultado positivo) con los sueros de los segundos.

Hemos hallado, que con la dosis utilizadas, concentraciones de 1x8, ya eran incapaces de fijar el complemento en ausencia de anticuerpos específicos (sujetos sanos), y diluciones de 1x30 ya eran suficientes para detener la hemólisis en presencia de anticuerpos específicos.

Este margen de poder antigónico de la vacuna, debemos destacar, que ofrece variaciones según las remesas de las mismas, variaciones por otra parte pequeñas, y que nosotros obviamos procediendo en la siguiente forma: cada caja de vacuna, previa agitación vigorosa de cada ampolla, es objeto de un envase conjunto y titulación del producto final de la mezcla, el cual, guardado en la heladera, nos ha ofrecido inalterabilidad de su título antigénico, por espacio de tres meses por lo menos, tiempo transcurrido el cual, la variación de este título es mínima. El control semanal del título hallado, ofrece la máxima garantía de trabajar siempre en óptimas condiciones.

Ahora bien, determinadas la máxima y mínima concentración útil 1x8 y 1x30 del caso mencionado, utilizamos la concentración media (1x15), con lo cual sabemos que estamos a salvo de un resultado, técnicamente falso, dado que la doble concentración 1x8 de nuestra máxima dosis, es todavía incapaz de impedir la hemólisis en ausencia de anticuerpos, y la doble dilución de la misma, 1x30, es aún capaz, por el contrario, de fijar el complemento en presencia de anticuerpos.

En posesión de los elementos indispensables, procedemos como medida previa cada vez que ejecutamos la reacción, a la titu-

lación del complemento, la cual practicamos de acuerdo al siguiente esquema:

	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8	T9	T10	T11	T12
Complemento 1x40	005	010	015	020	025	030	035	040	045	050	055	000
Suero normal	010	010	010	010	010	010	010	010	010	010	010	010
Solución fisiológica	055	050	045	040	035	030	025	020	015	010	005	060
Sist. hemolítico	050	050	050	050	050	050	050	050	050	050	050	050
Antígeno	030	030	030	030	030	030	030	030	030	030	030	030

Como vemos, la titulación del complemento, la efectuamos en presencia de una décima de suero normal inactivado, y de la dosis mayor de antígeno, a fin de homologar en el lugar máximo posible el medio en que se determina el título del complemento, al de la reacción final. La presencia del antígeno es importante. La dosis a utilizar, varía, si bien es cierto que en pequeña escala según se efectúe la titulación en presencia o en ausencia de él.

Transcurrido el tiempo de 30 minutos necesario para la incubación, se practica la lectura del resultado, anotando cuál es la menor cantidad de complemento capaz de producir la hemólisis total (mínima activa). Debe utilizarse el doble de esta cantidad, lo cual en nuestra técnica (a fin de encuadrarla, dentro de las características de las dosis mínimas), sustituimos por el uso de igual cantidad, pero a doble concentración (1x20 en lugar de 1x40).

Disponemos la reacción final, de acuerdo al siguiente cuadro:

	T1	T2	T3	
Suero del enfermo	0.10	0.10	0.10	
Antígeno	0.15	0.30	0.00	
Complemento	DH	DH	DH	(Dosis hemolítica)
Sol. fisiológica	CV	CV	CV	(completar volumen)
	Incubación de 30' a 37°			
Sistema hemolítico	0.50	0.50	0.50	
	Incubación de 30' a 37°			

*Lectura del resultado.* — Como vemos, utilizamos sólo tres tubos. Con dosis iguales (0.10) de suero puro en cada uno, llevando los tres igual cantidad de complemento (en doble concentración que la mínima activa) y estableciendo la progresividad de dosis en el elemento antígeno: 0.15 en el primer tubo y 0.30 en

el segundo. El tercero, no lleva antígeno, teniendo ello por objeto establecer el control de los sueros capaces por sí mismos de impedir la hemólisis por causa extraespecífica (sueros anticomplementarios). Experimentamos simultáneamente en cada caso, un suero control positivo, y otro control negativo con el objeto de ver el comportamiento de los elementos en uso. Igualado el volumen en los tres tubos, y suponiendo que el complemento no usemos por su titulación en dosis de 0.20 c.c., el volumen total no pasaría de 1.10 c.c. con sistema hemolítico.

Los resultados que obtenemos, son claros; desde el punto de vista técnico, son categóricos. Los expresamos con los siguientes grados de intensidad:

*Positivos intensos* (++++). Detenciones totales de la hemólisis en el primero y segundo tubo; tercer tubo francamente hemolizado.

*Positivo franco* (+++). Detenciones de la hemólisis intensa pero no total en el primer y segundo tubo; tercero; siempre hemolizado.

*Positivos* (++) . Detención parcial de la hemólisis en igual grado en el primero y segundo tubos; tercero hemolizado.

*Positivos débiles* (+). Detención de la hemólisis en menor grado que la anterior, generalmente con ligera diferencia entre el primero y segundo tubo; el tercero totalmente hemolizado. En estos resultados débiles positivos, la diferencia de grado de detención de la hemólisis entre el primero y segundo tubo, puede llegar a hacer desaparecer dicha detención en el segundo tubo, pero en estos casos, conviene no tomar en cuenta la anotación del resultado de débil positiva, sino repetir la reacción, puesto que el mismo efecto, podría ser el resultado de un pequeño error de técnica, siempre posible por adición inexacta de antígeno, complemento o sistema hemolítico.

*Negativos* (-). Hemólisis total en los tres tubos.