

INFORMACIONES BIOLÓGICAS

Tratado de Anatomía Biológica del Doctor CARANDE.
 Bacteriología de PORTER y SAUNDERS.
 Manual de Anatomía Histológica por el Doctor WILSON.
 Anatomía Orgánica por el Doctor PORTER.
 Anatomía General de los Vertebrados por el Doctor CARANDE.
 Tratado de Anatomía Histológica de PORTER y SAUNDERS.
 Tratado de Anatomía por el Doctor CARANDE.
 La fisiología de las plantas por el Doctor SAUNDERS.
 Tratado de Anatomía Histológica por el Doctor CARANDE.

Edición de 1914 - 1914

La fisiología vegetal de SAUNDERS, 1914.

Tratado de Anatomía Histológica, 1914.

Tratado de Anatomía Histológica, 1914.

Tratado de Anatomía Histológica, 1914.

x-rite

colorchecker CLASSIC



Pag-1-

MODIFICACIONES A LA TECNICA DE ABDERHALDEN Y NUEVAS APLICACIONES

--- P R O L O G O ---

Excmo. Sr.
Señores.

Ruego me sea permitido aportar mi modesto esfuerzo, sin pretender descorrer el velo en cuestiones planteadas por eminentes hombres de ciencia, principios y orientaciones que sirven de faro luminoso que atraen y sugestionan, sintiendome en este caso representar el papel de un simple lepidóptero que se acerca a la luz prendido por sus bellezas.

Ramon y Cajal en su libro de orientación dedicado a los noveles investigadores, titulado REGLAS Y CONSEJOS SOBRE INVESTIGACION BIOLOGICA, afirma "Que el primer descubrimiento es el que cuesta, siendo los demas correlarios del primero. Doctrina sabida es y proclamada por filósofos como



CE 5305723764



pag-2-

taine y por científicos como Tyndall, que todo problema resuelto, plantea infinidad de nuevas cuestiones y que el descubrimiento de hoy, contiene en germen los descubrimientos del mañana. La cima de la verdad con tantos esfuerzos escalada, que mira desde el valle semejaba montaña imponente, no es sino minúscula estribación de formidable cordillera que se columbra a través de la niebla". Evidentemente que tales reflexiones se sienten cuando publicado un hecho nuevo se quieren sacar el máximo de consecuencias, abriendo un mundo al curioso que quiere indagar un poco y muy especialmente cuando son los trabajos prácticos o experimentales los que guían y enseñan mejor que nada la orientación que surge a cada paso como eslabones de una cadena sin fin.

Gracias a la benevolencia del ilustre Decano de la Facultad de Medicina de Barcelona Dr. MARTINEZ VARGAS, conseguí desde hace ya seis años, ocupar un puesto de honor, bien a pesar mio inmerecido, en la dirección de uno de los laboratorios de Analisis Clinicos anejos a dicha

Facultad, habiendome sido confiados un sinnúmero de problemas, alguno de los cuales no he sido lo suficientemente afortunado en resolver, ganándome bastantes fracasos y muy justas y motivadas censuras, cuyo origen se debe indiscutiblemente a la falta de preparación necesaria que requiere sin duda algunos métodos delicados, como el de la Técnica de Abderhalden para la investigación de fermentos defensivos en la sangre, problema que me ha preocupado por sus mismas dificultades ya señaladas por su autor, indicando que tan solo el práctico adquiere algún dominio sobre si mismo, cuando practicadas cien reacciones positivas todas ellas han respondido con exactitud en sus resultados, alentando no obstante en el prólogo de su obra a proseguir en su método fundamental completando el edificio levantado con aportaciones de nuevos datos, sin despreciar el concurso de obreros modestos algunos de ellos como el que suscribe si bien animado de buena voluntad, en cambio falto de conocimientos suficientes e inspiración necesaria para aspirar a llamar la atención que todos mis trabajos han sido orientados en un primer momento por

atención en mis humildes trabajos. Para la investigación de los fermentos defensivos de la sangre Abderhalden ha señalado dos caminos, el método óptico y el de diálisis, no estando ambos exentos de dificultades, rodeados de un cúmulo de detalles tan minuciosos, que el analista títubea en un ambiente de incertidumbres, capaces de malograr el éxito de la operación, de ahí dimana la idea de intentar o hallar alguna modificación de técnica en el método de la diálisis que evitando los inconvenientes de los dializadores, permitiera separar las albúminas de las peptonas, formadas a expensas de los fermentos específicos mediante unos medios puramente químicos de precipitación. Los resultados obtenidos y experiencias realizadas, las expongo al criterio de tan elevado tribunal que ha de juzgar mi labor, cuya finalidad ha de reportarme en caso afortunado la consecución del para mi tan deseado título de Doctor en Farmacia.

Al finalizar este pequeño prólogo, me interesa hacer constar que todos mis trabajos han sido orientados en un prisma puramente far-

PRELIMINARES obtenidos.

Abderhalden, ha comprobado la presencia de unos fermentos que se producen en la sangre a expensas de ciertos elementos que entran en el organismo, ya sea por la vía parenteral o como consecuencia de ciertos estados patológicos y también durante el embarazo. Entre el grupo de estos antígenos podremos incluir los hidratos de carbono, albúminas, células de variado origen, bacterias, ofreciéndose ancho campo a la investigación de los nuevos compuestos que pudieran catalogarse entre estas categorías. Una vez sentado también aunque no de una manera absoluta el principio de la especificidad de dichos fermentos, dió a conocer una técnica para su investigación. (Emil Abderhalden, Fermentos defensivos del organismo animal. - Traducción española del malogrado Doctor Palmau.)

Dando por conocidos el fundamento y técnica empleada por el citado autor, tan solo he de circunscribirme a lo que motiva el objeto de la presente memoria, o sea el ensayo de nuevas modificaciones del

RESUMEN

que se producen en la sangre a expensas de ciertos elementos que entran en el organismo ya sea por la vía parenteral o como consecuencia de otros estados patológicos y también durante el embarazo. Entre el grupo de estos antígenos podemos incluir los hidratos de carbono, sílice, etc., de origen bacteriano, oxiendosidos, etc., que se encuentran en la investigación de los nuevos compuestos que pudieran catalizarse entre estas categorías. Una vez realizado también cuando no de una manera absoluta el principio de la especificidad de dichos fermentos, dió a conocer una idea para su investigación (Emil A. Abderhalden, fermentos defensivos del organismo animal - Traducción española del maestro Doctor Palma).

Trabaja por conocer el fundamento y técnica empleada por el citado autor, tan solo se de transcribir a lo que motiva el objeto de la presente memoria, o sea el ensayo de nuevas modificaciones del

método con sus aplicaciones y resultados obtenidos.

Practicando la investigación de los compuestos desintegrados por un antígeno placentario, después de llevadas a cabo 43 reacciones cuyos resultados constan en el archivo del Laboratorio de la Facultad de Medicina de Barcelona, y vistas las dificultades con que se tropieza durante la diálisis cuyos dializadores unas veces por exceso de permeabilidad y otras por defecto, motivan frecuentes errores, concebí la idea de prescindir de tales utensilios, colocando al efecto el antígeno y suero problema así como los testigos en tubitos de cristal como los que utilizamos en la reacción de Wassermann, siguiendo la técnica clásica de colocación ^{de} la estufa a 37 grados, si bien en vez de 16 horas llego a 36 para conseguir una desintegración mas eficaz de las albúminas.

Transcurrido el tiempo indicado, se saca cuidadosamente con una pipeta el líquido de cada tubo colocándolo en otros previamente

preparados y numerados correspondientes a cada tubo primitivo. Ahora bien, para cerciorarse de la presencia de los productos de desintegración, deberemos antes separar las albúminas que restan sin desintegrar valiendome para ello del método que Schmidt recomienda para la separación de las mismas en las orinas, (tomo tercero, pagina 1108) tecnica que se circunscribe a lo siguiente:

Al líquido de cada tubito se añade unas gotas de solución de acetato sódico al 2 por 10.

Cloruro férrico a gotas hasta color rojo obscuro.

Legia de sosa, hasta dejar ligera acidez, (esta se determina haciendo un toque con un capilar en una hojita de papel tornasol)

Se hierve. Para ello se utilizo los siguientes recipientes. Se filtra.

El líquido filtrado no debe acusar la presencia de albúmina (como tampoco la presencia del hierro libre de combinación de los proteínatos formados). La reacción de boedecker o sea, el ferrocianuro acé-

tico cumple este doble objetivo, consistiendo en añadir a cada cinco gramos de líquido, de dos a tres gotas de ácido acético diluido, hasta la reacción marcadamente ácida y unas gotas de solución de ferrocianuro potásico, no debiéndose formar copos finos blanco amarillentos, como tampoco enturbiamiento opalino o anacarado, (negativo de albúminas) así mismo un precipitado azul de ferrocianuro férrico revelaría la presencia de sales férricas libres.

Conseguida la separación de las albúminas propiamente dichas, solo resta averiguar en los líquidos que se ensayan, la presencia de las materias proteicas transformadas por metamorfosis regresivas, revelando en caso positivo la existencia de los fermentos específicos cuya determinación se trata de demostrar. Para ello he utilizado los siguientes reactivos, cuyo juicio crítico me propongo exponer.

Reacción del Biuret. - De él he sacado excelente partido conforme podrá verse en los resultados de las experiencias realizadas, acusando la existencia de las peptonas, dato suficiente para dar la reacción como posi-

preparados y numerados correspondientes a cada una primitiva, ahora bien, para caracterizar de la presencia de los productos de hidrólisis, debiéndose antes separar las albúminas que restan en el destilado, valiéndose para ello del método que Schmidt recomienda para la separación de las mismas en las urinas, (tomo tercero, página 110) técnica que se transcribe a lo siguiente:

Al líquido de cada tubo se añade una gota de solución de ácido acético al 2 por 10. Se agita vigorosamente a gotas hasta color rojo obscuro. Se deja reposar hasta dejar libre el líquido. (esta se determina haciendo un ensayo con un capilar en una hoja de papel tornasol)

El líquido filtrado no debe mostrar la presencia de albúminas (como tampoco la presencia del nitro libre de combinación de los productos formados). La reacción de biuret o sea, el ferrocianuro férrico

los compuestos de este tipo, constando en su estructura de un grupo amino y un grupo carboxilo, y una parte de la molécula formada por los elementos de los aminoácidos, como las proteínas, no deberían formar líneas difusas amarillentas, como las que se observan en el espectro de absorción de algunos aminoácidos (negativo de azarado, negativo de almidón, etc.).

Consecuencia de la separación de las albúminas por el método de Salkowski, la presencia de las proteínas en el líquido que se ensaya, la presencia de las proteínas en el líquido que se ensaya, la presencia de las proteínas en el líquido que se ensaya, etc.

Resolución del Huxley. - Se él ha sacado excelente partido conforme por los resultados de las experiencias realizadas, cuando la presencia de las proteínas, dato suficiente para dar la resolución como por...

tiva, si bien en los casos negativos subsiste la duda, toda vez que si bien el desmoronamiento de las moléculas proteicas, puede llegar al límite de los abiuréticos, en cuyo caso este reactivo no nos acusaría la presencia de los elementos formados a expensas de los fermentos específicos. Reactivo que se hace tanto más sensible, a medida que nos acercamos a los grupos formados por evolución progresiva.

Acido Fosfowolfrámico. - Reactivo de las peptonas, siguiendo la técnica de Salkowski, método que podrá dar buenos resultados cuando es abundante el líquido en que se opera, mas cuando convenga no desperdiciar gota de líquido, como en este caso, se pierde en filtraciones y separaciones del filtrado, la masa parda resinosa precipitada por el ácido fosfowolfrámico, se disuelve en una solución de hidróxido sódico en cuya solución se añaden unas gotas de sulfato cúprico al dos por ciento, dando una coloración violeta. (alcofir biuret modificado). Método rechazado por los motivos anteriormente expuestos.

Minhydrina. (Nombre comercial registrado) Hidrato de Triketonhidrindeno.
 Reactivo de los albuminóides, peptonas, polipéptidos y amino
 ácidos. Por el enunciado se nota que llega a un grado de sensibilidad
 mayor que el Biuret. Reactivo de elección según Abderhalden, preparado
 en solución acuosa al uno por ciento, es un polvo cristalino blanco a-
 marillento que expende la casa Meister Lucius en unos tubitos de cris-
 tal en cantidad de diez centigramos. Las reacciones positivas dan una
 coloración violeta mas intensa a medida que la desintegración pase los
 límites de las peptonas, caso inverso a lo que sucede con el biuret. Los
 inconvenientes de este reactivo, dimanar algunos de su extremada sensi-
 bilidad, el mismo sudor de los dedos si al agitar un tubo no se ha te-
 nido la precaución de hacerlo sin el concurso de los mismos, podría ser
 causa de error, la mayor o menor concentración de líquido tambien cons-
 tituye un serio peligro, de ahí dimanar una serie de detalles sumamente
 meticulosos que Abderhalden señala en su técnica. Además de estos in-

(Nombre comercial registrado) Hidrato de triketohidroxibenzoyl
 Reactivo de los aluminidos, peptonas, peptidos y amino
 ácidos. Por el ensayado se nota que llega a un grado de sensibilidad
 mayor que el Síntet. Reactivo de elección según Abderhalden, preparado
 para solución con agua si uno por ciento, es un polvo cristalino blanco e-
 xcelente que expone la casa Meister Lucius en unos frascos de cris-
 tal en cantidad de diez centigramos. Las reacciones positivas dan una
 coloración violeta con intensa a medida que la desatención pasa los
 límites de las peptonas, como favorece a lo que sucede con el Síntet. Los
 inconvenientes de este reactivo, disminuyen algunos de su extrema sensi-
 bilidad, el mismo poder de los dedos al aplicar un tubo no se ha re-
 nido la presencia de hacerlo sin el concurso de los mismos, podría ser
 causa de error, la mayor o menor concentración de líquido también con-
 tituye un serio peligro de ahí dimana una serie de detalles aconsejados
 metódicos que Abderhalden señala en su técnica. Además de estos in-

convenientes de índole puramente científica, debemos añadir otros no
 menos importantes, que restringen el campo de las investigaciones, hoy
 en día se hace verdaderamente difícil adquirir estos reactivos, la gue-
 rra ha motivado un desorden tal, que el que posea alguna cajita debe
 guardarla cuidadosamente en la seguridad de no poderla reemplazar, en
 Barcelona se agotó todos los medios, no hay manera de mandar a buscar
 En mi reciente viaje a París, anduve de casa en casa sin poder hallar
 ni un solo reactivo que fuere de procedencia alemana, en el Instituto
 Pasteur si bien en uno de los pisos altos que dan a la calle Dutot se
 ha instalado un Laboratorio dedicado a las materias colorantes y otros
 reactivos delicados que expenden con la marca R.A.L. no obstante el reac-
 tivo que nos ocupa nadie lo prepara a excepción de la Casa Lucius, es-
 tando persuadido que permanece secreto el método de obtención del mis-
 mo.

Animado con la idea de obtener un reactivo que se amoldara

CAPITULO PRIMERO

Conejo n° 2, peso: tres kilos, trescientos gramos.
 Inyección peritoneal de cinco c.c. del líquido preparado en las condiciones anteriores, ocho días después recibe otra, hasta llegar sucesivamente a la cuarta, durante la cual teniendo una muerte por anafilaxia, puesto que se habían presentado unos síntomas alarmantes al conejo n° 1. Peso: dos kilos, trescientos gramos.

Se le practicó una inyección endovenosa, sirviéndome de una de las venas marginales de la oreja, inculándole unos cinco centímetros cúbicos de un líquido que contenía los elementos desintegrados a expensas de los fermentos del suero de una embarazada, habiendo actuado en este caso la placenta como antígeno, y separadas las albúminas restantes según el método químico por precipitación. Ocho días después recibe otra inoculación igual a la anterior, dentro del plazo de unas siete horas, el animal sucumbía, presentando como síntomas, tetania, babeo, y secreción de humor acuoso en los ojos (anafilaxia).

CAPITULO PRIMERO

EXPERIENCIAS REALIZADAS A CONSEGUIR UN REACTIVO ANTITOXICO

AL OVARIO QUE SE TRABA

Para ello fueron destinados seis conejos.

Conejo n° 1. Peso: dos kilos, trescientos gramos.

Se le practicó una inyección endovenosa, aliviándose de una
de las venas marginales de la oreja, inyectándose una dosis equivalente
de un líquido que contenía los elementos designados a exper-
tar de los fermentos del suero de una embraxada, habiendo actuado en
este caso la placenta como antígeno y separada las albúminas resistan-
tes según el método descrito por precipitación. Ocho días después recibió
otra inyección igual a la anterior, dentro del plazo de una semana
después el animal sucumbió, presentando como síntomas, tetania, babeo y se-
creción de humor acuoso en los ojos (anafilaxia).

Conejo n° 2. Peso: tres kilos, ochocientos cuarenta y cinco gramos.

Inyección peritoneal de cinco c.c. del líquido preparado en
las condiciones anteriores, ocho días después recibe otra, hasta llegar
sucesivamente a la cuarta, durante la cual temiendo una muerte por ana-
filaxia, puesto que se habían presentado unos síntomas alarmantes al ca-
bo de unas horas, dando saltos en su jaula, me obligaron a practicarle
una sangría, (corte de la carótida) separando el suero consiguiente para
mis ulteriores ensayos.

Conejo n° 3. Peso: tres kilos, doscientos gramos.

Inyección endovenosa como en el conejo señalado con el n° 1.
hasta llegar a cinco, ocho días después practicaba la sangría correspon-
diente.

Conejo n° 4. Peso: dos kilos, setecientos gramos.

Inyección endovenosa, como en el caso n° 1, llegando a seis,
desconfiando alcanzar mayores títulos por que el animal enflaquecía,

me decido a sangrarle.

Conejo n° 5. Peso; dos kilos, cuatrocientos gramos.

Inyección peritoneal, como el señalado con el número 2. El animal sucumbió sin haber llegado a la cuarta inoculación.

Conejo n° 6. Peso; un kilo, novecientos gramos.

Recibe una sola inoculación peritoneal a dosis masiva 30 c.c. del líquido, ocho días después el animal fué sacrificado practicándosele una sangría en la carótida.

RESUMEN.

Durante el decurso de dichas experiencias, habia obtenido sueros debidamente preparados de cuatro conejos, en la siguiente forma:

<u>Conejo n° 2</u>	4	inoculaciones peritoneales
id. n° 3.....	5	id. endovenosas
id. n° 4.....	6	id. id.
id. n° 6.....	1	id. peritoneal a dosis masiva.

Conejo n° 2. Peso; tres kilos, ochocientos gramos y otros gramos.
Inyección peritoneal de cinco c.c. del líquido preparado en las condiciones anteriores, ocho días después recibe otra, hasta llegar sucesivamente a la cuarta, durante la cual teniendo una muerte por una flexión, puesto que se había presentado una inflamación al no poder moverse, dando salida en su frente, se obligaron a practicarle una sangría (parte de la carótida) separando el suero correspondiente para sus ulteriores ensayos.

Conejo n° 3. Peso; tres kilos, ochocientos gramos.

Inyección endovenosa como en el conejo señalado con el n° 1, hasta llegar a cinco, ocho días después practicada la sangría correspondiente.

Conejo n° 4. Peso; dos kilos, ochocientos gramos.

Inyección endovenosa, como en el caso n° 1, llegando a seis, descomulgando al animal por que el animal enfermó.

El suero se separaba del coágulo espontáneamente dejándolo algunas horas a la temperatura ambiente, sin esperar a que hemolizáranse los eritrocitos enmasararan su color, teniendo a veces que recurrir a centrifugaciones toda vez que el desideratum consistía en obtener un líquido completamente límpido, requisito enteramente indispensable. Otra de las condiciones aconsejadas por los libros, consiste en someter el animal de doce a diez y ocho horas en ayunas, con el objeto de evitar los enturbiamientos y opalescencias provocadas por las albúminas procedentes de la digestión. En cuanto a los detalles de técnica, he seguido las instrucciones marcadas por el Doctor, Luigi Viganó, en su "MANUALE DI TECNICA SIERODIAGNOSTICA", (pagina, 38).

RESULTADOS OBTENIDOS

Ante todo se propuso ensayar las cuatro muestras de suero obtenidas, actuando en tres muestras de líquido, que tan solo contenían los elementos desintegrados por una albúmina placentaria, cuya presencia fué

El suero se colocó en recipientes de vidrio
 algunos horas a la temperatura ambiente, sin exponer a que se oxidara
 las eritrocitos en exceso en color, teniendo a veces que recurrir
 a centrifugaciones para ver que el sedimento consistía en células
 líquidas completamente blancas, requisito enteramente indispensable
 de las condiciones aconsejadas por los libros, consistió en someter el
 animal de diez a diez y ocho horas en ayunas, con el objeto de evitar
 enturbiamientos y opalescencias procedidas por las células
 de la digestión. De acuerdo a los detalles de técnica de cultivo
 instrucciones dadas por el doctor, Luigi Vigano, en su MANUAL DE

TECNICA MICROBIOLÓGICA, (página 23).
REACTIVOS QUÍMICOS

Para todo se usó el agua destilada, las células
 de la digestión en tres muestras de líquido, que tan solo contenían los
 elementos destilados por una alambra platinada, cuya presencia los

acusada por el biuret y la ninhidrina. Al efecto, con todo cuidado, va-
 liéndome de una pipeta capilar de Pasteur a la que había enchufado una
 perilla de goma, aspirando el suero que colocaba en un tubo de cristal
 en cantidad de unos tres o cuatro centímetros cúbicos aproximadamente,
 añadiendo otro tanto de líquido antedicho, haciéndole resbalar por las
 paredes del tubo, evitando así una mezcla de ambos, toda vez que el obje-
 tivo consistía en obtener una reacción zonal, esto es, observar el anillo
 que se formara. Los resultados fueron poco satisfactorios, las cuatro
 muestras del suero de conejo se comportaban igual, sin aparecer de una
 manera visible el deseado anillo de separación, y aún teniendo en cuen-
 ta que para considerar la reacción como positiva, debe aparecer aquel,
 durante un tiempo de quince a treinta minutos, tampoco se observa cambio
 ninguno ostensible aún después de haber transcurrido tres y seis horas
 de colocación a la estufa a 37 grados. razonable, quise hallar en la de-
DUCCIONES. nuevas experiencias el convencimiento, para lo cual par-

cuando por el calor y la anhidrina, al elevarse, con todo cuidado, se
 libraron de sus pliegas capilar de Pasteur a fin que sólo quedaran sus
 perlas de goma, capilares el suero que colaba en un tubo de cristal
 en cantidad de uno tres o cuatro centímetros cubicos aproximadamente.
 Alabando otro tanto de líquido antiseptico, bastante residual por las
 paredes del tubo, evitando así una mezcla de ambos, toda vez que el obje-
 tivo consistía en obtener una reacción normal, esto es, observar el cambio
 que se formaba, los resultados fueron poco satisfactorios, las curvas
 que se trazaron del suero de conejo se comportaban igual, sin aparecer de una
 manera visible el deseado cambio de separación, y sin tenerlo en con-
 te que para confirmar la reacción como positiva, debe aparecer aquel
 durante un tiempo de quince a treinta minutos, tampoco se observó cambio
 alguno satisfactorio más allá de haber transcurrido tres y seis horas
 de colocación a la estufa a 37 grados.

Tengo la convicción de que los elementos desintegrados, se
 habían desmoronado en moléculas de formación mas sencilla, y aunque has-
 ta el grupo de los amino-ácidos eran acusados por la anhidrina, y la
 peptona por el biuret, no formaban conjuntamente moléculas de complica-
 ción suficiente para provocar la formación de anticuerpos al ser intro-
 ducidos en un organismo animal, de otra manera no me esplico, como no se
 cumpliera el principio general de la inmunidad, esto es, que todo anti-
 geno provoca la formación de anticuerpos específicos al ser introduci-
 dos en un organismo viviente.

Ahora bien, ¿acaso en el suero de los conejos, se habían forma-
 do antifermentos?. Es decir que a la mezcla de elementos desintegrados
 pasarán algunos fermentos, o bien que unos y otros, reaccionando en el
 organismo animal dieran lugar a la formación de nuevos elementos neu-
 tralizantes. Encontrando esta hipótesis razonable, quise hallar en la de-
 mostración de nuevas experiencias el convencimiento, para lo cual par-

tiendo del suero de embarazadas señalado en los casos primero, segundo y tercero, cuya reacción de Abderhalden fué indiscutiblemente positiva (CAPITULO SEGUNDO) adoptando el dispositivo señalado con todo detalle en el caso primero, (véase mas adelante) unicamente que en los tubos n° 1, 2, y 3, en vez de las cincuenta gotas de agua destilada, añadía 50 gotas de suero de conejo señalados con los n° 2, 3 y 4.

Mi curiosidad iba en aumento a medida que se acercaba el termino de la reacción, es decir esperaba y deseaba que el resultado de los tubos n° 1, 2 y 3 de la reacción fueran negativos, para poder deducir la presencia de anti-fermentos, que neutralizando el efecto de los fermentos contenidos en el suero de sangre de embarazada, evitara la desintegración de las albúminas formadas por el antígeno placentario. No obstante los resultados defraudaron mis esperanzas, las muestras ensayadas salieron positivas, es decir que no se revelaba en el suero de los conejos, ningún anti-fermento.

JUICIO CRITICO

Es evidente que no compensaria el esfuerzo realizado para la obtención de un suero precipitante, toda vez que dada su especificidad, deberiamos cambiar en cada caso que se hiciera un nuevo ensayo con otro juego de antígeno y suero correspondiente.

Por consiguiente, ante los razonamientos expuestos es fuerza que me decida a utilizar para mis experiencias de modificación de la técnica de Abderhalden, solamente del biuret y la ninhydrina.

De parte como antígeno, se usará un suero de caballo preparado según las instrucciones de Abderhalden, diluido en agua destilada, con un poco de agua destilada, cuyo líquido no debe alterarse mezclándolo con la ninhydrina.

Para mayor seguridad de comprobación de los resultados, será suficiente utilizar tres tubos en el juego suero de ensayo con el

CRONICA

Es evidente que no compensa el esfuerzo realizado para la obtención de un suero precipitante, toda vez que cada suero obtenido debería emplear en cada caso que se hiciera un nuevo ensayo con el juego de antígenos y suero correspondiente.

Por consiguiente, ante los inconvenientes expuestos en las experiencias que se describen para las experiencias de modificación de la técnica de Abderhalden, solamente del suero y la placenta.

CAPITULO SEGUNDO

EXPERIENCIAS REALIZADAS CON EL METODO QUIMICO DE

PRECIPITACION DE ALBUMINAS

A.-Investigación de los fermentos contenidos en la sangre de embarazadas.

CASO PRIMERO.-Señora H.H. embarazada de seis meses.

Se le extraen 20 c.c. de sangre en jeringa esteril por punción de una de las venas de la flexura del codo, seperándose a las pocas horas espontáneamente el suero del coágulo.

Se parte como antígeno, de una placenta meticulosamente preparada, según las instrucciones de Abderhalden, hirviendola antes de usarla, con un poco de agua destilada, cuyo líquido no debe alterarse ensayándolo con la ninhidrina.

Para mayor seguridad de comprobación de los resultados, creo suficiente destinar tres tubos en el juego suero de embarazada con el

evitar evaporaciones, manteniendo así el mismo volumen del líquido, se coloca la gradilla de los seis tubos testimoniales, durante 36 horas a la estufa a 37 grados. Una vez transcurrido el tiempo marcado, con el auxilio del capilar Pasteur en que llevan embudados una perilla de goma, se aspira el líquido de cada tubo colocándolo en otros cuidadosamente lavados y secos, procurando no aspirar la capa del toluol, gastando para cada operación un capilar nuevo completamente limpio y seco. Una vez practicada esta primera operación, se entra de lleno en la precipitación de las albúminas, siguiendo el método descrito en los preliminares. Las operaciones de filtración deben practicarse también con todo esmero, es indispensable cambiar cada vez el embudito en cada filtrado.

RESULTADOS OBTENIDOS

	<u>BIURET</u>	<u>WIMYDRINA</u>
Tubo nº1.....	Positivo.....	Positivo.....
Tubo nº2.....	id.	id.
Tubo nº3.....	id.	id.

antiguo presentando, pudiendo así comprobar si la desintegración pro-
 vocada por los fermentos, subsiste en los tres casos con un resultado, hab-
 iendo un mayor valor a la reacción.
 La reacción de este tipo practicada a favor del siguiente día:
 Tubo nº1..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y y elemento gotas de agua destilada.
 Tubo nº2..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y 10 gotas de agua destilada.
 Tubo nº3..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y 20 gotas de agua destilada.
 Tubo nº4..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y 30 gotas de agua destilada.
 Tubo nº5..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y 40 gotas de agua destilada.
 Tubo nº6..... 50 gotas de suero de embrazada, un gramo de pisco
 y 50 gotas de agua destilada.
 Después de añadir agua a cada tubo, para

evitar evaporaciones, sosteniendo así el mismo volumen del líquido en
 coloco la gradilla de las seis tubos testigos, durante 30 horas a la
 estufa a 37 grados, una vez transcurrido el tiempo marcado con el auxi-
 lio del capilar instant en que llevan anotados sus perfiles de zona,
 se aspira el líquido de cada tubo colocándolo en otros cuidadosamente
 lavados y secos, procurando no aspirar la capa del fondo, gastando para

esta operación un capilar nuevo completamente limpio y seco. Una vez
 practicada esta primera operación, se entra de lleno en la practica de
 de las albedas, siguiendo el método descrito en los preliminares, las
 operaciones de filtración deben practicarse también con todo cuidado, es
 indispensable cambiar cada vez el embudo en cada filtrado.

RESULTADOS OBTENIDOS

	BIURET	NINHYDRINA
Tubo n°1.....	Positivo	Positivo
Tubo n°2.....	Id.	Id.
Tubo n°3.....	Id.	Id.

RESULTADOS OBTENIDOS

	BIURET	NINHYDRINA
Tubo n°4.....	Negativo	Negativo
Tubo n°5.....	Id.	Id.
Tubo n°6.....	Id.	Id.

CASO SEGUNDO.-Señora M. H. embarazada de ocho meses.

Tubo n°1. Suero sometido a las mismas técnicas anteriores.

RESULTADOS OBTENIDOS

	BIURET	NINHYDRINA
Tubo n°1.....	Positivo	Positivo
Tubo n°2.....	Id.	Id.
Tubo n°3.....	Id.	Id.
Tubo n°4.....	Negativo	Negativo
Tubo n°5.....	Id.	Id.
Tubo n°6.....	Id.	Id.

CASO TERCERO.-Señora M. H. embarazada de cinco meses.

Tubo n°1. Suero sometido a las mismas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

	BIURET	NINHYDRINA
Tubo n°1.....	Positivo	Positivo

BIURET

NINHYDRINA

Suero sometido a las mismas técnicas anteriores.

Tubo n°	BIURET	NINHYDRINA
1	Negativo	Negativo
2	id.	id.
3	id.	id.

RESULTADOS OBTENIDOS

Tubo n°	BIURET	NINHYDRINA
1	Negativo	Negativo
2	id.	id.
3	id.	id.

Suero sometido a las mismas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET NINHYDRINA

Tubo n°1	Positivo	Positivo
Tubo n°2	id.	id.
Tubo n°3	Negativo	Negativo
Tubo n°4	Negativo	Negativo
Tubo n°5	id.	id.
Tubo n°6	id.	id.

CASO CUARTO.- Recien parida, extracción de 200 c.c. de sangre ocho dias despues del parto. Suero sometido a las mismas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET

NINHYDRINA

Tubo n°1	Negativo	Positivo
Tubo n°2	Pudoso	id.
Tubo n°3	Negativo	id.
Tubo n°4	id.	Negativo
Tubo n°5	id.	id.
Tubo n°6	id.	id.

CASO QUINTO.-Señora N.N.un mes de fecha del parto.

BIURET MINHYDRINA
Positivo

Tubo n°3. Suero sometido a las mismas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

Negativo Negativo

Tubo n°5. BIURET MINHYDRINA

Tubo n°1. Negativo. coloración debil

Tubo n°2. coloración id.

Tubo n°3. Negativo.

Tubo n°4. Negativo. id.

Tubo n°5. id. id.

Tubo n°6. id. id.

CASO SEXTO.-Señora N.N.embarazada de seis meses.

Tubo n°3. Suero sometido a la técnica del primer caso. id.

RESULTADOS OBTENIDOS

Negativo Negativo

Tubo n°5. BIURET MINHYDRINA

Tubo n°1. Positivo. Positivo

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET MINHYDRINA

Tubo n°1. Positivo. Positivo

Tubo n°2. id. id.

Tubo n°3. id. id.

Tubo n°4. Negativo. Negativo

Tubo n°5. id. id.

Tubo n°6. id. id.

CASO CUARTO.-Técnica parva, extracción de 500 c.c. de sangre cada día des-
pués del parto, suero sometido a las mismas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET MINHYDRINA

Tubo n°1. Negativo. Positivo

Tubo n°2. Indeciso. id.

Tubo n°3. Negativo. id.

Tubo n°4. Negativo. id.

Tubo n°5. id. id.

Tubo n°6. id. id.

CASO QUINTO - Señora N.N. en sus de fecha del parto.

Seuro sometido a las técnicas técnicas del caso primero.

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET

NINHYDRINA

Tubo n°1.....Negativo.....Negativo

Tubo n°2.....Negativo.....Negativo

Tubo n°3.....Negativo.....Negativo

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo

Tubo n°5.....Negativo.....Negativo

Tubo n°6.....Negativo.....Negativo

CASO SEPTIMO - Señora N.N. embarazada de siete meses.

Seuro sometido a las técnicas del primer caso.

RESULTADOS OBTENIDOS

BIURET

NINHYDRINA

Tubo n°1.....Positivo.....Positivo

BIURET

NINHYDRINA

Tubo n°2.....Positivo.....Positivo

Tubo n°3.....id.....id

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo

Tubo n°5.....id.....id

Tubo n°6.....id.....id

CASO SEPTIMO - Señora N.N. embarazada de siete meses.

Seuro sometido a las técnicas del primer caso.

RESULTADOS OBTENIDOS

Tubo n°1.....Negativo.....Negativo

BIURET

NINHYDRINA

Tubo n°1.....Positivo.....Positivo

Tubo n°2.....id.....id

Tubo n°3.....Positivo.....id

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo

Tubo n°5.....id.....id

Tubo n°6.....id.....id

CASO OCTAVO.-Señora M.N. embarazada de cinco meses.

BISFITERINA

Tubo n° 2. Suero sometido a las técnicas del caso primero. activo.

RESULTADOS OBTENIDOS

Tubo n° 1.....	<u>BIURET</u>	<u>BISFITERINA</u>
Tubo n° 2.....	Muy debil positivo.....	Positivo.
Tubo n° 3.....	Tuoso	id.
Tubo n° 4.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 5.....	Negativo.....	Negativo.
Tubo n° 6.....	id.	id.
Tubo n° 7.....	id.	id.

CASO NOVENO.-Señora M.N. embarazada de tres meses.

BISFITERINA

Tubo n° 2. Suero sometido a las técnicas del caso primero. id.

RESULTADOS OBTENIDOS

Tubo n° 1.....	<u>BIURET</u>	<u>BISFITERINA</u>
Tubo n° 2.....	Positivo.....	Positivo.
Tubo n° 3.....	id.	id.

BISFITERINA

Tubo n° 1.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 2.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 3.....	Negativo.....	Negativo.
Tubo n° 4.....	id.	id.
Tubo n° 5.....	id.	id.
Tubo n° 6.....	id.	id.

CASO SEPTIMO.-Señora M.N. embarazada de cinco meses.

Tubo n° 2. Suero sometido a las técnicas del primer caso.

RESULTADOS OBTENIDOS

BISFITERINA

Tubo n° 1.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 2.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 3.....	Positivo.....	id.
Tubo n° 4.....	Negativo.....	Negativo.
Tubo n° 5.....	id.	id.
Tubo n° 6.....	id.	id.

CASO OCTAVO.-Señora E. E. embarazada de cinco meses. BIURET de seis meses. BIRHYDRINA

Tubo nº 2	Negativo	Positivo
Tubo nº 3	Dudoso	id.
Tubo nº 4	Negativo	Negativo
Tubo nº 5	id.	id.
Tubo nº 6	id.	id.

CASO DECIMO.-Señora E. E. embarazada de nueve meses. Negativo

Tubo nº 5. Suero sometido a las técnicas del caso primero. id.

RESULTADOS OBTENIDOS

CASO NOVENO.-Señora E. E. embarazada de tres meses. BIURET de seis meses. BIRHYDRINA

Tubo nº 1	Positivo	Positivo
Tubo nº 2	id.	id.
Tubo nº 3	id.	id.
Tubo nº 4	Negativo	Negativo
Tubo nº 5	id.	id.
Tubo nº 6	id.	id.

CASO OCTAVO.-Señora E. E. embarazada de cinco meses. BIURET de seis meses. BIRHYDRINA

Tubo nº 1	Positivo	Positivo
Tubo nº 2	id.	id.
Tubo nº 3	Positivo	id.
Tubo nº 4	Negativo	Negativo
Tubo nº 5	id.	id.
Tubo nº 6	id.	id.

CASO NOVENO.-Señora E. E. embarazada de tres meses. BIURET de seis meses. BIRHYDRINA

Tubo nº 1	Positivo	Positivo
Tubo nº 2	id.	id.
Tubo nº 3	id.	id.
Tubo nº 4	Negativo	Negativo
Tubo nº 5	id.	id.
Tubo nº 6	id.	id.

CASO UNDECIMO. - Señora H.H. embarazada de seis meses.

Suero sometido a las técnicas del caso primero.

<u>RESULTADOS OBTENIDOS</u>	<u>BIURET</u>	<u>BIHYPTRINA</u>
Tubo n°1.....	Muy debilmente <i>positivo</i>	Positivo.
Tubo n°2.....	Positivo.....	id.
Tubo n°3.....	id.	id.
Tubo n°4.....	Negativo.....	Negativo.
Tubo n°5.....	id.	id.
Tubo n°6.....	id.	id.

CASO DUODECIMO. - Señora H.H. embarazada de siete meses.

Suero sometido a las técnicas del primer caso.

<u>RESULTADOS OBTENIDOS</u>	<u>BIURET</u>	<u>BIHYPTRINA</u>
Tubo n°1.....	Positivo.....	Positivo.
Tubo n°2.....	Dudoso	id.
Tubo n°3.....	Positivo.....	id.
Tubo n°4,5,6.....	Negativo.....	Negativo.

Los detalles de técnica son exactamente iguales como para el caso de embarazo, cambiando como es de suponer el antígeno, partiendo de una solución algo espesa de Micrococcus Melitensis en agua destilada, cuyos gérmenes obtenidos en medios sólidos, han sido fuertemente centrifugados, cuatro y seis veces (centrífuga eléctrica, tipo Leitz, dos mil vueltas por minuto) cambiando cada vez el líquido al objeto de asegurarme de su completa pureza, comprobada por el biuret y ninhidrina (reacciones negativas) dando comienzo a la operación una vez demostrada la ausencia de albúminas y peptonas que pudieran arrastrar dichos gérmenes de los medios de cultivo. En las disposiciones que siguen, se substituye el suero de la embarazada, por el suero del enfermo de Melitensis, que se separa espontáneamente de la sangre sacada por punción venosa, la cantidad de 20 c.c.

<u>RESULTADOS</u>	<u>BIURET</u>	<u>NINHYDRINA</u>
Tubo nº1.....	Negativo.....	Positivo debil

REPERMO PRIMERO.-Señor E. N. Hospital Clínico, 32 años de edad.

	BIURET	NIHIDRINA
Tubo n° 2.....	Dudoso	Positivo debil
Tubo n° 3.....	Negativo	Dudoso.
Tubo n° 4.....	id.	Negativo.
Tubo n° 5.....	id.	id.
Tubo n° 6.....	id.	id.

REPERMO SEGUNDO.-Señor E. N. Hospital Clínico, 32 años de edad.
 Reacción de aglutinación, título 1 por 1.500.

HEMOCULTIVO POSITIVO

RESULTADOS	BIURET	NIHIDRINA
Tubo n° 1.....	Dudoso	Positivo
Tubo n° 2.....	Positivo	id.
Tubo n° 3.....	Dudoso	id.
Tubo n° 4.....	Negativo	negativo.
Tubo n° 5.....	id.	id.
Tubo n° 6.....	id.	id.

Los detalles de técnica son exactamente iguales como para el caso de empujados, cambiando como es de suponer el antígeno por el de la especie de Micrococcus Neisseria en una tentativa, una vez obtenida alguna especie de Micrococcus Neisseria en una tentativa. Los fermentos obtenidos en medios sólidos, han sido fuertemente centrifugados, cuatro y seis veces (centrífuga eléctrica, tipo Deitz, dos mil vueltas por minuto) cambiando cada vez el líquido al objeto de desmenuzarse en completa pureza, comprobada por el biuret y nihidrina (reacciones negativas) dando comienzo a la operación una vez demostrada la ausencia de almidón y pectinas que pudieran extraer dichos fermentos de los medios de cultivo, en las disposiciones que siguen, se expone el resultado de la prueba, por el empujado, por el suero del cultivo de Neisseria, que se separa espontáneamente de la sangre cuando por punción venosa, la cantidad de 20 c.c.

RESULTADOS

BIURET	NIHIDRINA
Tubo n° 1.....	Positivo debil

ENFERMO TERCERO.-Señora E.N.Hospital Clínico, 22 años de edad.

Reacción de aglutinación, título 1 por 800.

HEMOCULTURA POSITIVA

RESULTADOS

BIURET

MINHYDRINA

Tubo nº1.....	Positivo dudoso.....	Positivo.
Tubo nº2.....	Positivo.....	id.
Tubo nº3.....	Negativo.....	Dudoso.
Tubo nº4.....	id.	Negativo.
Tubo nº5.....	id.	Positivo.
Tubo nº6.....	id.	Negativo.

ENFERMO CUARTO.-Señor E.N.Hospital Clínico, de 48 años.

Reacción de aglutinación, título 1 por 2000.

HEMOCULTURA POSITIVA

RESULTADOS

BIURET

MINHYDRINA

Tubo nº1.....	Positivo.....	Positivo.
Tubo nº2.....	Dudoso.....	id.

EXPERIMENTO FENICENO - Señora M. Hospital Clínico de 22 años de edad.

Reacción de aglutinación, título 1 por 200.

HEMOAGLUTINACIÓN POSITIVA

HEMOAGLUTINACIÓN NEGATIVA

HEMOAGLUTINACIÓN POSITIVA	HEMOAGLUTINACIÓN NEGATIVA
Tubo n°1..... Positivo	Tubo n°1..... Positivo
Tubo n°2..... Positivo	Tubo n°2..... Positivo
Tubo n°3..... Negativo	Tubo n°3..... Negativo
Tubo n°4..... Id.	Tubo n°4..... Id.
Tubo n°5..... Positivo	Tubo n°5..... Id.
Tubo n°6..... Negativo	Tubo n°6..... Id.

EXPERIMENTO CUANTO - Señor M. Hospital Clínico de 48 años.

Reacción de aglutinación, título 1 por 2000.

HEMOAGLUTINACIÓN POSITIVA

HEMOAGLUTINACIÓN NEGATIVA

HEMOAGLUTINACIÓN POSITIVA	HEMOAGLUTINACIÓN NEGATIVA
Tubo n°1..... Positivo	Tubo n°1..... Positivo
Tubo n°2..... Id.	Tubo n°2..... Id.

EXPERIMENTO CUANTO - Señora M. Hospital Clínico de 22 años de edad.

	BIURET	MINHYDRINA
Tubo n°3.....	Dudoso	Positivo.
Tubo n°4.....	Negativo	Negativo.
Tubo n°5.....	Id.	Id.
Tubo n°6.....	Id.	Id.

C.- Investigación de los fermentos contenidos en la sangre de cinco perros, inoculados con esputos de gripesos.

Estimulado por los trabajos realizados en España por notables investigadores durante la epidemia de la gripe y en colaboración con el distinguido farmacéutico, Dr. Xifra, Jefe del Laboratorio de la Facultad de Medicina, perseguimos durante algún tiempo, la idea de aislar los agentes etiológicos de dicha epidemia, descartando el coco-bacilo de Pfeiffer quien a pesar de nuestros esfuerzos no conseguimos aislar, pues de seguir las huellas marcadas por los distinguidos bacteriólogos Doctores, Falcó y Tapia, del Instituto de Alfonso XIII de Madrid. Durante una de las fases del problema, inoculamos cinco perros con esputos de

enfermos que los médicos habían diagnosticado de gripe, en cantidad aproximada de 10c.c. desleídos en solución fisiológica esteril, a los ocho días siguientes practicamos otra segunda inoculación, y una vez llegada la tercera, realizábamos los siguientes ensayos:

PERRO PRIMERO. -Peso; diez kilos, cuatrocientos gramos.

Sin aparición de síntomas morbosos marcadamente manifiestos. De la hemocultura per punción del corazón se aísla el Micrococcus Catarhalis.

La reacción de desviación del complemento, dió resultado positivo (partiendo como antígeno de una solución alcohólica de esputos griposos).

Finalmente llegamos al objeto propuesto, es decir, a la investigación de los fermentos defensivos de Abderhalden, a cuyo efecto procediose de la manera indicada en las experiencias anteriores, utilizando en este caso como antígeno, esputos de griposos en solución alcohólica espesa, y tambien en otra experiencias solamente los mencionados esputos

La reacción de desviación del complemento, dió resultados positivos.

Tubo nº1..... Positivo.

Fermentos defensivos, elementos desintegrados.

RESULTADOS

BIURET

MINHYDRINA

Tubo nº1..... Negativo..... Positivo.

Tubo nº2..... Dudoso id.

Tubo nº3..... id. id.

Tubo nº4..... Negativo..... Negativo.

Tubo nº5..... id. id.

Tubo nº6..... id. id.

PERRO TERCERO.-Peso: seis kilos novecientos gramos.

La hemocultura practicada por punción del corazón, dió resultado negativo.

Tubo nº1..... Positivo.

La reacción de desviación del complemento, dió resultado positivo.

Tubo nº2..... id.

Tubo nº3..... id.

Fermentos defensivos, elementos desintegrados.

Tubo nº4..... Negativo.

BIURET

BISHYDRINA

Tubo n°5.....Negativo.....Negativo.

Tubo n°6.....id.....id.

PERRO QUINYO.-Peso:siete kilos,seiscientos gramos.

HEMOCULTURA.NEGATIVA

Reacción de desviación del complemento,positiva.

Fermentos defensivos,elementos desintegrados.

RESULTADOS

BIURET

BISHYDRINA

Tubo n°1.....Positivo.....Positivo.

Tubo n°2.....id.....id.

Tubo n°3.....id.....id.

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo.

Tubo n°5.....id.....id.

Tubo n°6.....id.....id.

BIURET

RESULTADOS

Tubo n°1.....Positivo.....Positivo.

Tubo n°2.....id.....id.

Tubo n°3.....id.....id.

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo.

Tubo n°5.....id.....id.

Tubo n°6.....id.....id.

PERRO QUINYO.-Peso;nueve kilos,seis gramos.

HEMOCULTURA.Negativa.

Reacción de desviación de complemento,positiva.

Fermentos defensivos,elementos desintegrados.

BIURET

RESULTADOS

Tubo n°1.....Positivo.....Positivo.

Tubo n°2.....id.....id.

Tubo n°3.....id.....id.

Tubo n°4.....Negativo.....Negativo.

CAPITULO TERCERO

DETALLES PRACTICOS, VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL METODO MODIFICADO.

Además de todos los requisitos que en su lugar han sido expuestos, conviene fijar la atención acerca de otros detalles no menos importantes, que de no interpretarse, podrían ser causas de error.

Los tubitos de ensayos, debe de procurarse que sean del mismo espesor, para evitar una falsa visión en la coloración de los reactivos, debiendose disponer en número abundante, (cerca de unos 50 tubos, para cada dos reacciones) toda vez que en cada operación hay que cambiarlos. Su limpieza debe ser absoluta, para ello se sumergen en una solución de ácido clorídrico al 30 por 100, o tambien según la formula del Besson destinada a la limpieza de los porta-objetos, agua 1000, bicromato potásico 50 y ácido sulfúrico 100, se hierven por espacio de unos 10 minutos y se lavan con agua corriente, secándolos en una estufa. De la misma manera se procede con respecto a las pipetas y tubos capilares Pasteur, siendo mejor el empleo de estos últimos, que evitan los inconvenientes

RESULTADOS

TIPO

..... Tipo n.º 1.....

..... Tipo n.º 2.....

..... Tipo n.º 3.....

..... Tipo n.º 4.....

..... Tipo n.º 5.....

..... Tipo n.º 6.....

RESULTADOS

TIPO

..... Tipo n.º 1.....

..... Tipo n.º 2.....

..... Tipo n.º 3.....

..... Tipo n.º 4.....

..... Tipo n.º 5.....

..... Tipo n.º 6.....

de las primeras, toda vez que operando con cantidad escasa de líquido, se da acceso a la entrada súbita del aire, penetrando en la boca del contenido, adaptándose unas peritas de goma que practican la aspiración con pulcritud y sencillez. También debe procurarse sean exactamente calibrados, para lo cual, el soplador de vidrio partiendo de una varilla capilar completamente igual en todos sus extremos, la corta en pedacitos que se ^{van} soldan en un tubo de cristal hueco, de unos 10 centímetros de largo. Debe disponerse de un juego abundante de estos tubos capilares, puesto que necesariamente hay que cambiarlos en cada operación.

Así mismo la presencia de hemoglobina, puede ser causa de errores, debiéndose tener especial cuidado en la separación del suero del coágulo de la sangre, recurriéndose a la centrifugación cuando no se tenga la mayor seguridad en el logro de dicho objeto.

El volumen del líquido filtrado, debe procurarse sea exactamente igual en cada tubo de reacción, puesto que su mayor o menor concentración podría ocasionar falsas coloraciones por la ninhydrina, así

mismo se tendrá especial cuidado en hervirlos en las mismas condiciones estos detalles se encuentran ya descritos en los prospectos que acompañan al reactivo.

VENTAJAS E INCONVENIENTES DEL METODO MODIFICADO.

-Indiscutiblemente se simplifican las operaciones de la técnica clásica de Abderhalden, con la supresión de las enojosas operaciones de dializado, el cúmulo de detalles que acompañan a la preparación previa de los dializadores, pruebas de comprobación e inseguridad de los resultados, así como el no tener siempre a mano estos enseres, y teniendo que desecar un 30 por 100 de inservibles del stock que preparan las casa schleicher (alemana), y Cogit, (francesa) reduciéndose el número a causa de los ensayos en que dejan de funcionar las membranas dializantes, debiéndose añadir a cuanto se acaba de exponer, la pérdida de tiempo que supone tanto las operaciones preliminares como la fundamental. En las separaciones de las albúminas por el método químico por precipitación, se simplifica la técnica

... mismo se tendrá especial cuidado en hervirlos en las mismas condiciones
... estos detalles se encuentran ya descritos en las prospectos que acompa-
... en el resorte.

VERIFICACIÓN DE LA REACCIÓN DE LA ALBUMINA CON EL ÁCIDO ACÉTICO
... simplifica las operaciones de la técnica clásica de la albu-
... la separación de las enzimas operándose de distinto modo de lo que
... las que acompañan a la preparación previa de los dializadores, pruebas
... de comprobación e intensidad de los resultados, así como el no tener
... siempre a mano estos ensayos, y teniéndolos que hacer en su caso de
... inevitables del stock que preparan las casas laboratoriales, y
... Goff. (Francia) reduciéndose el número a cinco de los ensayos en que
... dejan de funcionar las membranas dializadoras, debiéndose acudir a otros
... se evita de exponer, la pérdida de tiempo que supone tanto la opera-
... ciones preliminares como la fundamental en las separaciones de las al-
... binas por el método clásico por precipitación, se simplifica la técni-

ca disminuyendo notablemente las causas de errores. Uno de los inconvenientes que debemos señalar principalmente en esta modificación, es la mayor cantidad de sangre necesaria que ha de haber, toda vez que las operaciones del filtrado necesitan bastante líquido, no obstante la cantidad de % c. será suficiente para todas las necesidades de la reacción. Otra de las causas predisponentes a errores, son la calidad de los filtros, debiéndose buscar, que proporcionen un líquido filtrado completamente limpio.

Pronto se adquiere una práctica suficiente a que las manipulaciones se hagan de una manera rápida y sencilla.



ALBUMINA
El desmoronamiento de las albúminas de un antiguo plasma, visto a través del microscopio se realiza en cantidad muy perceptible por los reactivos, que el suero antiguo contiene en los casos de fiebre de Malta.

CAPITULO CUARTO

CONCLUSIONES

PRIMERA

La separación de albúminas por precipitación química en la reacción de Abderhalden, produce los mismos resultados que la técnica por diálisis.

SEGUNDA

Evidentemente, la reacción de la ninhydrina, es mucho mas sensible en la investigación de los compuestos desintegrados a expensas de los fermentos específicos que el biuret.

TERCERA

El desmoronamiento de las albúminas de un antígeno-placenta, vis a vis del suero de embarazadas se realiza en cantidad mas perceptible por los reactivos, que el juego antígeno Melitensis-suero de los enfermos de fiebres de Malta.

CAPITULO QUINTO

CUARTA

Los esputos de griposos provocan en el perro la formación de fermentos que desintegran albúminas, investigables por la reacción de Abderhalden modificada.

QUINTA

Las inoculaciones practicadas en conejos, de los productos desintegrados por un fermento-suero de embarazada, y antígeno-placenta, no provocan la formación de precipitinas específicas, como tampoco anti-fermentos.

SEXTA

Los fermentos ^{de} producen en cantidades variables, según acusen el grado de mayor o menor intensidad de los reactivos también en los sujetos que se hallan influenciados por un mismo estado, sea normal o patológico.

CAPITULO CUARTO

UNO

PRIMERA

La separación de albúminas por precipitación química en la reacción de Abderhalden, produce los mismos resultados que la técnica por dialisis.

SEGUNDA

Evidentemente, la reacción de la ninhidrina, es mucho más sensible en la investigación de los componentes desintegrados a expensas de los fermentos específicos que el bixet.

TERCERA

El desmoronamiento de las albúminas de su antígeno-placenta, vis a vis del suero de embarazada se realiza en cantidad más perceptible por los reactivos, que el suero antígeno-kittentata-suero de los fetos de feto de Katta.

CAPITULO QUINTO

CONSECUENCIAS Y DEDUCCIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO

La simplificación del método de investigaciones de fermentos específicos estimula a ensanchar cada vez más su esfera de acción, cuando en el Laboratorio han de comprobarse la presencia de anti-cuerpos en un suero determinado, se dispone de la precipitino-reacción, aglutinación y desviación del complemento, otro dato más para enriquecer las conclusiones del problema, consistiría en la determinación de los fermentos defensivos, modalidad de anti-cuerpos que podríamos clasificar en la acepción general de inmunisinas.

Un problema que para el farmacéutico entraña un interés capitalísimo, es la comprobación del poder inmunizante de un suero antitóxico. Las ampollas cuyas etiquetas llevan escritas la fecha de preparación y número de unidades antitóxicas, para cuya titulación, se requiere la prueba experimental, en cuyo caso se necesitan animales apropiados,

CUARTA

Los cultivos de virus provienen en el tubo la formación de
fermentos que destruyeron almidones, investigados por la reacción de
alcoholización positiva.

QUINTA

Las inoculaciones practicadas en conejos, de los productos los
interiores por un fermento suero de emparada y antigeno-piamente, no
provocan la formación de precipitinas específicas como tampoco anti-
fermentos.

SIXTA

Los fermentos ^{de} producen en conejos variables, según sea
con el grado de mayor o menor intensidad de las reacciones también en
los sujetos que se hallan influenciados por un mismo estado con normal
o patológico.

CAPITULO QUINTO

CONSECUENCIAS Y TÉCNICAS PARA LA INVESTIGACIÓN DEL TRABAJO

La simplificación del método de investigación de fermentos específicos estamina e enseñar cada vez más en estos de acción, como en el laboratorio han de compararse la presencia de anti-cuerpos en un suero determinado, es decir de la precipitación-reacción, aglutinación y desviación del complemento, otro dato más para entender las causas y efectos del problema, consistiría en la determinación de los fermentos específicos, localización de anti-cuerpos que podrían clasificarse en la categoría general de inmunizantes.

Un problema que para el farmacéutico entraña un interés especial, es la comprobación del poder inmunizante de un suero anti-tóxico, las ampollas cuyas etiquetas llevan escritas la fecha de preparación y número de unidades antitóxicas, para cuya fijación de se requiere la prueba experimental, en cuyo caso se necesitan algunas propiedades

toxinas de tipo determinado y tiempo, ello hace imposible solucionar la cuestión, pues dada la rapidez que requieren la aplicación terapéutica de dichos medicamentos, constituyen un caso obligado en que el farmacéutico debe dar con una mano lo que recibe de la otra, sin otra garantía que los datos que aportan las etiquetas de las casas expendedoras y aunque aceptando por base la seriedad de todos los Institutos y Laboratorios productores, ²⁰¹ quien es capaz de sospechar la estabilidad de estos líquidos de estructura química sumamente complicada influenciados por medios tan diferentes de temperatura, acción de la luz y otras causas desconocidas?. Si el farmacéutico pudiera aplicar una sencilla reacción que determinara el título inmunizante de un suero antitóxico, comprobando periódicamente los cambios que sufren cumpliría mejor el fin para el que fué destinado, es decir, responsabilidad científica efectiva de lo que entrega, animado con la idea de intentar orientarme en pro de la consecución de dicho problema, me propuse determinar el título de aglutininas y precipitinas como elementos que consideraba de mayor impor-

textos de tipo determinativo y tiempo, esto hace imposible reconocer la
esencia, pues cada la vez que se repiten la explicación se repite
de dichos medicamentos, constituyen un caso obligado en que el farmaco-
tico debe ser con una sola la que recibe de la otra, sin otra
que los casos que reportan las siguientes de las cases experimentales y
aunque aceptado por parte la totalidad de todos los Institutos y labora-
torios productores, incluso es capaz de sospechar la existencia de estos
tipos de estructuras de las sustancias complejas sintetizadas por
medio de diferentes de reacciones, según de la ley y otros casos
decomponibles. Si el medicamento pudiera aplicar una sencilla reacción
que determinara el título de un suero antitoxico, comprender
de perfectamente los cambios que experimenta el suero de
que se destina, es decir, reacciones de tipo de la
que entrega, aunque con la idea de intentar obtener en los de la
consecuencia de dicho problema, se propone determinar el título de suero
titular y precipitinas con elementos que constituyen de mayor valor.

tancia en el rol inmunizante de los sueros antitoxicos y no obstante
el título de estos no coincidía con los resultados obtenidos, las aglu-
tinaciones y precipitine-reacciones salían negativas la mayoría de las
veces y otras con un poder reaccionante sumamente debil, uno de estos
ensayos practicados los lleve a cabo apoyándome en el testimonio de mi
mismo suero sanguíneo, esto fué durante el verano de 1917, trabajando en
el Laboratorio del Profesor Vincent en el Val de Grace de Paris, uno de
los Jefes el farmacéutico militar Doctor Lematte, me habia vacunado con
la vacuna antitífica al eter, recibiendo tres inyecciones seriadas con
cinco dias de intervalo, formada de una mezcla de bacilos de Eberth y
para tífus A y B en cantidad de mil millones ^{W.C.C.} queriendo algunos dias
despues, comprobar el poder inmunizante de mi sangre partiendo de la
reacción de aglutinación, cuyos resultados fueron absolutamente negati-
vos, ni el título bajo del 1 por 25, ofrecia el tubo testamento cambio
ninguno ostensible, dándose todo ello el convencimiento de que las aglu-
tininas y precipitinas no representan el factor primordial en la accp-

ción general de la inmunización,mas ahora circunscribiéndonos en el tema, puede ocurrirse, ¿los fermentos defensivos juegan el papel mas esencial en el rol de la inmunización?. De esta consecuencia dependen un sin número de aplicaciones, no tan solo bajo el prisma analítico, sino terapéuticamente considerado. Si bien puede argüirse que la reacción de Abderhalden es meramente cualitativa, cabe con el estudio múltiples modificaciones y adaptaciones, partiendo del principio fundamental o camino trazado por el insigne fisiólogo de Halle.

Químicos y biólogos se compenetran en estos problemas, sin perder este doble punto de vista, cuyos conceptos estatuidos en su aceptación general por el gran maestro Doctor Carracido en su memorable conferencia "FILOGENIA QUIMICA DE LA MOLECULA ALBUMINICA" dada en la Sociedad de Biología de Barcelona, convienen a la orientación de estos trabajos.

He dicho.

INFORMACIONES BIBLIOGRAFICAS

Tratado de Química Biológica del Doctor CARRACIDO.

Bacteriología, de DOPTER Y SAQUÉPEE.

Manuale di tecnica Sierodiagnóstica, por Dr. LUIGI VIGANÓ de Milán.

Química Orgánica, por el Doctor, BONET

Análisis Clínico de los esputos, por REMIGIO PARGALLO

Tratado de Química Farmacéutica de ERNESTO SCHMIDT

Traité des Urines, por ERN. GERARD.

La pratique des Manipulations Urologiques, por E. GAUTRELET.

Fermentos defensivos del organismo animal, por ABDERHALDEN

Biológica N° 38, - 1914-

Le Progrés Medical N°35, -1913.

Biochimica e Terapia sprimentale, Enero de 1919

Nouvelles méthodes de Sero-diagnostic, JOLTRAIN.

Les diagnostics biologiques en clientele, par NOEL FIESSINGER.