

**HEMO-DIAGNOSTICO  
DE LA TUBERCULOSIS**

**POR EL**

**DR. C. PEREZ CANTO**



## HEMO-DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS

**C**RUSKIN, de Chicago, propuso en 1923 el empleo de los glóbulos rojos humanos sífilíticos para efectuar la reacción de Wasserman. El autor creía que si el suero de la sangre contiene sustancias derivadas de la infección sífilítica, con mayor razón deben contenerlas los glóbulos rojos convenientemente despojados del mismo suero.

Las experiencias efectuadas por Cruskin lo llevaron al convencimiento de que la reacción de Wasserman podía simplificarse haciendo que los mismos glóbulos rojos específicos sirvieran a la vez de control hemolítico de la reacción; por otra parte, el autor trató de que la hemolisina necesaria para la reacción contuviera también los anticuerpos específicos, cosa indispensable para la sencillez de aquella.

En suma, el método de Cruskin se reduce a preparar en el conejo una hemolisina, mediante una serie de inyecciones venosas de glóbulos rojos lavados de un sifilítico fehaciente; a poner en contacto diferentes grados de dilución de esta hemolisina con glóbulos rojos también lavados de un sospechoso de sífilis, en presencia de una cantidad suficiente de complemento de cui.

La hemolisis de dichos glóbulos indica una reacción positiva para la sífilis y su ausencia una reacción negativa; es decir, absolutamente lo contrario de lo que pasa en la reacción llamada de Wasserman.

El autor dice haber experimentado ampliamente su método en muchos casos de sífilis y asegura que ha obtenido excelentes resultados. Sugiere, al mismo tiempo, que dicho método pudiera también ser útil en el diagnóstico de otras enfermedades, como el carcinoma y la tuberculosis.

Hemos aprovechado esta sugestión para ensayar el hemo-diagnóstico en esta última enfermedad, durante los dos años en que nos fué lícito trabajar en el Pabellón Sanfuentes para tuberculosis cerrada.

Fué necesario modificar la técnica de Cruskin, especialmente en lo que se refiere a la titulación de la hemolisina, pues las diluciones al 1 por ciento, por 200, por 300 etc. son faltas de proporcionalidad, defecto general a este modo de operar.

Describiremos, pues, la preparación de la hemolisina, su titulación, la técnica usada en nuestras investigaciones, los resultados prácticos del hemodiagnóstico, y por último la teoría que pudie-

ra explicar las modificaciones de la conocida reacción de Bordet-Gengou, fundamento de la de Wasserman.

Declaramos haber procedido sin prejuicios. Nuestras conclusiones son imparciales.

### HEMOLISINA

Se coloca en un tubo de ensayo esterilizado 1 centímetro cúbico de solución de citrato de sodio al 5 por ciento y en él se vierten hasta 10 cc. de sangre extraída por punción venosa a un hombre tuberculoso secundario, que espectore bacilos y que no se halle en completo estado de emaciación; se procura la mezcla completa de ambos líquidos para evitar la coagulación.

En seguida se centrifuga el líquido para separar el suero, 5 veces consecutivas con agua fisiológica esterilizada, hasta conseguir glóbulos rojos privados por completo de toda porción de suero.

Estos glóbulos rojos son emulsionados al 1/10 en agua fisiológica e inyectados en la vena marginal de la oreja de un conejo escogido, en cantidades ascendentes de  $\frac{1}{2}$  c<sup>3</sup> el primer día hasta 3 c<sup>3</sup> el sexto y 4 el séptimo.

Luego después de la última inyección, se anestesia al conejo y se le sangra a fondo en matras esterilizado, guardando éste a baja temperatura para impedir la hemolisis.

En seguida se extrae el suero con jeringa de cristal provista de aguja de vidrio y se envasa en pequeñas ampollitas de 0,3 c<sup>3</sup> de capacidad, que se cierran a la lámpara.

En el mismo día estas ampolletas son privadas del complemento por el calor a 57° durante media hora.

### TITULACIÓN

Se disponen 8 tubos de hemolisis, marcados a lima hasta una capacidad de 3 c., de modo que ésta sea bastante inferior a la total del tubo, y en ellos se ponen más o menos 2 c. de agua fisiológica recientemente esterilizada.

Se agregan las sustancias indicadas en el cuadro siguiente por medio de una pipeta milimétrica, cuidando la exactitud de las medidas y marcando cada tubo de 0,8 a 0,1, conforme a lo indicado en dicho cuadro calculado para expresar en milésimas el título de la reacción.

	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1
Agua fisc. hasta cm. . . . .	3	3	3	3	3	3	3	3
Glób. rojos puros mm. . . . .	25	25	25	25	25	25	25	25
Complem. puro mm. . . . .	50	50	50	50	50	50	50	50
Hemolisis. "al 1/10 mm. . . . .	24	21	18	15	12	9	6	3

Los glóbulos rojos se obtienen por punción venosa de un hombre completamente sano y en todo caso indemne hasta de sospechas de tuberculosis. Se lavan en la misma forma que se ha dicho para la preparación de la hemolisina, pero se conservan puros para la titulación.

El complemento debe ser fresco, del mismo día, y no se diluye.

La hemolisina, conservada en ampolletas, se diluye al 1/10 en agua fisiológica. Debe cuidarse mucho la exactitud de las cantidades colocadas en cada tubo.

Hecha la mezcla de las tres sustancias, se completan con agua fisiológica los 3 c<sup>3</sup> que deben contener los tubos.

En seguida se ponen los 8 tubos en la estufa a 37°, por dos horas, al cabo de las cuales se observa cuantos tubos han hemolisado. Una buena hemolisina debe producir su acción entre 0,7 y 0,6 por mil, para los casos normales.

Supongamos que todos los tubos marcados de 0,8 a 0,6 han presentado hemolisis. Entonces el título de la hemolisina es 0,5 y por el tubo correspondiente debe comenzar el hemo-diagnóstico de la tuberculosis sospechosa, como se indicará más adelante.

Le experiencia enseña la ventaja de usar 4 tubos solamente, a partir de 0,8 pues una hemolisina que dé un título inferior a 0,5 es muy pobre y desechable.

### HEMO-DIAGNÓSTICO

En el supuesto anterior, el título de la hemolisina es de 0,5. En consecuencia, se disponen 4 tubos marcados 0,5 0,4 etc. hasta 0,2, como se dijo al tratar de la titulación, con la sola diferencia de reemplazar los glóbulos rojos normales por los que han sido sospechados de tuberculosos.

En todo se procede, por lo demás, conforme a lo indicado en el proceso de la titulación y se incuban los tubos a 37° por 2 horas.

En las reacciones positivas hay hemolisis en los tubos provistos de suficiente hemolisina para disolver los glóbulos rojos tuberculosos y la cifra del tubo primero indica la intensidad de la reacción.

La falta de hemolisis debiera corresponder a glóbulos rojos indemnes.

Puede suceder que el tubo 0,5 indique un comienzo de hemolisis, permaneciendo negativos los restantes; en tal caso la reacción es dudosa y debe repetirse. A veces ocurre que el tubo 0,5 hemolisa, el 0,4 no y el 0,3 si; este indica un error posible de la mezcla.

En la práctica diaria hemos reducido a 3 el número de los tubos, a partir del que corresponde al título de la hemolisina, salvo en investigaciones acuciosas en que conviene disponer de todos.

### RESULTADOS

Se ha estudiado esta reacción en 490 casos, de los cuales 85% eran clínicamente tuberculosos, 10% dudosos y 5% parecían libres de la enfermedad.

Si dejamos de lado los indemnes, tenemos un material de 465 casos en los cuales la tuberculosis presentaba caracteres clínicos, ciertos o dudosos.

Se buscaba con gran empeño la presencia de bacilos tuberculosos en la espectoración, pues sus portadores no eran admitidos en el Pabellón Sanfuentes por disposición expresa de su fundador. Con posterioridad a su entrada se abrió un 11% de tuberculosos.

Fuera de las investigaciones de laboratorio, se hizo también en todos la reacción de Besredka, como recurso comparativo.

Pues bien, los 465 casos clínicamente tuberculosos presentaron hemo-diagnóstico positivo en pro-

porción de 80%. Los restantes 20% dieron reacción negativa, algunos porque a pesar de los datos clínicos no eran tuberculosos y otros porque tal vez sus glóbulos rojos sólo poseían indicios de antígeno, incapaces de dar una reacción.

Los mismos casos y como término de comparación dieron la reacción de Besredka francamente positiva sólo en 29% y dudosa en 14%. Si agregamos estas dos cifras para formar una opinión optimista, llegaríamos a 43%, lo que dista bastante del 80% que da el hemo-diagnóstico tal como lo hemos descrito. No hay necesidad de comentarios.

Ya se ha dicho que con posterioridad a su entrada se abrieron 11% de tuberculosos. Pues bien, la determinación especial del hemo-diagnóstico y del Besredka hecha en estos casos, a la vez que confirmó los datos anteriores, demostró que el Besredka daba sólo 57% de resultados positivos contra 100% obtenidos con el hemo-diagnóstico. La mayor sensibilidad de la última reacción quedaba demostrada en casos indiscutibles de tuberculosis.

## TEORÍA

Un cabal conocimiento de las reacciones microbianas permitió a Erlich formular su teoría de los amboceptores, cuya representación gráfica demuestra por lo menos una poderosa imaginación.

Con más modestia Bordet-Gengou habían establecido las relaciones entre los antígenos y las lisinas al través de la alexina (complemento), base fundamental de la futura reacción de Wasserman y de tantas otras. A ellas nos atendremos en la in-



interpretación de los hechos derivados del reemplazo de un suero por los glóbulos rojos correspondientes.

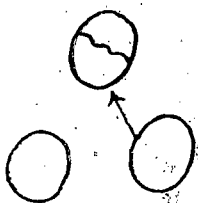
Conviene ante todo recordar que muchos sueros contienen hemolisinas normales, distintas de las específicas, sobre todo respecto a glóbulos rojos de una especie diferente. La manera de titular nuestra hemolisina pone a cubierto de tal eventualidad, señalando una cifra inferior al máximo del poder hemolítico normal del suero usado.

El esquema siguiente puede representar las reacciones que se producen entre la hemolisina usada y los glóbulos rojos por intermedio de la alena o complemento:

Lisina hemática

Lisina tuberc.

Antígeno hemát.



Alexina (complem.)

Hemolisis neg.

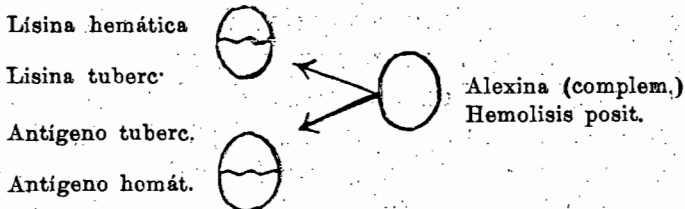
La hemolisina que hemos preparado inyectando a un conejo glóbulos rojos tuberculosos debe contener, entre sus anticuerpos, una lisina hemática y otra tuberculosa. La primera debe poder hemolisar glóbulos rojos normales humanos y la segunda sólo aquellos que a la vez sean tuberculosos; en una sola molécula, por decirlo así, deben estar contenidas ambas lisinas. Es lo ya conocido.

Pero estas lisinas, en presencia de glóbulos rojos normales y de un complemento, debieran hemolisarlos puesto que contienen a la vez el antígeno hemático que ha servido para preparar la hemolisina.

Pues bien, la hemolisis no se produce con el título usado, lo que puede interpretarse de dos maneras: o los glóbulos rojos normales no contienen antígeno hemático, o el complemento es fijado totalmente por la lisina tuberculosa, presente en la hemolisina.

La primera hipótesis no puede sostenerse porque no está de acuerdo con las experiencias serológicas. Nos inclinamos más bien a la segunda porque, si bien contraría ideas corrientes, concuerda mejor con los hechos observados. La discusión de tal punto sería muy extensa y restaría claridad a nuestra exposición.

Cuando se procede al hemo-diagnóstico se reemplazan, como hemos visto, los glóbulos normales por los tuberculosos o sospechados de tales. Entonces el esquema ya indicado puede reemplazarse por el siguiente:



En este caso la reacción conserva sus caracteres clásicos. La lisina tuberculosa impregna el antígeno del mismo nombre y en presencia del complemento disgrega el estroma de los glóbulos rojos, deja en libertad la hemoglobina y la hemolisis se produce, de acuerdo con la riqueza proporcional

de la lisina tuberculosa y del antígeno correspondiente.

Como se ve, el sistema hemolítico, común indicador de todas las reacciones serológicas, ha sido ahora innecesario.

No está demás notar que por la naturaleza especial del antígeno la reacción está invertida; positiva con hemolisis, negativa sin ella.

### CONCLUSIONES

Aunque los textos dan para la reacción de Besredka un alto porcentaje, en la práctica no hemos obtenido uno mayor de 43%; en cambio, el hemodiagnóstico propuesto alcanza fácilmente a 80%.

En las tuberculosis iniciales, cuando, las toxinas bacterianas apenas existen, la reacción puede ser negativa; en las tuberculosis terminales ignoramos el sentido de la reacción, pero es de suponerla también negativa, pues las toxinas específicas deben estar destruídas o supeditadas por las correspondientes a putrefacciones intensas.

La técnica de la nueva reacción introduce alteraciones en el concepto corriente de la fijación del complemento; sólo una prolongada experiencia podrá establecer la verdad. Por nuestra parte, no debemos iniciar su discusión en el trabajo presente.