

La Microprecipitorreacción de Kline y Young, para el Diagnóstico de la Sífilis

POR EL DR. JESUS ARROYO

En el mes de mayo del año actual, el Sr. Dr. Don Tomás G. Perrín presentó ante esta Honorable Academia de Medicina, un trabajo en el cual nos anunciaba haber presenciado en la última reunión de la Asociación Médica Americana en Dallas, Texas, la práctica de una nueva reacción de precipitación para el diagnóstico de la sífilis, la cual, derivada de la de Kahn, y empleando el antígeno preconizado por este autor, difería esencialmente de ésta, tanto en la sencillez de la técnica, como en la pequeña cantidad de suero que requería, como en la apreciación de los resultados mediante el empleo del microscopio; y de allí el nombre de prueba de precipitación microscópica en porta-objetos, para la sífilis, aplicada a este proceder por sus autores Kline y Young, del vecino país Norte-Americano, y que ante nosotros fué designada por el Dr. Perrín con el nombre de micro-precipito-reacción de Kline y Young.

Terminaba su trabajo el Sr. Dr. Perrín, invitando a los médicos mexicanos a ensayar este procedimiento, y emitir acerca de él su parecer científico.

Posteriormente el Sr. Dr. Don Fernando Ocaranza, Director de la Facultad de Medicina, envió al que esto escribe una comunicación en la cual le recomendaba que, con el carácter de Jefe del Laboratorio de Microscopía y Química Clínicas en el Hospital General, dependiente de dicha Facultad, ensayase el método en cuestión, sirviéndose acompañar para tal objeto un folleto original de los autores mencionados, en el cual describen cuidadosamente su reacción, y algunas láminas porta-objetos con anillos de parafina, indispensables para la práctica de ella.

Obligado, pues, tanto por la amable invitación del Dr. Perrín como por la cortés disposición del Dr. Ocaranza, al estudio de la micro-precipito-reacción de Kline y Young, vengo ante vosotros a relataros en este modesto trabajo, el fruto de mis estudios.

Debo anunciaros desde luego, que el número de observaciones que presento, es corto a pesar de mis deseos, pero ello no obstante, lo he creído suficiente para permitirme observar con detenimiento las ventajas e inconvenientes que posee el método estudiado, lo cual no será obstáculo para que, si en el futuro debe modificar mis conclusiones, venga nuevamente a hablaros con sinceridad.

La micro-precipito-reacción de Kline y Young para el diagnóstico de la sífilis, consiste fundamentalmente en lo siguiente:

En una lámina porta-objetos se depositan seis centésimas de c.c. de suero sanguíneo inactivado, se agregan una y media centésimas de c.c. de antígeno de Kahn, previamente titulado conforme a la técnica de este último autor, se mezclan cuidadosamente agitándolas con un palillo de dientes, se dejan en contacto 10' a la temperatura ambiente si ésta es tibia, o en una cámara húmeda moderadamente calentada, si hay frío; vuelven a mezclarse mediante el movimiento de balanceo del porta-objetos durante medio minuto, y se observan por último, al microscopio y a poco aumento, para la apreciación de los resultados.

Descontando los diez minutos de reposo, no se emplean en todas las maniobras descritas, más de cinco minutos.

El examen microscópico de las preparaciones, nos revela una de las cinco imágenes siguientes que voy a tratar de describir para dar idea de ellas a las personas que no han observado la reacción: a) un campo homogéneo, limpio de precipitados, o si acaso con muy escasas granulaciones, finas y aisladas, que se destacan fácilmente en la preparación, *reacción negativa*, que se expresa con el signo —; b) un campo microscópico en el cual hay un puntilleo fino regularmente esparcido, o formando grumos pequeños y poco numerosos, *reacción débilmente positiva*, que se expresa con el signo †; c) un número mayor de grumos diseminados en todo el campo de la preparación, alternando con granulaciones aisladas, *reacción positiva*, que se expresa con dos signos más † †; d) grumos numerosos de tamaño mayor, formados por la confluencia de varios pequeños, y dejando gránulos libres entre ellos, y por último, e) verdaderos islotes voluminosos y abundantes, de grumos y granulaciones confluentes, como aglutinadas entre sí, y que sobrenadan en la preparación; estas dos últimas imágenes corresponderían a una *reacción intensamente positiva*, y se expresarían respectivamente con tres y cuatro signos † † † y † † † †.

Tal sería la descripción teórica de lo que observamos al microscopio, y en la cual he procurado traducir lo más fielmente posible las imágenes objetivas y las microfotografías de los autores de la reacción, publicadas en su folleto relativo.

Conforme a la técnica descrita, y empleando las láminas porta-objetos

recibidas, en las cuales como dije, se han depositado previamente anillos de parafina para contener las siete y media centésimas de c.c. que resultan de la mezcla del suero del enfermo y del antígeno empleados en la reacción, conforme a dicha técnica, repito, he procedido en la práctica de las reacciones que presento acompañando a este trabajo, habiendo hecho además en todos los casos, los métodos de Wassermann y Jacobsthal, para comparar con sus resultados, los obtenidos por la micro-precipito-reacción.

Dichas observaciones han sido agrupadas en tres cuadros, para formar los cuales he estimado como uno solo a los métodos de Wassermann y Jacobsthal, por la consideración bien conocida de que es mayor la sensibilidad de la fijación del complemento en frío durante cuatro horas (método de Jacobsthal), que la que se hace durante una hora en baño María a 37° (método de Wassermann). En tal virtud, he tomado como resultado definitivo de estos dos métodos (cuando hay ligera discrepancia entre ellos), al obtenido con el Jacobsthal, y he comparado con este el que nos dió el método de Kline y Young.

1º—Casos en que hay concordancia en los resultados obtenidos: (cuadro número 1).

NUMS.	ENFERMOS	WASSERMANN	JACOBSTHAL	KLINE
				Y YOUNG
1	Sr. F. C.	NEGATIVA	NEGATIVA	—
2	Sr. C. V.	—
3	Sr. F. M.	—
4	Sr. M. M.	—
6	Sr. A. F.	POSITIVA	POSITIVA	† †
7	Sr. H. V.	NEGATIVA	NEGATIVA	—
8	Sr. Lic. A. G.	—
9	Sra. R. A. de F.	—
10	Sr. J. L.	INT. POS.	INT. POS.	† † †
12	Sr. P. R.	NEGATIVA	NEGATIVA	—
13	Sr. E. O.	—
15	Sr. M. V.	INT. POS.	INT. POS.	† † †
17	Sr. M. V.	† † † †
19	Sr. E. M.	† † †
20	Srita. G. P.	NEGATIVA	NEGATIVA	—
21	Sr. F. A. G.	—
22	Srita. L. L.	INT. POS.	INT. POS.	† † †
23	Srita. T. M.	NEGATIVA	NEGATIVA	—

NUMS.	ENFERMOS	WASSERMANN	JACOBSTHAL	KLINE
				Y YOUNG
24	Sr. E. T.	"	"	—
25	Sra. M. P. de J.	"	"	—
26	Sr. R. H.	INT. POS.	INT. POS.	† † † †
27	Sra. A. O.	NEGATIVA	POSITIVA	† †
28	Sr. R. A.	"	NEGATIVA	—
32	Sr. L. N.	INT. POS.	INT. POS.	† † †
34	Srita. M. A.	NEGATIVA	NEGATIVA	—
37	Niño L. C. I.	"	"	—
38	Srita. L. S.	"	"	—
40	Srita. M. A.	"	"	—
41	Srita. E. R.	"	"	—
45	Srita. M. T.	"	"	—
46	Srita. R. G.	"	DEB. POS.	†
47	Srita. I. L.	"	NEGATIVA	—
48	Srita. M. G.	"	"	—
49	Sr. F. L. T.	"	"	—
54	Sr. R. del R.	"	"	—
56	Srita. D. G.	"	"	—
57	Sr. A. S.	"	"	—
62	Srita. M. E. C.	"	DEB. POS.	†
63	Srita. D. H.	"	"	†
64	Srita. A. P.	"	"	†
67	Sr. J. L.	"	NEGATIVA	—
68	Srita. J. G.	"	"	—
69	Srita. E. E.	"	"	—
71	Sr. J. D.	"	"	—
72	Sr. J. S. C.	"	"	—
73	Srita. D. C.	"	"	—
75	Srita M. A.	"	"	—
76	Sr. M. M.	"	"	—
78	Sra. A. R.	"	"	—
79	Srita. I. E.	"	DEB. POS.	†

29—Casos en que el Wassermann y el Jacobsthal dieron resultados negativos, y positivos en mayor o menor grado la micro-precipito-rreacción; o bien, siendo positivos los primeros, lo fueron en mayor grado con el método microscópico, es decir, hubo un *exceso de reacción* a favor de éste: (cuadro número 2).

NUMS.	ENFERMO	WASSERMANN	JACOBSTHAL	KLINE Y YOUNG
11	Sr. M. L.	NEGATIVA	NEGATIVA	† †
14	Sr. H. H.	„	„	†
18	Srita. C. O.	„	DEB. POS.	† †
30	Sr. E. R.	POSITIVA	POSITIVA	† † † †
33	Srita M. R.	NEGATIVA	NEGATIVA	† † †
35	Sr. A. A.	„	„	† † † †
42	Srita. J. V.	„	„	†
43	Sra. R. C. de B.	„	„	†
44	Srita: L. M.	„	„	†
50	Srita. C. G.	„	„	†
51	Sra. A. F.	„	„	†
52	Sr. J. J. S.	„	„	†
53	Sra. P.	„	„	†
55	Sr. J. M.	„	„	†
58	Srita. M. C. M.	„	„	†
59	Sr. G. P. C.	„	„	† †
61	Sr. J. R.	POSITIVA	POSITIVA	† † †
65	Srita. V. V.	NEGATIVA	NEGATIVA	†
66	Srita. M. M.	„	„	†
74	Srita. P. M.	„	„	†
80	Srita. D. M.	„	„	† †

30—Casos en que el Wassermann o el Jacobsthal dieron resultados positivo más o menos intenso, y el método microscópico dió resultado negativo, o positivo en menor grado; hubo *déficit de reacción* en el método de Kline y Young: (cuadro número 3).

NUMS.	ENFERMO	WASSERMANN	JACOBSTHAL	KLINE Y YOUNG
5	Sr. J. C.	INT. POS.	INT. POS.	†
29	Sr. J. A. Z.	POSITIVA	„	—
31	Sra. V. C. E.	„	POSITIVA	—
36	Sr. S. A. L.	INT. POS.	INT. POS.	† †
39	Sr. A. S.	„	„	† †
70	St. H. D. R.	NEGATIVA	DEB. POS	—
77	Sr. E. S.	INT. POS.	INT. „	† †

De la inspección cuidadosa de los cuadros anteriores se desprende que hubo concordancia en los resultados obtenidos en cincuenta observaciones y discordancia en veintiocho, de las cuales veintiuna expresan un exceso de reacción para el método de Kline y Young, y siete indican un déficit de reacción de dicho método.

Estas discordancias encontradas, bastan en nuestro concepto, para afirmar que la micro-precipito-rreacción no satisface en lo absoluto el *desideratum*, como método seguro y digno de toda confianza para el diagnóstico de la sífilis.

Pero es indispensable fundar esta afirmación y para hacerlo, vamos a enumerar los inconvenientes que hemos encontrado al método que nos ocupa:

I.—Desde luego, el examen microscópico de las preparaciones es el primero de los inconvenientes con que tropezamos, porque el aumento que dá el aparato, hace que observemos en muchos casos partículas que quizá nada tienen que ver con el precipitado específico de la reacción, e inducen a error a observadores poco atentos y a los no debidamente preparados.

Es en este momento cuando debo hacer notar que el suero en estudio ha de ser perfectamente límpido, y no tendrá en suspensión impurezas ni elementos de la sangre, especialmente hematíes, que pueden dificultar la observación y falsear los resultados.

Es también este el momento de decir que el factor personal influye mucho en la apreciación de los resultados, ya que dos observadores distintos no interpretan las imágenes microscópicas de la misma manera, y lo que para uno sería verbigracia, reacción *débilmente positiva* designada con el signo más †, para otro sería reacción *positiva* que habría que designar con dos signos más † †, lo cual como fácilmente se comprende es motivo de error (hemos tenido ocasiones diversas de comprobar esta afirmación y sus consecuencias, en la interpretación de los resultados obtenidos).

II.—En ocasiones se observan precipitados en las mezclas de antígeno y suero en estudio, que pudieran estimarse específicos; pero nos ha ocurrido que si al mismo tiempo se observa una mezcla de antígeno diluido y suero fisiológico, en iguales cantidades y con la misma técnica de la reacción, presenta a veces precipitados en cantidad semejante; en tales casos, hay que tener en cuenta estos precipitados para la apreciación de los resultados en las reacciones practicadas y por ello estimamos indispensable hacer siempre una preparación testigo del antígeno, para la apreciación de los resultados finales.

Además, es conveniente preparar solo una pequeña cantidad de antígeno, la que ha de emplearse en un plazo no mayor de 30 minutos, porque hemos observado que una mezcla de antígeno diluido y suero fisiológico,

sin precipitados al momento de prepararla, los presenta más tarde, si se hace una nueva mezcla de ambas substancias media hora después de la dilución antigénica.

III.—El tiempo transcurrido entre la mezcla suero-antígeno, y la observación de las preparaciones, es factor muy importante en los resultados obtenidos; los autores de la reacción han fijado un plazo de 10 minutos (ignoro con qué criterio), y a nosotros nos ha ocurrido hacer observaciones en series de diez en diez minutos, de una misma preparación, y haber observado que preparaciones sin preparación en la misma observación (reacciones negativas), presentan un buen número de ellos en la segunda ocasión † † (reacción positiva) y una enorme abundancia en la tercera observación † † † (reacción intensamente positiva); el mismo fenómeno ocurre en las preparaciones testigos del antígeno, es decir, en las mezclas de antígeno diluido y suero fisiológico; por lo tanto el factor *tiempo* es capital, y sobre él no han insistido Kline y Young en lo absoluto, y mucho menos dándole la importancia que en mi concepto debe concedérsele.

IV.—Es conveniente practicar la reacción con suero recientemente obtenido, porque de no ser así, se observan precipitados bastante aparentes que darían reacciones falsamente positivas en caso de sueros negativos, y otras más intensamente positivas de lo que correspondería realmente a la reacción.

Ocurre en este caso algo semejante a lo que pasa cuando se hace una reacción de Wassermann con suero envejecido, que se torna anticomplementario si no lo era antes, o aumenta dicha propiedad si ya la presentaba desde el principio; pero si en el método de Wassermann podemos luchar contra los sueros anticomplementarios mediante la titulación previa del complejo hemolítico, preconizada por Ronchése, no tenemos el mismo recurso u otro semejante en el método de Kline y Young, y por lo tanto no podemos interpretar correctamente estas reacciones de falsos resultados.

Y esta dificultad aumenta más porque no hay paralelismo en las transformaciones de estos sueros al hacerse anticomplementarios, es decir que no todos los sueros reaccionan de la misma manera al cabo de algunos días, ya que hemos visto que algunos sueros, negativos en la primera observación, dan reacción positiva († †), diez días después, estudiados en ambos casos por el método microscópico; y otros, igualmente negativos, dan reacción intensamente positiva († † † y hasta † † † †), también diez días más tarde, ambas observaciones hechas por el método de Kline y Young.

V.—Por último, apenas si es necesario decir algunas palabras sobre la limpieza de los porta-objetos con anillos de parafina en que han de hacerse las observaciones; sobre ello insisten especialmente Kline y Young; y sin embargo, quedan a veces pequeños precipitados microscópicos de parafina

en el espacio limitado por los anillos (así ha ocurrido en varios de los que nos fueron enviados para nuestra práctica), y tales precipitados dificultan la observación e inducen también a error.

Por lo demás, no es sencillo el aseo de dichas láminas porta-objetos ya que es fácil desprender el anillo de parafina, y si es cierto que su ejecución ha de ser sencilla con poca práctica que se tenga, yo preferiría emplear porta-objetos con una o más excavaciones, que aunque más costosos, son susceptibles de ser mejor aseados, suprimiendo así esta causa de error.

Resumiendo lo anteriormente expuesto podemos concluir que la micro-precipito-rreacción de Kline y Young, presenta en nuestro concepto, ventajas e inconvenientes.

Las primeras son: (a) que requiere una cantidad muy pequeña de suero para ser practicada, (b) que su técnica es sencilla, (c) que se necesita un tiempo mínimo para ejecutarla.

Y los inconvenientes varían. (a) que requiere el empleo del microscopio y este, al aumentar las imágenes, puede inducir a interpretaciones falsas de los resultados, (b) que a veces se observan precipitados en las mezclas de suero fisiológico y antígeno diluido, y si no se tienen en cuenta, se corre el peligro de interpretar en forma indebida los que se observan en las reacciones practicadas, (c) que si se prolonga el plazo de diez minutos entre la preparación de las reacciones y su observación, se encuentran precipitados más abundantes de lo que deberían ser, y esto falsea los resultados, (d) que si se practica la reacción con suero no reciente, se obtienen resultados falsamente positivos, que no ocurrirían en el caso contrario, (e) que es indispensable el perfecto aseo de los porta-objetos empleados en la reacción, o la substitución de estos por láminas con excavaciones que pueden ser mejor aseadas.

Por estas razones expresaba yo en alguna de las páginas anteriores, y voy a repetir mis palabras para dar fin al presente trabajo, que en mi concepto, la micro-precipito-rreacción de Kline y Young no satisface en lo absoluto el *desideratum*, como método seguro y digno de toda confianza para el diagnóstico de la sífilis.

