

## Técnica práctica para el serodiagnóstico de la Tuberculosis por la reacción de enturbiamiento a la resorcina

por

A. Castelli

(Recibido por la Redacción el 28-XII-38)

En 1925 Arthur Vernes propuso una reacción de floculación para el diagnóstico de la tuberculosis, mediante la adición a los sueros de solución de resorcina pura en agua bidestilada, al 1,25%. Con esta adición Vernes obtenía una opacificación del suero, más o menos marcada en los tuberculosos.

Medía esta opacidad con un fotómetro, y después de varias experiencias, llegó a la conclusión que un índice de opacidad superior a 30 de su indicador (galvanómetro anexo al fotómetro), suponía la existencia de la tuberculosis, más acentuada cuanto más elevado estaba este índice.

Esta reacción, según Vernes y sus colaboradores, además de hacer el diagnóstico, serviría para controlar la evolución del proceso y los resultados del tratamiento.

Controlada después la reacción, ha venido a ser confirmada como eficaz por la mayoría de los autores que sucesivamente se han ocupado de ella, aunque no falten algunos que han puesto en duda su especialidad.

Algunos, además, darían tal importancia práctica a esta reacción que la propondrían para revelar casos de tuberculosis latentes en los jóvenes llamados a la conscripción militar.

Pero la ejecución de esta reacción, según la técnica propuesta por el autor, presenta, desde el punto de vista práctico, el inconveniente de que requiere de un aparato costoso y delicado que no está al alcance de cualquier médico práctico de un pequeño laboratorio, y además, tiene el inconveniente de necesitar una doble lectura, que alarga el proceso. Estos dos hechos vienen a quitarle gran parte de su valor práctico a esta reacción.

Con este objeto, me he propuesto ver si fuese posible encontrar una simplificación del método, de manera que estuviera al alcance de cualquier médico práctico, prescindiendo del fotómetro y de la doble lectura y que diese, al mismo tiempo, resultados satisfactorios.

He encargado al Dr. Darío Lillo hacer las experiencias necesarias, cuyo resultado dará más adelante.

Vernes emplea suero fresco de sujeto enfermo, obtenido en ayunas y decantado, al cual adiciona de una parte igual de solución de resorcina pura en agua bidestilada al 1,25% (0,6 cc. de suero y 0,6 cc. de resorcina); trasvasa la mezcla a la cuba del fotómetro y hace una primera lectura inmediatamente; la deja durante 4 horas a la temperatura ambiente (18 a 20°) y vuelve a hacer una segunda lectura; la diferencia entre estas dos lecturas expresa en índice fotométrico el resultado de la observación.

El Dr. Lillo, por mi consejo, en un primer tiempo ha repetido la reacción, según la técnica ya expuesta, prescindiendo del fotómetro, que falta en nuestro laboratorio, y ha podido constatar que los sueros de tuberculosos floculan más rápida e intensamente que los normales y entre los mismos sueros tuberculosos, más rápida e intensamente todavía, aquellos pertenecientes a formas más graves, en comparación con otros provenientes de formas más leves.

La segunda lectura, efectuada 4 horas después, no presentaba una diferencia apreciable a ojo desnudo, con la primera.

Hacen excepción los sueros de enfermos febriles (reumatismo agudo, tífus exantemático y otras enfermedades infecciosas) que, a veces, pueden flocular con intensidad superior a aquella de los sueros normales, pero que después del período febril, al ser sometidos nuevamente a la reacción, se comportan como los sueros normales.

Hecho esto se propuso ver si era posible obtener una más fácil apreciación del enturbiamiento y sorprender el momento en el cual se inicia, mezclando soluciones variables, tanto de suero como de resorcina.

Para el objeto se sirvió de tubos de serología, muy bien lavados con agua destilada y colocados en una gradilla. En cada uno de ellos colocaba una parte de agua bidestilada ( $\frac{1}{2}$  cc.) y en seguida agregaba al primer tubo la misma cantidad de suero del enfermo ( $\frac{1}{2}$  cc.) obtenido en ayunas; de la mezcla del primer tubo tomaba  $\frac{1}{2}$  cc. y lo agregaba al segundo y de esta segunda mezcla  $\frac{1}{2}$  cc. al tercero y así sucesivamente, hasta obtener una escala de diluciones en la siguiente forma: 1 : 1, 1 : 2, 1 : 4, 1 : 8, etc., etc.

Lo mismo hizo con la resorcina, partiendo de una solución al 10% en agua bidestilada.

De este modo pudo constatar que el suero puro retarda notablemente la floculación, mientras el muy diluido tiene el inconveniente de ser excesivamente sensible, de manera que flocula, aún, con pequeñas cantidades de reactivo, lo que dificulta hacer una diferenciación exacta entre los sueros de sanos y enfermos.

Después de numerosas tentativas obtuvo la convicción que las diluciones óptimas para la floculación, con adición del mínimo de reactivo, eran aquellas del suero con agua bidestilada al 1 : 1 y resorcina al 1,5%.

En un segundo tiempo se ha propuesto buscar una técnica para medir la rapidez e intensidad de la floculación, observando

la cantidad de reactivo necesario para obtenerla. Para el efecto se sirvió de una microbureta (de 1 cc., graduada en centésimas) y con ella agregaba gota a gota la solución de resorcina al suero, hasta obtener la floculación.

Cada gota de la microbureta corresponde a 3 centésimas de cc.

Con esta técnica ha podido, efectivamente, constatar que, mientras los sueros de tuberculosos presentaban un enturbiamiento con la adición de un mínimo de 3 a un máximo de 15 gotas (0,45 cc.), según la intensidad de la infección, los sueros de sanos, con esta cantidad, permanecían constantemente límpidos.

Se puede, por lo tanto, afirmar que los sueros de tuberculosos diluidos al 1 : 1 floculan con la adición de 0,10 a 0,45 cc. (3 a 15 gotas) y tanto más rápida e intensamente cuanto más grave es la infección. Los sueros de individuos sanos, por el contrario, floculan todos con una cantidad de gotas superior a 20, normalmente de 20 a 40.

Queda, de esta manera, entre 15 y 20 gotas, una zona dudosa, que hace necesaria la repetición de la reacción, con intervalos de días o meses, para ver el momento en que se produce la infección tuberculosa o ha desaparecido el peligro de ella.

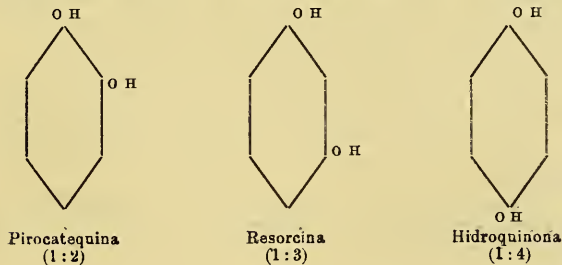
Esta sería una zona que podríamos llamar "de alarma".

Con la idea de buscar la acción del complemento en esta reacción, hizo experiencias con sueros calentados a 56° durante media hora: el resultado fué una disminución notable en la sensibilidad de la reacción, necesitándose un mayor número de gotas de solución de resorcina para producir la floculación, pero la relación entre sueros normales y enfermos no se alteraba.

Se propuso también ver si el envejecimiento de los sueros podía ser un factor de error para la sero-floculación (hecho muy interesante, si se toma en cuenta que podrían enviarse sueros de lugares distantes al Laboratorio) y con este objeto repitió las experiencias con sueros guardados por tres a cinco días, a los que ya, previamente, había sometido a la reacción de sero-floculación; los resultados obtenidos concordaron exactamente con los dados por los sueros frescos.

En fin, le ha parecido oportuno, sabiendo que la fórmula de la resorcina es  $C_6H_4(OH)_2$ , ensayar sus isómeros para ver si, eventualmente, podrían sustituirla con ventajas.

Dichos isómeros son la Hidroquinona y la Pirocatequina, que respectivamente tienen las siguientes fórmulas químicas.



Ha hecho, por lo tanto, numerosas experiencias con estos isómeros, de las cuales ha resultado que la Pirocatequina tiene un poder floculante muy inferior a la resorcina y el defecto de alterarse rápidamente con la luz.

La Hidroquinona podría ofrecer la ventaja de flocular con los sueros normales sólo con dosis mucho más elevadas que la resorcina, pero también flocula con dosis relativamente elevadas con los sueros enfermos, mostrando una sensibilidad relativamente inferior. Pero como prácticamente no flocula con los sueros normales (por la gran cantidad que se necesita para ello) su resultado positivo asumiría un valor casi absoluto y un resultado negativo tendría sólo un valor relativo. Además, tiene el mismo inconveniente de la Pirocatequina, de alterarse fácilmente con la luz.

## CONCLUSIONES

En virtud de estas experiencias, se puede afirmar:

1.º—Que la resorcina es indudablemente un sensible floculante de los sueros tuberculosos y que no puede ser substituída ventajosamente por sus isómeros.

2.º—Que las mejores proporciones de dilución para obtener la floculación rápida y sensible son: suero y agua bidestilada al 1 : 1 y resorcina al 1,5%.

3.º—Que la valoración, mediante el índice opacimétrico se puede, prácticamente substituir por aquella de la cantidad de reactivo para obtener la floculación.

**TECNICA.** — Se propone, por lo tanto, para el diagnóstico práctico de la tuberculosis, mediante la floculación, el siguiente método:

Extraer la sangre del enfermo o individuo sospechoso, en ayunas y dejándola dar suero.

En un tubo de ensayos del tipo usado en serología, lavado con agua destilada y perfectamente transparente, adicionar suero diluído a partes iguales con agua bidestilada. En seguida, sirviéndose de una microbureta de 1 cc. (graduada en centésimas), agregar tantas gotas de resorcina, como sean necesarias, hasta obtener un enturbiamiento permanente del suero.

Se puede considerar un suero como tuberculoso si su enturbiamiento se verifica con la adición de 3 a 15 gotas; mientras menos gotas se empleen mayor será la gravedad del proceso.

De 15 a 20 gotas la infección es dudosa. De 20 para arriba, se puede considerar al sujeto como exento de toda lesión tuberculosa.

La microbureta puede ser reemplazada, prácticamente, por una pipeta corriente de 1 cc. graduada en centésimas, o en su defecto en décimas.