

LAS REACCIONES SEROLOGICAS EN LA LEPROA. SU ESTADO ACTUAL (*)

Publicado en la *Revista Argentina de Dermatosisifilología*, Tomo XVIII, 2a. Parte, Año 1934.

Después que Wassermann, Neisser y Bruck, comunicaron la aplicación de la reacción de Bordet y Gengou para el diagnóstico de la sífilis, diversos investigadores trataron de aplicar los mismos principios al diagnóstico de las distintas enfermedades infecciosas.

Eitner, parece fué el primero en aplicar la técnica de fijación del complemento al diagnóstico de la lepra. En 1906 publicó su primera observación sobre un sujeto leproso de origen brasileño; utilizando como antígeno, un extracto acuoso de leproma. Posteriormente, el mismo Eitner, volvió a aplicar la reacción a otro sujeto, empleando como antígeno un extracto acuoso de corazón de cobayo.

En 1915, Jeanselme y Vernes, publicaron un trabajo, en que estudian el valor de las reacciones de Wassermann y de Eitner, llegando a la conclusión, que tanto una como otra daban resultados positivos en la sífilis y en la lepra, negándole a la reacción de Eitner valor específico.

Sería muy largo enumerar el sinnúmero de trabajos publicados sobre la aplicación de las diversas técnicas de la reacción de Wassermann al diagnóstico de la lepra. Casi todos los métodos o técnicas que fueron apareciendo para el diagnóstico de la sífilis, fueron ensayadas con los sueros de leprosos; dividiéndose en varias tendencias las opiniones sobre el valor de las reacciones positivas encontradas en esa enfermedad.

Unos investigadores atribuían valor diagnóstico a sus reacciones, otros atribuían las reacciones positivas a la coexistencia de la sífilis.

Lo mismo podemos decir de las reacciones de floculación.

Entre las reacciones que gozaron de mayor prestigio en cuanto a especificidad en el sentido de denunciar la coexistencia de sífilis en la lepra, fué la de Kolmer, entre las de fijación del complemento, y la de Kahn, entre las de floculación.

Pero creo que últimamente, el problema tiende a aclararse y por mi parte tengo la convicción, que esas reacciones, en la lepra, aunque pueden coincidir con la coexistencia de sífilis, no tienen nin-

(*) Trabajo presentado en la Sociedad Argentina de Dermatología y Sifilología. Sesión del 8 de agosto de 1934.

gún valor específico; y son debidas al poder polifijador o polienergético de los sueros leprosos.

La aplicación de la reacción de los glóbulos formolados descripta por nosotros, específica para la lepra, ha ofrecido un punto de apoyo para controlar el significado de las reacciones positivas de Wassermann y de floculación en la lepra.

Durante el curso de nuestras investigaciones pudimos comprobar que los sueros leprosos a reacción de Wassermann positiva, daban también una reacción positiva a los glóbulos formolados; aunque el porcentaje de positivas, de esta última, era superior al de la primera.

En los trabajos realizados últimamente en el Instituto Bacteriológico, pudimos comprobar con el Dr. Miravent, una coincidencia casi perfecta entre las reacciones positivas al Bordet Wassermann y a los glóbulos formolados; dependiendo el número de reacciones positivas de la técnica empleada.

Según mis observaciones, pienso como muy probable que en un suero leproso, una reacción de Wassermann positiva con reacción de los glóbulos formolados negativa, debe hacer pensar en la coexistencia de la sífilis.

Otra etapa en la serología de la lepra se inicia con la aplicación de las técnicas de fijación del complemento para el diagnóstico de la tuberculosis. El antígeno más utilizado, fué el preparado por el profesor Besredka. Todos los investigadores que aplicaron esta técnica pudieron comprobar, que con ese antígeno, los sueros de leprosos dan un alto porcentaje de reacciones positivas; y lo que es más interesante, ese porcentaje es mayor que con los sueros de sujetos solamente tuberculosos.

Uniendo al antígeno de Besredka, una técnica sensible, se llega a obtener en la lepra un número de reacciones positivas muy próximo al 100 %. Análogos resultados hemos obtenido con el antígeno de Klopstock, que es un extracto alcohólico de bacilos tuberculosos previamente tratados por epiclorhidrina para privarlos de las ceras y otras substancias grasas. Está demás decir que ninguna de las reacciones que tienen como fundamento el uso de antígenos a base del bacilo de Koch o sus extractos tienen valor específico; a parte que se dan en la tuberculosis, se observan reacciones positivas también con los sueros sífilíticos.

Siguiendo la misma orientación, se han creado técnicas utilizando como antígenos bacilos ácidosresistentes aislados de sujetos leprosos.

J. M. Gómez, en el Brasil, utiliza cultivos del estreptotrix de Deycke en caldo glicerinado y luego los desengrasa por la acción de la acetona y del aceite de oliva.

Según el autor, su técnica daría un porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra y sería específica.

En cambio, el Dr. G. Fleury da Silveira, en un trabajo presentado en la Asociación Paulista de Medicina (27 de febrero de 1933); en que hace un estudio comparado de la reacción de Gómez y la de los glóbulos formolados, llega a la conclusión que la primera es más sensible, pero no específica, y la segunda menos sensible, pero absolutamente específica.

G. Blanc, director del Instituto Pasteur de Atenas, en colaboración con Joannidés y Pangalos, utilizan como antígeno un extracto al alcohol metílico del bacilo de Kredrowsky, preparado según la técnica de Boquet y Nègre.

Los autores refieren un porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra, pero aportan muy pocas observaciones, sobre todo de sueros controles que en total suman sólo 17.

No hay duda que la utilización de los antígenos a base de los bacilos acidorresistentes, por su similitud con el bacilo de Hansen, pueden ofrecer un interés considerable para los estudios del suero-diagnóstico de la lepra; ajustando los antígenos y la técnica para aprovechar el margen apreciable, que ofrecen los sueros leproso por su mayor riqueza en anticuerpos, para esos antígenos; tanto comparados con los sueros tuberculosos como con los sífilíticos.

Pero, es necesario tener en cuenta, que un ajuste de los antígenos y de la técnica, en el sentido de obtener reacciones absolutamente específicas, hará perder marcadamente la sensibilidad de la reacción y por lo tanto su alcance práctico.

Nosotros pensamos que las reacciones de fijación con antígenos tuberculosos y de bacilos acidorresistentes, pueden prestar servicios más importantes de otro punto de vista, utilizando técnicas sensibilizadas, de manera que den con los sueros de sujetos clínicamente leproso, en todas sus formas, resultados positivos aproximados al 100 % de los casos. En esta forma, frente a un caso dudoso, una reacción negativa tiende a afirmar la noción de la no existencia de lepra.

Por nuestra parte, con todos los sueros que nos son enviados para la reacción de los glóbulos formolados, investigamos también la fijación del complemento con antígeno tuberculoso e informamos el resultado.

Debemos agregar, por creerlo de interés, que Salminen, en un interesante trabajo sobre la reacción de Wassermann en el suero y en el líquido cefalorraquídeo de los leproso, llega a la conclusión que esa reacción es siempre negativa en el último; hecho que también han confirmado otros investigadores y nosotros mismo en algunos casos examinados.

En resumen, los sueros leproso dan reacciones de fijación y de floculación con los más variados antígenos, entrando en las zonas serológicas de la sífilis y de la tuberculosis; lo que probaría, po-

dríamos decir, el carácter polivalente o polienergético del suero leproso, en el sentido de mostrar propiedades atribuidas a los más variados anticuerpos, ya fijadores, ya floculantes de lipoides o aglutinantes de bacterias y células animales.

REACCION DE LOS GLOBULOS FORMOLADOS DE OVINOS. (Rubino)

La reacción descripta por nosotros tiene como base un antígeno completamente distinto, que se aparta de todos los utilizados en las otras reacciones serológicas.

Como ya lo he manifestado en publicaciones anteriores, tuvo origen en los trabajos que realizaba para despojar a los sueros humanos de su sistema hemolítico natural, a fin de practicar la reacción de Bordet Wassermann, con un sistema hemolítico bien medido y sin necesidad de recurrir a la inactivación por el calor para privarlos también del complemento. La idea tiene como fundamento, que los glóbulos de oveja en presencia de los sueros humanos fijarían las hemolisinas naturales y así sensibilizados por ese amboceptor, fijarían también el complemento del propio suero; dejando en éste solamente el amboceptor que se deseaba investigar; en este caso era la "reagine" sifilítica. Pero era necesario evitar la hemólisis de los glóbulos de oveja dentro del suero y para esto se hacía imprescindible fijar antes los glóbulos por una substancia, que a la vez que fuera buen fijador de los tejidos, respetara en éstos sus cualidades antígenas.

Fué así que elegí el formol como fijador, porque gozaba en bacteriología del crédito de un buen conservador de las suspensiones microbianas destinadas a las reacciones de aglutinación.

Realizando estas investigaciones, observé cierta vez, que, contrariamente a lo habitual, en un suero, los glóbulos no se mantenían en suspensión, sino que al cabo de pocos minutos, iban al fondo del tubo quedando el suero casi clarificado. Esta observación, hechas las averiguaciones clínicas, coincidió con un caso de lepra y pudimos comprobar luego, que se presentaba con mucha frecuencia en los sueros de esa enfermedad.

Nuestra primera comunicación a la Sociedad de Dermatología y Sifilografía de Montevideo, hecha en junio de 1926, tuvo por objeto sólo poner de relieve el hecho, de la frecuencia del fenómeno con los sueros de leproso, sin asignarle ningún valor específico o diagnóstico.

Pudimos comprobar igualmente, que ese fenómeno era debido a la aglutinación globular, y que la sedimentación rápida era una consecuencia de ese hecho, que al igual de las floculaciones y aglutinaciones microbianas, son seguidas de una fase de clarificación del medio. Siendo regido el fenómeno de la sedimentación de los

glóbulos formolados por las mismas leyes de la aglutinación: agotamiento de los sueros por absorción; proporciones óptimas de antígeno y anticuerpos; fenómeno de zonas, influencia de los electrolitos y elución de los anticuerpos por el calor.

Nuestros trabajos posteriores, pusieron de relieve que la aglutinosedimentación de los glóbulos formolados podía ser observada también en otros sueros fuera de la lepra; perdiendo así, aparentemente, su valor específico. Pero pudimos demostrar, que cuando eso ocurre fuera de la lepra, también son aglutinados los glóbulos de oveja al estado natural, con igual o mayor intensidad que los glóbulos formolados; haciéndose así muy fácil la diferenciación de los dos casos.

Fué después de estos trabajos realizados en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene de Buenos Aires, y comunicados a la Sociedad Argentina de Biología, que nosotros describimos nuestra técnica específica para el diagnóstico de la lepra.

En comunicaciones posteriores demostramos, además, que las aglutinaciones de los glóbulos formolados, fuera de la lepra, eran debidas a la existencia de una heteroaglutinina especial, completamente distinta de la aglutinina responsable de la reacción específica de los sueros de leprosos.

Esa heteroaglutinina puede presentarse en algunos sueros sola, pero puede también coexistir con la aglutinina específica en los sueros leprosos.

La heteroaglutinina no específica se caracteriza, por una parte, porque tiene una acción electiva sobre los glóbulos al estado natural y cuando alcanza a los glóbulos formolados, lo hace por extensión; contrariamente a las aglutininas de los sueros de leprosos, que tienen acción absolutamente electiva sobre los glóbulos formolados.

Por otra parte, es posible privar totalmente a los sueros de esas heteroaglutininas, tratándolos por los glóbulos de oveja al estado natural, siendo la temperatura más favorable para esta absorción entre 0° y 9°. En tales condiciones los sueros leprosos conservan únicamente sus aglutininas específicas, con acción exclusiva sobre los glóbulos formolados.

De manera, pues, que la reacción descrita por nosotros exige el uso simultáneo de dos sistemas de diluciones crecientes del suero en examen; uno con glóbulos formolados y otro con glóbulos al estado natural; caracterizándose las reacciones positivas por una aglutinación exclusiva de los glóbulos formolados, o manifestándose más intensa con éstos que con los glóbulos al estado natural.

Cuando en el examen de un suero se presenta en la serie de glóbulos al estado natural, una aglutinosedimentación de la misma intensidad que en la serie de los glóbulos formolados, antes de pro-

nunciarse por una reacción negativa, deberá pensarse en la posibilidad, que se presenta con cierta frecuencia aun en casos de lepra, de la coexistencia de heteroaglutininas no específicas, en cantidad elevada y deberá repetirse la reacción con el suero previamente tratado por glóbulos al estado natural, los que absorberán esas heteroaglutininas, permitiendo en muchos casos la lectura de una reacción específica que permanecía oculta.

En nuestro último trabajo, publicado en los "Anales del Instituto Pasteur", tomo XLVII, de agosto de 1931, al referir nuevas investigaciones, puntualizamos bien las condiciones precisas de nuestra técnica, a fin de evitar los equívocos derivados del uso de técnicas defectuosas propaladas por algunas publicaciones.

TECNICA DE LA REACCION

Extractada de los "Annales de l'Institut Pasteur", (agosto, 1931, tomo XLVII, pág. 147)

El material destinado a la reacción se compone del suero a examinar, de una suspensión de glóbulos rojos de oveja formolados y de otra de glóbulos rojos también de oveja, pero sin formolar.

a) SUERO. — 10 a 15 c.c. de sangre son suficientes para obtener el suero necesario para una reacción. El suero debe ser límpido, sin glóbulos en suspensión y lo más frescamente extraído posible. Mientras no se utilice deberá ser conservado en la heladera; pero pierde su actividad en algunos días.

La reacción tiene lugar igualmente con suero fresco, sin inactivar; pero como la reacción completa comprende además una serie de tres tubos con glóbulos naturales (no fijados), será necesario inactivar el suero a 52° — 53°, treinta minutos, para evitar la hemolisis.

b) SUSPENSIONES GLOBULARES. — La sangre de oveja para obtener los glóbulos puede proceder de matadero o de sangría de oveja mantenida en el laboratorio; la primera siempre es más rica en glóbulos, pues las sangrías sucesivas a que son sometidos los animales, empobrecen marcadamente la sangre en glóbulos rojos; a esto y no a otra cosa deben atribuirse que algunos experimentadores hayan obtenido resultados más sensibles, utilizando sangre de animales frecuentemente sangrados.

Es menester también tener en cuenta las posibles diferencias individuales, tanto del punto de vista de la riqueza globular como de factores constitucionales, que pueden obrar sobre la sensibilidad de la reacción. Es conveniente, por lo tanto, que la sangre de matadero sea una mezcla de dos o más animales. Para que *los factores constitucionales no influyan sobre la especificidad de la reacción, deberá utilizarse cada vez la misma sangre, o sangre del mismo animal, para preparar las dos suspensiones globulares necesarias para montar la reacción.* Para preparar los glóbulos formolados, se coloca sangre desfibrinada en los tubos de centrifugación y se marca exactamente el volumen y se les lava cuatro veces con solución fisiológica al 8,5%. Después

del último lavado, igualados los volúmenes con solución fisiológica, se lleva al doble volumen con la misma solución y se le agrega formalina (formol 40 %) a razón del 10 % del volumen resultante, agitando la suspensión a medida que se agrega la formalina. Una parte de sangre desfibrinada será conservada como tal en la heladera para preparar la suspensión de glóbulos naturales. Los glóbulos formolados se conservarán a la temperatura de laboratorio, siendo utilizables por lo menos 10 días. En cambio, la sangre desfibrinada no se conserva, aun en la heladera, por más de tres días.

Para los esquemas que expondremos, las suspensiones deberán tener una concentración globular de 3.500.000 a 4.000.000 por milímetro cúbico.

En la práctica se puede prescindir del contaje globular, llevando el volumen de las suspensiones, con suero fisiológico, a tres veces el volumen original de sangre, si la sangre procede de animales de matadero o de animales poco sangrados, y a dos veces, si los animales son sangrados frecuentemente.

Montaje de la reacción. — Tanto los glóbulos formolados como la sangre desfibrinada para preparar la suspensión de glóbulos naturales, serán lavados cuatro veces sucesivas con suero fisiológico, separando a éste por centrifugación.

En los glóbulos formolados, será necesario remover con una varilla de vidrio el "culot" pastoso que se forma después de cada centrifugación, a fin de incorporar los glóbulos al nuevo suero fisiológico, agitando bien el tubo hasta que formen una suspensión homogénea. Una vez lavados, se ajustan los volúmenes, teniendo en cuenta las indicaciones arriba formuladas, de manera que las suspensiones globulares tengan una concentración globular adecuada.

La reacción se hará en seis tubos de hemolisis, de un diámetro interior de 9 a 10 mm., tres tubos para glóbulos formolados y tres controles con glóbulos naturales. Se distribuirá primero el suero en examen, luego el suero fisiológico; se agitan los tubos para mezclar bien esos elementos y luego se agregan las suspensiones globulares según el siguiente esquema:

Tubos	1	2	3	4	5	6
Suero en examen	0 5	0 25	0 1	0 5	0 25	0 1
Solución fisiológica	0 3	0 55	0 7	0 3	0 55	0 7
Suspensión de glób. formolados	0 2	0 2	0 2	—	—	—
" " " naturales .	—	—	—	0 2	0 2	0 2

Se agitan bien los tubos y se ponen en la estufa a 37°

A este esquema se puede agregar en cada una de las dos series de glóbulos, un tubo más con 0.7 de suero; se podrá así tener algunos resultados positivos más y sobre todo reacciones más acentuadas para los sueros débilmente positivos. Pero esto no será posible para todos los sueros, porque a esa concentración es frecuente la observación de fenómenos de heteroaglutinación que dificultan la lectura de los resultados, siendo necesario recurrir entonces a la absorción previa de las heteroaglutininas, según la técnica que mencionaremos.

El esquema de reacción que dejamos mencionado es el que hemos utilizado desde varios años hasta la fecha, pero actualmente utilizamos otro que se presenta algo más sensible:

Tubos	1	2	3	4	5	6
Suero en examen	0 5	0 25	0 1	0 5	0 25	0 1
Solución fisiológica	0 2	0 45	0 6	0 2	0 45	0 6
Suspensión de glób. formolados	0 1	0 1	0 1	— —	— —	— —
" " " naturales .	— —	— —	— —	0 1	0 1	0 1

En este esquema la cantidad de glóbulos, para las mismas cantidades de sueros, es dos veces menor, y el volumen de reacción es también menor: 0.8 en lugar de 1 c.c.

Manifestamos acá, como lo hemos hecho otras veces, que las proporciones de suero, suspensiones globulares y volumen de reacción pueden ser modificados; obteniéndose reacciones más o menos sensibles; siendo sólo fundamental, para que los resultados sean específicos, utilizar dos series de dosis decrecientes de sueros, una con suspensión de glóbulos formolados y otra de glóbulos naturales debidamente preparados y procedentes ambos, para cada reacción, del mismo o de los mismos animales.

Lectura de los resultados. — Las reacciones positivas se caracterizan por un aclaramiento progresivo y más o menos rápido, según la intensidad de la reacción, al mismo tiempo que se constituye en el fondo del tubo un depósito o casquete globular que contrasta con el resto del medio más o menos aclarado. Se hará una primera lectura al cabo de 15 minutos, una segunda a los 30 minutos y la última al cabo de una hora. La reacción es positiva cuando la aglutinosedimentación se produce solamente en la serie de glóbulos formolados, o cuando ella es netamente más pronunciada en esta serie que en la de los glóbulos naturales. La reacción es negativa cuando no aparece aglutinosedimentación, o cuando ella se produce en las dos series globulares con intensidades sensiblemente iguales.

Como la aglutinosedimentación con igual intensidad en ambas suspensiones globulares indica la presencia de heteroaglutininas, las que pueden ocultar una reacción positiva, antes de pronunciarse en tal caso por una reacción negativa, será necesario repetir la reacción con el suero privado de sus heteroaglutininas por absorción de las mismas mediante una suspensión de glóbulos naturales.

Absorción de las heteroaglutininas no específicas

La absorción de las heteroaglutininas no específicas se funda en que ellas son absorbidas por los glóbulos de oveja al estado natural, contrariamente a las aglutininas específicas de la lepra, que sólo son absorbidas por los glóbulos formolados. Frente al calor tienen también un comportamiento desigual; las primeras son absorbidas más intensamente a baja temperatura; entre 0° y 9°; en cambio, las aglutininas leprosas son absorbidas mejor a 37°.

Técnica: Por cada c.c. de suero se agrega 0.5 c.c. de una suspensión de glóbulos de oveja lavados cuatro veces (como para la reacción) y lle-

vados con solución fisiológica *al volumen original de sangre*. Se mezcla bien agitando el tubo y se coloca en la heladera (tratándose de una heladera común, se coloca el tubo sobre el hielo) durante una hora, agitando la mezcla por lo menos tres veces, a fin de incorporar los glóbulos rojos que se depositan aglutinados en virtud de la aglutinina que han absorbido; se centrifugará inmediatamente de sacados de la heladera y se hará la reacción con el líquido decantado.

Como el suero quedará privado de sus heteroaglutininas, la reacción se podrá hacer con sólo dos tubos:

Tubos	1	2
Suero	0 8	0 8
Suspensión de glóbulos formolados ..	0 1	— —
" " " naturales	— —	0 1

Las suspensiones globulares indicadas en este esquema se prepararán exactamente como lo hemos indicado en la técnica de la reacción. El tubo 2 sirve de control para comprobar que las heteroaglutininas han sido absorbidas. Un suero demasiado rico en heteroaglutininas podrá exigir para la absorción total una mayor proporción de glóbulos rojos de oveja. En este caso será siempre más conveniente, para no diluir demasiado el suero, utilizar una suspensión globular más concentrada.

Para mayores detalles de técnica y estudio de la reacción recomendamos nuestro trabajo en los *"Annales de l'Institut Pasteur"*, tomo XLVII, agosto de 1931.

TRABAJOS Y OPINIONES PUBLICADAS EN EL EXTRANJERO

Referiremos en forma sintética los principales trabajos sobre nuestra reacción, publicados en el extranjero y que han llegado a nuestro conocimiento.

El primer trabajo importante fué el de Marchoux y Caro, del Instituto Pasteur de París (*"Annales de l'Institut Pasteur"*, mayo de 1928, tomo XLII). Tomaron como base nuestra primera publicación, con una técnica aun insegura en cuanto a especificidad de la reacción, difundida por una revista italiana. Dado el justificado prestigio del Prof. Marchoux y la difusión de la revista en que publicó su trabajo, hizo que algunos investigadores utilizaran la misma técnica y obtuvieran resultados contradictorios.

Marchoux y Caro hacen un estudio minucioso de la reacción y llegan a las siguientes conclusiones: 1.º La reacción de sedimentación de los glóbulos rojos de oveja formolados, aplicada según la técnica descrita por Rubino, es decir, mezclando partes iguales de suero leproso y suspensión globular formolada, nos ha dado resultados positivos en la mitad de los casos de lepra que hemos estudiado. 2.º Esta

reacción ha permanecido constantemente negativa para todos los sueros fuera de la lepra. 3.º Mezclando el suero leproso y la suspensión formolada en las proporciones de cinco partes de suero para una de suspensión globular, hemos obtenido la sedimentación en la totalidad de los casos de lepra que hemos estudiado. 4.º Esta reacción es negativa para todo otro suero que el suero leproso, salvo para el suero de un enfermo atacado de filariosis, y que no está posiblemente indemne de contaminación leprosa. 5.º la reacción es función de dos substancias, de las cuales una, específica, se fija sólidamente sobre los glóbulos de oveja formolados y la otra es común a todos los sueros. 6.º Por calentamiento del suero durante una hora a 56º, el fijador resiste parcialmente, el complemento es destruído. 7.º la temperatura de 60º mantenida durante 30 minutos destruye las dos substancias a la vez.

Monacelli, en Italia, de la Clínica Dermosifilopática de la Universidad de Roma, publica un interesante trabajo, obteniendo doce reacciones positivas sobre trece enfermos de lepra y ninguna sobre 45 casos de otras enfermedades, declarando que la reacción es específica y útil para ayudar el diagnóstico de los casos dudosos.

M. Peltier publica un trabajo hecho con la primera técnica, muy poco sensible, y obtiene un reducido número de reacciones positivas, pero declara que es específica. J. Markiano, del Servicio de la Lepra, en Grecia, utilizando la primera técnica, obtiene igualmente un número bajo de resultados positivos, pero afirma también que la reacción es específica.

En 1930, en el Congreso Médico del Centenario, que tuvo lugar en Montevideo, el Dr. Silva Araújo hace mención a la aplicación de la reacción de Rubino en el Servicio de la Lepra de Río de Janeiro, relatando algunos casos en que la reacción pudo hacer presumir la enfermedad antes de la aparición de los síntomas clínicos, y confirma su especificidad. En el mismo sentido se manifiesta el Dr. Borzone, Jefe del Servicio de la Lepra en Rosario de Santa Fe.

El Dr. Armindo Pinto de Figueiredo, de Río de Janeiro, dedica su tesis de doctorado al estudio de la reacción de Rubino. Hace un estudio minucioso de la reacción, ajustándose a la técnica indicada por el autor. En tales condiciones, sobre 65 casos de lepra, obtiene 74 % de reacciones positivas en las formas tuberosa y mixta, y 26,6 % en las formas nerviosas puras, y llega a las siguientes conclusiones:

- 1.^a La reacción de Rubino es específica de la lepra.
- 2.^a Se presenta positiva en un 74 % de las formas tuberosa y mixta.
- 3.^a Es menos frecuente en las formas nerviosas y en las latentes de lepra.
- 4.^a Cuando es positiva es patognomónica de la lepra.

5.^a La reacción de Rubino es un valioso auxiliar para el diagnóstico de la lepra.

En 1931, con la asistencia del Dr. Monier, hacemos un estudio de contralor en el Servicio de Patología Exótica del Instituto Pasteur de París, bajo la dirección del Prof. Marchoux, y encontramos sobre 36 sueros de leproso, 27 reacciones positivas, dos dudosas y siete negativas, y sobre 304 sueros de control, procedentes de las más diversas enfermedades, sólo encontramos una reacción positiva, que al examen clínico, el sujeto presenta los dos nervios cubitales fuertemente engrosados y procede de una colonia francesa donde ha convivido con leproso.

El Dr. Alcivar Zevallos, del Ecuador, publica un importante trabajo sobre la reacción y no obstante, no ajustarse a la técnica específica, llega a conclusiones enteramente favorables. La reacción es positiva en el 79 % de los casos de lepra y se mostró negativa en numerosos casos de las más variadas de las enfermedades, habiendo encontrado algunas reacciones positivas fuera de la lepra en paludismo y péñfigo. Debemos acentuar que el Dr. Alcivar Zevallos no usó los tubos controles para eliminar los casos no específicos por heteroaglutininas; no obstante, sus observaciones le permiten llegar a las siguientes conclusiones: 1.^a La reacción de Rubino agregada a los signos clínicos y a las investigaciones bacteriológicas se ha mostrado un útil factor en el diagnóstico de la lepra; 2.^a La reacción ha sido encontrada en ciertos casos en que sólo los antecedentes familiares y ligeras manchas anestésicas, pudieran afirmar el diagnóstico de la lepra, hecho que la revelaría como un valioso medio de diagnóstico precoz. 3.^a Su sensibilidad o exactitud, que es de 79 % en el total de casos examinados, varía con las diversas formas clínicas de la enfermedad, ya que es de 100 % para la forma tuberculosa, de 96 % para la forma mixta y sólo de 53 % para la forma nerviosa.

El Dr. Valenzuela, de Ecuador, usa la reacción sistemáticamente en los enfermos que ingresan en el Hospital General de Guayaquil, y según su opinión, tiene un valor diagnóstico muy importante.

Max Adant, del Laboratorio D'Elisabeth-ville (Congo Belga), presentó a la Sociedad Belga de Biología dos comunicaciones muy interesantes. En su primera comunicación manifiesta haber encontrado dos reacciones positivas fuera de la lepra. Pero habiendo llamado nosotros la atención en una nota a la Sociedad de Patología Exótica, de que Max Adant, no había usado la técnica completa para eliminar las reacciones no específicas, el mismo investigador repite las experiencias y presenta su segunda comunicación en mayo de 1932 a la misma Sociedad, reconociendo que usando la técnica completa la reacción es totalmente específica.

Lepine, Markiano y Papayoannou hacen una comunicación a la Sociedad de Patología Exótica, en junio de 1932, manifestando que usando la técnica aconsejada por nosotros, la reacción es absolutamente específica, aunque no encuentran porcentaje elevado de reacciones positivas en la lepra.

Agostino Ambrogio publica un trabajo, en *Patologica* (abril de 1932), en que atribuye gran valor a la reacción.

El Dr. Montañez, del Instituto Nacional de Higiene de Madrid, publicó un extenso trabajo, en la "Revista de la Sanidad e Higiene Pública", enero de 1932. Hace un estudio completo de la reacción, pero es de lamentar que haya utilizado una técnica insuficiente, sin los tubos controles para eliminar las heteroaglutininas, lo que puede originar la aparición de reacciones no específicas. No obstante, he aquí las conclusiones a que llega el Dr. Montañez:

La reacción de Rubino es la que nos da más positividad en los sueros leproso y la que da menos en los sueros no leproso de cuantas reacciones serológicas diagnósticas han sido propuestas hasta hoy para el diagnóstico de la lepra. Esta reacción persiste en el 80 % de los casos clínica y bacteriológicamente curados, en lo que puede permitirse la vida social del enfermo "altas condicionales paroled". Todos estos resultados hablan en favor de la especificidad de la reacción de Rubino.

Los Dres. G. Fleury da Silveira y Mario P. Mesquita publicaron en la Revista de la Asociación Paulista un importante trabajo sobre el estudio comparado de las reacciones de Rubino y de Gómez, comprendiendo 113 casos de lepra y 38 de otras enfermedades.

Después de un examen minucioso, llegan a las siguientes conclusiones:

1.^a La reacción de Rubino es absolutamente específica, aunque el porcentaje de positivos no sea muy elevado, sobre todo en las formas nerviosas de la enfermedad.

2.^a La reacción de Gómez, cuando se hace aisladamente, no puede garantizar un diagnóstico positivo.

3.^a Cuando la reacción de Rubino es negativa y la de Gómez positiva, sólo se puede considerar como caso sospechoso.

En un resumen últimamente aparecido sobre los progresos en la lepra, el Dr. Clemente Simón, del Hospital de San Lázaro de París refiere a propósito de nuestra reacción, los siguientes trabajos:

Del Dr. M. Hombría ("Actas Dermosifilográficas", año XXV, N.º 3, diciembre de 1932):

La reacción de Botelho carece de especificidad, la reacción de Eitner, bastante sensible, tiene el inconveniente de dar reacciones positivas con sueros sifilíticos.

La reacción de Rubino, menos sensible que las precedentes, es,

no obstante, de gran utilidad, porque es constantemente negativa en los individuos que no tienen lepra.

Del Dr. G. Benetazzo ("H. Dermosifilógrafo", año VII, N.º 5, mayo de 1933). Que la reacción de Rubino es positiva en un 55 % de los casos, teniendo entonces un buen valor diagnóstico, pero no lo tiene cuando es negativa.

F. Landeiro, en un trabajo del Instituto Cámara Pestana, de Lisboa, presentado a la Sociedad de Biología de Lisboa (sesión del 27 de febrero de 1934), titulado "La reacción de Rubino-Marchoux en los leprosos", estudia la reacción en 55 casos de distintas formas clínicas de lepra, y llega a las siguientes conclusiones: 1.º La reacción de Rubino-Marchoux es positiva en un 98 % de los sueros leprosos, ella es al contrario negativa en los individuos sanos o que sufren de otras enfermedades, y en los casos de lepra muy antigua. 2.ª La reacción es positiva solamente en presencia de glóbulos rojos tratados por el aldehído fórmico según el método de Rubino. 3.ª Para los sueros inactivados, es menester agregar una pequeña dosis de complemento, sea de suero normal, sea de suero del mismo enfermo.

Últimamente el Dr. O. Bier, del Instituto Biológico de San Pablo (Brasil), hizo el control de la reacción de Rubino sobre 1.000 sueros de otras enfermedades, incluyendo 50 casos de tuberculosis, y no pudo observar ninguna reacción positiva, concluyendo así en el valor específico de la reacción.

Debemos mencionar el trabajo del Dr. Spaneda publicado en la "Revista Sudamericana de Endocrinología, Inmunología y Quimioterapia", que se aparta completamente en cuanto a sus resultados de los ya mencionados, negándole toda especificidad a la reacción; pero la explicación resulta de la lectura del propio trabajo, en el que el autor ha empleado en la reacción, glóbulos aglutinados por el propio formol, lo que es una contraindicación absoluta para su empleo; de manera que no es posible tomar en consideración las conclusiones de su trabajo.

VALOR ESPECIFICO. VALOR DIAGNOSTICO. SU SIGNIFICADO

Según nuestras investigaciones y la de los investigadores que se han ajustado a la técnica precisa descrita por nosotros, la reacción de los glóbulos formolados tiene un alto valor específico; que va más allá del asignado a numerosas reacciones serológicas que disfrutaban de un tal crédito.

Pero aun más, nuestras investigaciones hasta la fecha, no nos han permitido encontrar ninguna reacción positiva seguramente fuera de la lepra.

Yo debo señalar particularmente a este respecto dos series de hechos:

1.º Los trabajos realizados en el Instituto Pasteur de París, en el Servicio de Patología Exótica, a cargo del Prof. Marchoux, a principios de 1931.

En este Servicio el Prof. Marchoux convino en hacer un control de la reacción, y designó al Dr. Monier para que siguiera mis trabajos. Los sueros eran recibidos numerados y el diagnóstico clínico era conocido sólo después de leídas las reacciones. En tales condiciones se hizo el examen de 340 sueros, de los cuales 36 procedentes de sujetos leprosos y el resto así distribuidos:

36 sueros de enfermedades exóticas, comprendiendo paludismo, filariosis, enfermedad del sueño, coexistiendo una vez leucemia mieloide.

45 sueros del Instituto Profiláctico, que dirige el Dr. Vernes, comprendiendo 27 sueros sifilíticos de grado fotométricos elevados y 18 sueros de sujetos tuberculosos de índice a la resorcina elevado.

226 sueros tomados del Servicio Serológico del Instituto Pasteur, que dirige el Prof. Mutermilch, comprendiendo indistintamente sueros positivos y negativos al *Bordet Wassermann*.

Sobre los 36 sueros de sujetos leprosos, se encontraron 27 reacciones positivas, dos dudosas y siete negativas. Sobre los otros 304 sueros, sólo en un caso se presentó una reacción positiva. El examen de ese sujeto, hecho por el Prof. Marchoux y Dr. Monier, reveló: hipertrofia neta de los dos nervios cubitales, más marcada del lado derecho, y sensación de hormigueo en los dos últimos dedos de cada mano. Además, el enfermo declaró que en el curso de su permanencia en el Africa Occidental, por razones de su servicio, había vivido en cierta promiscuidad con los indígenas, entre los cuales había leprosos.

La segunda serie de hechos se refiere a nuestros últimos trabajos realizados en el Instituto Bacteriológico del Departamento Nacional de Higiene Argentino.

Todos los sueros me fueron entregados numerados por el Servicio de Serología, que dirige el Dr. Miravent. Sobre 169 sueros examinados, 126 eran de lepra; de éstos, 78 dieron reacciones positivas, una dudosa y 47 negativas. De los 39 sueros restantes, de diversas enfermedades de la piel, entre ellos la mayoría a *Bordet Wassermann* positivos, todos fueron negativos.

Estos sueros procedían de los Servicios del Hospital Muñiz, a cargo de los Dres. J. J. Puente y Etcheverry, y de las Clínicas del Prof. Balaña, remitidos por el Dr. G. Basombrío, a quienes agradezco sinceramente la colaboración prestada.

El otro punto importante a considerar es el grado de positi-

vidad en las distintas formas de la enfermedad y en sus diversos períodos de evolución.

La mayoría de los trabajos coinciden en que la reacción se presenta más frecuentemente positiva en la forma tuberosa, luego en la mixta y por último en la nerviosa pura. También es más frecuentemente positiva en las formas avanzadas que en las clínicamente incipientes.

Sin embargo, frente a estos hechos, hay un grupo de observaciones que demuestran que la reacción suele presentarse en casos incipientes y mismo en casos en que la enfermedad fué visible clínicamente después de varios meses de una reacción positiva.

El Dr. Silva Araújo en el Congreso Médico del Centenario del Uruguay (1930), hizo mención precisamente a casos de esa naturaleza. El Dr. Alcivar Zeballos, del Ecuador, en un documentado trabajo, en una de sus conclusiones, que ya hemos leído, manifiesta que ha encontrado la reacción positiva en ciertos casos en que sólo los antecedentes familiares y ligeras manchas anestésicas, pudieron afirmar el diagnóstico de lepra.

Al referir nuestros trabajos realizados en el Instituto Pasteur, hemos mencionado el caso de un sujeto que una reacción positiva hizo practicar un examen minucioso y comprobar la hipertrofia de los nervios cubitales. No es posible afirmar que este caso sea de lepra; pero los resultados obtenidos hasta la fecha sobre la especificidad de la reacción, unido a la circunstancia de haber vivido en cierta promiscuidad con enfermos de lepra, hacen recaer una fuerte sospecha.

Últimamente investigamos serológicamente los miembros de una familia en que había un caso de lepra; se obtuvo una reacción positiva, en otro de ellos que un examen cuidadoso señaló la presencia de una pequeña mancha anestésica.

Creo que por el momento es difícil sacar una conclusión absoluta de la correlación entre la reacción y el grado de evolución de la lepra; ignoramos a qué factores se debe una reacción positiva, y sólo una experimentación amplia, en un medio infectado, investigando serológicamente no solamente los casos clínicamente diagnosticables, sino también los convivientes aparentemente sanos, podrá informarnos sobre su alcance para despistar los casos larvados o incipientes de esa enfermedad.