

Valoración de la reacción turbidométrica del acetato de cobre (*)

Por el Dr. OSVALDO V. GALMARINI(**)

A.—LAS PRUEBAS DE LABILIDAD COLOIDAL DEL SUERO

Desde la época en que el genio de Claudio Bernard iniciara los estudios sobre el funcionamiento hepático a la actualidad, mucho es lo que se ha avanzado en el estudio funcional de las pruebas propuestas; ya con la determinación en sangre de algún elemento, ya con la introducción en el organismo de alguna sustancia y su determinación posterior en suero, bilis u orina; ya con la caracterización de algunas propiedades que adquiere el suero en los hepáticos.

Pero aún no se ha hallado una prueba única que nos señale ella sola, el estado funcional de tan complejo órgano. Ni siquiera se ha encontrado una reacción o prueba para cada función hepática, calculadas actualmente en más de 400.

En realidad lo fundamental que desde el punto de vista médico se le exige a estas pruebas que pretenden explorar funcionalmente el hígado, es el diagnóstico de lesión hepática y que orienten en la diferenciación de las ictericias.

En este sentido se da un paso importante con la introducción de las reacciones de floculación. Y si añadimos la sencillez, carácter dominante de sus técnicas, tendremos plenamente justificado su enorme difusión, aceptación y

primacía que adquieren entre las pruebas de exploración hepática. Ya en 1901, aunque lejos de idear una prueba de floculación, Zsigmondi observa el influjo de ciertas proteínas para prevenir la precipitación del oro coloidal por los electrólitos.

Brahmachari^{8, 9} en 1917 fue el primero en notar la turbiedad que producía la dilución de suero en agua destilada. Utilizó dilución de 1 en 2 a 3 y observó turbiedad considerable en los enfermos de kala-azar.

Ray³⁹ en 1921 y Sia⁵⁰ en 1924 sugirieron diluciones menos concentradas: 1 en 200 y 1 en 30 respectivamente.

El propio Sia, en colaboración con Wu en 1921 muestran que el precipitado es una globulina.

En 1928 y 1929 Henry^{22, 23, 24} utiliza para el diagnóstico del paludismo activo soluciones reactivas constituidas con elementos férricos, preferentemente el aluminato de hierro, y demuestra asimismo que los anticuerpos melánicos floculan con suspensiones de melanina. Su inquietud y rigurosidad científica lo llevan a medirlo fotométricamente.

Chorine y Prudhomme hallan que la melanofloculación es positiva también en la sífilis y el kala-azar.

Henry pensando que esas floculaciones son un fenómeno de antígeno-anticuerpo, estudia en las hepatopatías²⁵ diversos elementos que supone podrían

(*) Trabajo presentado en la Sociedad Argentina de Gastroenterología en su sesión del 3 de noviembre de 1961.

(**) Campichuelo 914. Buenos Aires.

ser mal metabolizados por el hígado y actuar como antígenos formadores de anticuerpos. Estudia sin mayor éxito la tirosina, leucina, alanina, guanidina, etc. Con soluciones de peptona obtiene resultados inconstantes. Algo mejor son los resultados usando 0.6-0.8 por ciento de glicocola y 0.2 de suero. Y mejores aún con una solución al sexto de un complejo de albúmina y peptona.

En 1925, Takata descubre las características de ciertos líquidos orgánicos disueltos en proporciones corrientes, de flocular en presencia de un reactivo a base de sublimado y fucsina brillante. Descrita y utilizada para distinguir la neumonía aguda de la bronconeumonía aguda de la bronconeumonía y congestión pulmonar, su autor, juntamente con Ara, la utiliza en el líquido céfalorraquídeo para el diagnóstico diferencial entre meningitis y sífilis meníngea⁵¹. Staub (1929) y Jezler (1930) le encuentran utilidad para el estudio sérico del funcionamiento hepático^{53, 3}.

A partir de este extraordinario hallazgo, muchas fueron las modificaciones que a su técnica se propusieron (Mancke y Sommer, Ucko 1942; Mosquera 1952, etc.) y muchas más las nuevas pruebas de floculación, en general de mayor sencillez técnica y sensibilidad, que usando diversos reactivos se idearon.

Hanger describe en 1939, su conocida técnica de la cefalina-colesterol, técnica sencilla y útil que mucho es lo que ha servido y seguirá sirviendo en el diagnóstico de las hepatopatías^{21, 1}.

En 1940 Gray retoma el oro coloidal, crea con él una nueva prueba de floculación y la aplica a la patología hepática¹⁸.

Las reacciones de Hanger y Gray, aunque en principio y en apariencia son similares a la de Takata, la superan en sencillez, sensibilidad y especificidad:

por ejemplo no dan falsos positivos en las nefritis.

MacLagan⁵² modifica el pH y cambia el buffer de la reacción de Gray, mejorándola y simplificándola.

El propio MacLagan en el mismo año 1944, con el propósito de evitar el crecimiento de hongos, agrega timol al buffer de la reacción del oro coloidal y observa que esa sustancia agregada producía por sí turbiedad o precipitación con sueros de enfermos del parénquima hepático.

Además de las sustancias floculantes ya conocidas (oro coloidal, sublimado alcalino, cefalina-colesterol, MacLagan halla que tienen capacidad floculante; el fenol, los cresoles, xilol, naftoles, resorcinol, naftol-resorcinol, hidroquinonas. También encuentra capacidad floculante, pero débilmente a las siguientes sustancias: 8-oxiquinolina, nitrofenoles, ácido desoxicólico, mentol, alcohol etílico al 50 por ciento, alcohol butílico saturado, tirosina. En cambio no floculan: disodiofenilfosfato, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido ftálico, ácido hipúrico, ácido pícrico, ácido p-tolueno sulfónico, ácido tricloroacético túngstico.

De todos los floculantes halla el timol como el más satisfactorio y con él regla su difundida técnica³³ al³⁵. Estudia la composición del precipitado formado y cree que se trataría de un complejo de proteínas, timol y fosfolípidos. La parte proteica sería una euglobulina de alto peso molecular, presumiblemente una gammaglobulina.

Cohen y Thompson¹² hallan a su vez responsable de la turbiedad a la beta-globulina y en cambio no hallan relación con la albúmina.

MacLagan al describir su técnica, mide la turbiedad de sus reacciones comparándola con los "standard" de gelatina de Kingsburg y colaboradores²⁸ usados para medir la albúmina urina-

ria. Como la hemólisis y la ictericia dificultan la comparación, Shank y Hoagland en 1946 la comparan con suspensiones turbias de sulfato de bario⁴⁰ y Neefe en el mismo año propone completar la prueba con la observación de la floculación producida a las veinticuatro horas.

Wunderly y Whurmann en 1945 proponen la reacción del enturbiamiento del cadmio, muy aplicado también en Europa para el diagnóstico y evolución de los procesos tuberculosos^{52, 2}.

Kunkel en 1947 utiliza el sulfato de zinc, que ya figuraba entre una lista de 81 reactivos probados por Vernes. Señala la importancia del aumento de las globulinas del suero como determinante de la floculación y muy especialmente de las gammaglobulinas^{29, 30}. Para Rof Carballo⁴¹ las pruebas de Hanger y MacLagan señalan especialmente la degeneración y destrucción hepatocítica y por el contrario la prueba de Kunkel y la gammaglobulinemia las alteraciones inflamatorias y reaccionales del mesénquima.

Nuevas pruebas de floculación han sido descritas en los últimos lustros. Aunque similares en principios, a veces aportan signos distintivos de utilidad práctica. De esta larga lista mencionaremos la reacción del formol propuesta en 1920 por Gate y Papacoustas para la sífilis; la del resorcinol al 1.25 por ciento de Vernes (1929) que fue usada en Francia para el diagnóstico de tuberculosis; la banda de coagulación de Weltmann con calcio (1930) y la de Bauer con magnesio (1934) son reacciones de coagulación y no de floculación; la de Gross en 1939 con el líquido de Hayen (Sulfato de sodio anhidro y cloruro de sodio desecado); la reacción del alcohol etílico estudiada por Naidu y colaboradores (1942), Pillemer y Hutchinson (1945), Waldenstrom (1946) y Love y Masson (1948) sin lo-

gar imponerla; la de Dreyfuss¹⁶ en 1948 que adapta la reacción del agua destilada de Brachmachart (1917), Ray (1921), Sia (1924), Chorine (1935) y Hegda (1948); la del rojo coloidal de Ducci (1948); la del Kunkel-fenol para medir los lípidos séricos y cuyos valores aumentan en las ictericias obstructivas;³⁰ la de Huerga-Popper y colaboradores en 1949 usando el sulfato de amonio y cloruro de sodio desecado; la de Sander que en 1950, en función del pH establece un diagrama que llama "ficha retículoendotelial" y que Vargas adapta al uso clínico;^{42, 6, 7} la reacción del ácido cloranílico de Closs en 1954 que tiene la característica de formar precipitados con los sueros normales y no lo forma con los sueros en los que las pruebas de floculación suelen dar positivas;¹¹ la reacción de la globulina ácido precipitable (APG) descrita por Greenspan en 1955 que es estimativa de las alfa 2-plus-B-globulinas, aumenta en la hiperlipemias y disminuye con las hipergammaglobulinemias, siendo positiva en las ictericias obstructivas y en las neoplasias avanzadas y diseminadas; la de Jirgl (1957) que también da valores altos en las ictericias obstructivas;^{26, 13, 17} la descrita en 1958 por Jones y Thompson para el lupus eritematoso pero que también es positiva en los hepáticos,^{27, 40}, etc.

En general todas estas pruebas se fundan en el hecho de la precipitación del suero disproteico conforme al pH del reactivo.

Según Sandor⁴² a pH entre 7.5 y 6.5 precipitarían los sueros con hipergammaglobulinemia; entre 5.5 y 4.5 los sueros con aumento de alfa globulinemia y entre 6.5 y 5.5 los aumentos de beta pero también influiría la alfa y la gamma. Aunque es fuerza reconocer que hay casos que escapan a este esquema y obliga a seguir con el uso de las

pruebas de floculación pese a la difusión y simplicidad del proteinograma.

B.—LA PRUEBA DEL ACETATO DE COBRE

En diciembre de 1955 ante la V Convención Bianual de la Sociedad Cubana de Médicos Laboratoristas Clínicos, los doctores Antonio Sellek y Alejandro del Frade, de La Habana, presentan una nueva prueba de floculación.

Luego de ensayar varias sustancias hallan muy satisfactoria el acetato de cobre con la que reglan su práctico método. En trabajos posteriores describen un procedimiento "Standard", un procedimiento cuantitativo y un ultramicrométodo⁴³ al ⁴⁸.

El método cuantitativo es el más exacto y su descripción la hacemos en detalle más adelante.

El método "standard" sólo difiere del anterior en las lecturas donde se le compara a simple vista con los "standard" de Kingsburg²⁸ usados en la reacción del timol; según la intensidad de la reacción se la clasifica: desde — hasta + + + +.

El ultramicrométodo no difiere del anterior. Se utilizan tubos de 13 por 100 mm., usándose cantidades diez veces menores de suero (0.01 mililitro) y de reactivo (0.6 ml.) La lectura se realiza como en el procedimiento "standard". En todos los procedimientos entre las dieciocho y las veinticuatro horas se practica una nueva lectura dándosele al grado de precipitación valores comprendidos entre — y + + + +.

Los autores hallan la prueba más sensible que la de Takata-Ara, paralela a la de Hanger y más especialmente a la de MacLagan. La estudian en 100 normales, en 1000 enfermos no hepáticos y en numerosas hepatopatías, hallando la prueba negativa en los dos primeros grupos y con 100 por ciento de positividad en las cirrosis y hepatitis. Tam-

bién la hallan positiva en el 75 por ciento de las agenesias de las vías biliares.

En 1958 P. A. Castillo, F. López Fernández y M. Medina en el Hospital Universitario de La Habana estudian esta reacción, en especial en las cirrosis hepáticas¹⁰. La hallan en concordancia con la de Hanger y Takata-Ara, pero muy especialmente con la del timol. La califican de útil, rápida, sencilla y práctica. Coinciden en su positividad en las cirrosis, hemocromatosis, hepatitis virósicas donde la encuentran más sensible que las pruebas turbidométricas clásicas. Comprueban asimismo su negatividad en las ictericias obstructivas no acompañadas de angiocolitis.

En Junio de 1960 Nguyen-The-Minh publica en Francia, su experiencia sobre esta prueba luego de 266 casos con 45 positivos³⁸. En su experiencia el 77% de los casos positivos coinciden con hipoalbuminemia. Más evidente aún es el papel de la hiperglobulinemia.

En el presente año T. H. Celsi y A. B. Trevisan publican su experiencia con esta reacción⁵⁴ en 269 casos. La hallan relacionada con el aumento de la gammaglobulina y disminución de la albúmina; positiva en la hepatitis y cirrosis, y negativa en las ictericias obstructivas no complicadas. Para ellos es la prueba más sensible entre las de labilidad serocoloidal para el diagnóstico diferencial de las ictericias. Se normaliza en la convalecencia de las hepatitis antes que las del timol y sulfato de zinc.

El método es sumamente práctico, con soluciones fáciles de preparar, de bajo costo y fácil obtención de los reactivos; breve y sencillo; todo lo cual posibilita su uso rutinario; con un procedimiento cuantitativo y otro "standard" que libera de fotocolorímetros o espectrofotómetros; exige poca cantidad de suero, y aún menos con el ultramicro-

método sumamente útil en pediatría y según los autores, posee alta sensibilidad y utilidad para seguir el curso de las hepatitis.

Estas características y su escasa difusión nos alentó a realizar sobre la valoración de esta prueba el presente trabajo. Ella resume nuestra experiencia de más de dos años con aproximadamente, 1000 determinaciones hechas personalmente sobre sueros normales y patológicos.

Hemos estudiado 130 hepatopatías y 40 casos de enfermos extrahepáticos. En algunos casos el estudio se hizo seriado, realizándose sobre un mismo enfermo más de diez determinaciones.

En casi 250 determinaciones fue comparada con otras pruebas de floculación, en especial la del timol de MacLagan y la del sulfato de zinc de Kunkel y en más de 100 casos la comparación se hizo con el proteinograma obtenido por electroforesis sobre papel.

Este trabajo se realizó con material del Servicio de Gastroenterología del Hospital Churruca a cuyo jefe, Dr. S. Katz, agradecemos su amabilidad al facilitárnoslo.

I.—METODO

Reactivos

1) Solución "stock": Se disuelven 200 mg., de acetato de cobre químicamente puro (Merk) en 500 ml., de agua bidestilada. Se conserva en frasco oscuro en refrigeradora hasta diez días.

2) Solución reactivo: Se toman 2.5 ml., de la solución "stock" llevándose a 100 ml., con agua bidestilada. Se debe preparar en el momento de usarla.

Procedimiento:

Se coloca en un tubo de ensayo 6 ml. de la solución reactivo preparada en el día. Se añade 0.1 ml. de suero fresco del paciente. Se agita ligeramente,

friccionando el tubo entre las palmas de las manos y se lee al fotocolorímetro a los cinco minutos, usando como blanco agua bidestilada y comparándolas con las suspensiones turbias del sulfato de bario, de acuerdo con las mismas indicaciones de Shank y Hoagland para la reacción del timol⁴⁹. Este procedimiento es el llamado cuantitativo por los autores y es el que hemos utilizado nosotros.

Valores normales

Se aceptan como normales de 0 a 4 unidades turbidométricas; considerándose como dudosos los valores oscilantes 4 y 7 U.

Más de 7 U., se acepta como patológico.

En general las cifras son más bajas en los niños que en los adultos.

II.—RESULTADOS Y DISCUSION SOBRE LOS PROBLEMAS TECNICOS DEL METODO

Sellek y del Frade, al describir su método aconsejan guardar las diluciones "stock" y reactivo en la refrigeradora, renovándolas cada mes a la primera y diariamente a la segunda⁴³. En publicaciones posteriores⁴⁴ al⁴⁵ manifiestan la conservación indefinida de la solución "stock" y reactivo guardadas en la refrigeradora.

Con el fin de aclarar este problema hemos determinado en 36 casos los valores de esta prueba usando solución "stock" preparado en el día y con 4, 8, 9, 10, 12 y 18 días de preparación. Las determinaciones con solución "stock" hasta 9 días previos de preparación no mostraron diferencia significativa con el preparado en el día.

A partir de solución "stock" preparada con diez días de anticipación los valores de las determinaciones se alteran produciéndose un descenso más

manifiesto aún con las soluciones "stocks" más viejas. Concluimos que el tiempo de conservación de la solución "stock" es de hasta diez días y no más.

También hemos hallado envejecimiento de la solución reactiva pese a guardarla en frasco oscuro y en refrigeradora.

Hemos estudiado este problema en 69 sueros y en 4 plasmas, habiendo conservado la solución reactiva, según los casos veinticuatro, cuarenta y ocho, setenta y dos horas y seis meses, observando la franca disminución de los valores turbidométricos.

Hemos valorado la importancia del uso como solvente, en las soluciones "stock" y reactivo, del agua bidestilada, comparándola con agua destilada. La comparación la realizamos en 21 casos observando que el uso de agua destilada aumentó los valores en 12; los hizo descender muy ligeramente en 3 y los mantuvo iguales en 6 casos.

Creemos por lo tanto recomendable el uso de agua bidestilada ya que los valores turbidométricos se van aumentando con el uso de agua destilada simplemente. En 37 casos hemos leído al fotocolorímetro el resultado a los cinco, diez, quince y treinta minutos, y en 7 de ellos también a los sesenta minutos.

Los valores van en aumento progresivo, tanto en sueros normales como en los patológicos. El aumento es proporcional a sus valores iniciales y ligeramente mayor en los patológicos, por lo que proponemos modificar el tiempo de lectura, elevándolo de cinco minutos, propuesto por los autores, a quince minutos. Creemos que este cambio además de liberar en algo la exactitud cronométrica, permite mayor diferenciación entre los valores normales y patológicos.

En la descripción del método mantuvimos el tiempo de lectura en cinco minutos, por ser ese el tiempo que he-

mos usado en nuestras determinaciones ya que no habíamos aún valorado este factor.

En 10 casos hemos comparado los valores en suero y plasma, no habiendo diferencia significativa.

Coincidimos con la bibliografía al respecto que la determinación debe hacerse con suero fresco. En 16 casos hemos determinado el influjo del envejecimiento del suero en los resultados de esta prueba comprobando un descenso de los valores en los días siguientes a la extracción más manifiesta en los sueros patológicos.

La determinación del pH en la solución reactiva fue de 5.5.

III.—RESULTADOS SOBRE LA VALORACION CLINICA DEL METODO

Normales

Hemos determinado los valores turbidométricos con la prueba del acetato de cobre de Sellek-del Frade en 29 sueros normales, obtenidos entre dadores voluntarios de sangre y concurrentes a consultorios externos por afecciones banales.

En 25 sueros, lo que representa el 86.2% dieron valores por debajo de 4 U. Solamente 4 casos superaron ligeramente el valor de 4 U., dando en 3 casos valores de 4.50 y en uno 4.05. En 2 prematuros, en que practicamos la reacción, dieron valores por debajo de 1.80.

Enfermedades hepatobiliares

Hemos valorado la prueba en el acmé de 25 hepatitis. El 65% de ellas presentaron valores evidentemente patológicos y el 35% restante valores dudosos. No hubo resultados negativos. Los estudios seriados nos enseñan que no en todos los casos los valores adquieren cifras patológicas en el estado pre o subictérico inicial. Cabe mencionar asi-

mismo la pronta normalización de los valores en la convalecencia.

Los 35 cirróticos estudiados tenían en su amplia mayoría estudio anatomopatológico por punción-biopsia confirmatoria u operatoria. De ellos el 77% dieron cifras por encima de 4 U. y el 57.6% por encima de 7 U. En dos casos llegaron a valores de 53.1 y 55.8 unidades. En general los valores más altos se obtuvieron en cirróticos descompensados. De 35 ictericias obstructivas solamente 4 (11.5%) dieron valores evidentemente patológicos; 2 de los cuales presentaban colangitis agregada.

IV.—COMPARACION CON LAS PRUEBAS DEL TIMOL Y DEL SULFATO DE ZINC Y CON EL PROTEINOGRAMA

Sellek y del Frade y posteriormente Castillo, López Fernández y Medina comparan la reacción del acetato de cobre con las pruebas de Takata, Hanger y MacLagan.

Ambos trabajos son coincidentes en hallarla más sensible que la reacción de Takata, paralela a la de Hanger y más especialmente a la de MacLagan.

Nguyen-The-Minh la estudia relacionándola con las diversas fracciones proteicas.

Nosotros la hemos comparado con otras pruebas de floculación, en especial con la del timol de MacLagan y la del sulfato de zinc de Kunkel. Nuestra casuística en este campo abarca casi 250 determinaciones. En algo más de 100 determinaciones la estudiamos juntamente con el proteinograma obtenido por electroforesis.

Aunque hemos realizado determinaciones conjuntas con la de Hanger y el rojo coloidal, no consideramos que el número de determinaciones es suficiente para comentarlo.

Con respecto al estudio comparativo entre los valores obtenidos con la reac-

ción de Sellek-del Frade y los del timol, observamos que si bien el timol posee un mayor porcentual de patológico en las hepatopatías estadísticamente muy ligeramente significativa (significancia 2.7) posee también un mayor porcentual de falsamente positivos que estadísticamente es algo más significativa (significancia 3.2). En las hepatitis la reacción en estudio señaló lesión hepatocelular más precozmente a valores normales también con mayor prontitud en la convalecencia que la del timol.

Comparándola con la reacción del sulfato de zinc, el mayor porcentual de casos patológicos hallados con el Kunkel en las enfermedades con lesión hepatocítica primitiva no tiene significación estadística (significancia 1.22) y en cambio si la tiene el mayor porcentual de Kunkel en los casos sin lesión hepatocítica primitiva, es decir en los falsos positivos (significancia 5.13).

De lo dicho concluimos que parecería que hubiese una ligerísima superioridad de la reacción en estudio que la del timol y una más manifiesta superioridad con respecto al Kunkel en la seguridad diagnóstica basado en la menos existencia de falsos resultados positivos con esta reacción; hechos que podrán quizás ser confirmados con mayor número de casos.

Hubo correlación entre la albúmina y la prueba de Sellek-del Frade; los valores normales de la primera coincidieron en general, con valores normales del acetato de cobre y valores descendidos de albuminemia con valores altos de Sellek-del Frade.

La comparación con las alfa¹, alfa², y beta-globulinas no señaló relación alguna.

Con respecto a la gammaglobulinemia aunque hay factores que se nos escapan, existe una franca relación entre las mismas.

C.—RESUMEN Y CONCLUSIONES

Luego de dos años de experiencia con la prueba del acetato de cobre, con aproximadamente 1000 determinaciones hechas en ese lapso en forma personal, habiendo estudiado 130 hepatopatías, 40 enfermos extrahepáticos y 29 controles, llegamos a las siguientes conclusiones:

Su técnica es sencilla y breve; su uso se ve facilitado al existir un procedimiento "standard" que libera de aparatos, propios de laboratorio pero que no son accesibles a médicos de campaña; un ultramicrométodo apropiado para recién nacidos y niños y un procedimiento cuantitativo de mayor exactitud.

La cantidad de suero usada es escasa 0.1 mililitro que en el ultramicrométodo se reduce a 0.01 ml. No es aventajada en este sentido por ninguna de las pruebas de floculación más usadas; dato útil para poder introducir una técnica en el uso rutinario.

Los reactivos utilizados son fáciles de conseguir y de bajo costo. Su preparación es sencilla. La solución "stock" debe renovarse cada diez días y la reactivo prepararse en el día.

Creemos conveniente realizar la lectura a los quince minutos en vez de los 5 aconsejados por los autores. Libera en algo la exactitud cronométrica de la lectura y se obtienen valores más diferenciados entre normales y enfermos de la glándula hepática.

Hemos confirmado la inexistencia de resultados pseudopositivos en controles; la elevación de sus resultados en las enfermedades parenquimatosas hepáticas como por ejemplo 100 por ciento de positividad en las hepatitis y un 77 por ciento en las cirrosis; y en cambio resultados normales en las ictericias obstructivas (67 por ciento con sólo 10 por ciento de evidentemente patológicos).

Es semejante en los resultados a las clásicas reacciones de Kunkel y timol

y guarda relación manifiesta su positividad con la hipoalbuminemia e hiper-gamma-globulinemia.

Por todo esto creemos que esta prueba de labilidad coloidal del suero es sumamente práctica y nos alienta recomendar su uso.

E. BIBLIOGRAFIA

NACIONAL

1. *Alvarez, G. A.*: Las variaciones de la proteidemia y la reacción de Hanger en las hepatopatías. Tesis 1945. 2. *Maggi, A. L. C., Meeroff, M. e Iovine, E.*: Importancia de la reacción del cadmio de Wuhrmann y Wunderly en las afecciones hepáticas, Sem. Med. 100:29, 1952. 3. *Richer, L. A.*: La reacción de Takata como prueba de insuficiencia hepática, Sem. Med. 97:976, 1950. 4. *Zelasco, J. F.*: El hepatograma en el diagnóstico de las afecciones hepatovesiculares, Sem. Med. 99:507, 1951. 5. *Zelasco, J. F.*: Alteraciones de las proteínas en patología hepática, Rev. Asoc. Méd. Argentina 68:453, 1954.

EXTRANJERA

6. *Aron, E. y Vargues, R.*: Etude critique des test hépatiques de floculation leur remplacement par la fiche reticulo-endotheliale de Sander, La Presse Méd. 68:103, 1960. 7. *Roselli, A.*: L'Analyse néphelométrique des fractions euglobuliniques et des serums dans le diagnostic fonctionnel de afections hépatiques, Bull. Ass., Etudes phys du Foie, Num. 13, 1951. 8. *Bromachari, U. N.*: Fourth report on the treatment of Kala azar and some blood reactions in this disease, Indian Med., Gaz. 52: 319, 1917 (citado por Dreyfuss: 16). 9. *Brochmachari, U. N.*: On the presence of and easily precipitable anticomplementary globuline-like substance in human serum and its importance in the treatment of Kala azar. Indian Med.

- Gaz. 52:429, 1917 (Citado por Dreyfuss, 16). 10. *Castillo, P. A., López Fernández, F. y Medina, D.*: Nuestra experiencia con la prueba de Sellek-Frade en el diagnóstico de las hepatopatías (Informe preliminar). *Rev. de la Conf. Médica Panamericana*, 5:279, 1958.
11. *Closs, Karl*: New liver function test, *Lancet* 266:910, 1954. 12. *Cohen, P. P. y Thompson, F. L.*: Mechanism of the thymol turbidity test, *J. Lab. and Clin. Med.* 32:475, 1947. 13. *Daikos G., Matheou, P. y Athanasiadou, M.*: A new flocculation test for differentiating obstructive from hepatocelular jaundice, *Lancet* 7101:488, 1959. 14. *De la Hueriga, J. y Popper, H.*: Standardized reagent for thymol turbidity test. *J. Lab. and Clin. Med.* 34:877, 1949. 15. *Discombe, S.*: Flocculation test. *Lancet* 7081: 1005, 1959. 16. *Dreyfuss, F.*: A dilution turbidity test in the serum in comparison with the thymol turbidity and cephalin-cholesterol flocculation test. *J. Lab. and Clin. Med.* 33:672, 1948. 17. *Faher, A.*: Test spécifique de l'ictère par rétention, *La Presse Med.* 68:14, 1960. 18. *Gray, S. F.*: The colloidal reaction of blood serum in diseases of the liver, *Arch. of Int. Med.* 65:524, 1940. 19. *Greenspan, E. M.*: The effect of hepato-biliary disease on the serum acid precipitable globulin (AGP) turbidity, *J. Mt. Sinai Hosp. New York*, 21:270, 1955. 20. *Gross, W.*: Disch. *Arch. Klin. Med.* 177:461, 1935 (citado por Discombe: 15). 21. *Hanger F. M.*: Serological diff. of obstructive from hepatogeneous jaundice by flocculation of cephalin cholesterol emulsion. *J. of Clin. Inv.* 18:261, 1939. 22. *Henry, A. F. X.*: Les méthodes photométriques de séro-flocculation dans le diagnostic du paludisme (photométrie de la ferroflocculation. *C. R. Soc. Biol. Paris*, 101:259, 1929. 23. *Henry, A. F. X.*: Le diagnostic du paludisme par la photométrie de la melanoflocculation *C. R. Soc. Biol. Paris* 101:261, 1929. 24. *Henry, A. F. X.*: Seroflocculation palustre. Conditions d'observation; interpretation et discussion des résultats. *C. R. Soc. Biol. Paris* 101:1026, 1929. 25. *Henry A. F. X.*: Anti-endogenes et insuffisance hépatiques. *C. R. Soc. Biol. Paris* 101:1029, 1929. 26. *Jirgl V.*: *Klin. Wschr.* 35:938, 1957 (Citado por Fabre: 17). 27. *Jones, K. y Thompson, M. E.*: *A. J. M. A.* 166: 1424, 1958. 28. *Kingsburg, F. B., Clark, L. P., Williams, M. S. y Post, A.*: *A.J.J. Lab. and Clin. Med.* 11:981, 1928. 29. *Kunkel, H. G.*: Estimation of alteration of serum gamma-globulin by turbidimetric technique, *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.* 66:217, 1947. 30. *Kunkel, H. G., Ahrens, E. H. y Eisenmegen, W. J.*: Application of turbidimetric methods for estimation of gamma-globulin and total lipid to the study of patients with liver diseases, *Gastroenterology* 11: 499, 1948. 31. *Ley, Lewis y Davidson*: *J. of Lab. and Clin. Med.* 31:910, 1946 (citado por MacLagan). 32. *MacLagan, N. F.*: The serum colloidal gold reaction as a liver function test. *Brit. J. Ex. Path.* 25:234, 1944. 33. *MacLagan N. F.*: The thymol turbidity test a new indicator of liver dysfunction. *Brit. J. Ex. Path.* 25:234, 1944. 34. *MacLagan, N. F.*: Thymol turbidity test a new indicator of liver dysfunction, *Naturel* 54:670, 1944. 35. *MacLagan, N. F.*: Liver function test in the diagnosis of jaundice. *Brit. Med. J.* 2:197, 1947. 36. *Mateer y col.*: Further advances in liver function test and the value of a therapeutic test in facilitating the earlier diagnosis and treatment of liver impairments. *Gastroenterology* 8:52, 1947. 37. *Moore, D. B. y otros*: Mechanism of the positive cephalin cholesterol flocculation reaction in hepatitis. *J. Clin. Inv.* 26: 292, 1945. 38. *Nguyen-The-Minh*: La réaction à l'acétate de cuivre de Sellek-Frade. Son utilité dans les affections hépatiques. *La Presse Med.* 68: 1256,

1960. 39. Ray, C.: Haemolytic test in Kala azar, Indian Med., Gaz. 56:9, 1921 (citado por Dreyfuss: 16). 40. Revista Clínica Española 71:56, 1958: Reacción de precipitación para el diagnóstico del lupus eritematoso disseminado, Editorial. 41. *Rof, Carballo, J.*: Experiencia personal en las hepatitis epidémica, Revista Española de las enfermedades del Aparato Digestivo y de la Nutrición, 18:446, 1959. 42. *Sander, G.*: Un nouveau test de physiopathologie la fiche réticulo endotheliales, C. R. Acad. Sciences 230:180, 1950. 43. *Sellek, A. y del Frade, A.*: La nueva prueba turbidométrica del acetato de cobre como índice de disfunción hepática, Rev. Cubana de Lab. Clin. 10:28, 1956. 44. *Sellek, A. y del Frade, A.*: Serorreac. de turb. y floc. del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías. Prueba "standard" cuantitativa y ultramicrométodo, Rev. Cubana de Med. Tropical y Parasitología (La Habana) 13:84, 1957. 45. *Sellek, A. y del Frade, A.*: A new turbidimetric copper acetate test as an index of liver disfunction, Rev. Cubana de Lab. Clínico 11:32, 1957. 46. *Sellek, A. y del Frade, A.*: Serorreacción de turbidez y floculación del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías. Prueba "standard", cuantitativa y ultramicrométodo, Rev. Cub. de Lab. Clín. 11:55, 1957. 47. *Sellek, A. y del Frade, A.*: The cooper acetate turbidity and flocculation test in the diagnosis of diseases of liver, standard, quantitative and ultramicromethod, significance. Revista Cubana de Lab. Clínico 11:58, 1957. 48. *Sellek, A. y del Frade, A.*: Prueba de Hanger, MacLagan y Sellek-Frade en disturbios hepáticos, Arch. Med. Infantil, La Habana. 27:29, 1958. 49. *Shank, R. E. y Hoagland, Ch. L.*: A modified method for the quantitative determination of the thymol turbidity reaction of serum, Chem. 162:133, 1946. 50. *Sia, R. H. P.*: A simple method of

estimating quantitative differences in the globulin precipitation test in Kala Azar, China Med. J. 38:35, 1924 (citado por Dreyfuss: 16). 51. *Takata M. and Ara, G.*: Far Eastern Ass. Trop. Med. 1:667, 1925 (citado por MacLagan: 32). 52. *Wunderly, C. y Wuhrmann, F.*: The effect of experimental increase in gammaglobulin and albumin content of sera in the reponse liver bay turbidity and flocculation test. Brit. J. Exper. Path. 37:284, 1947. 53. *Jezler, A.: Schweiz Med. Woch. 114:739, 1930* (citado por MacLagan: 32). 54. *Celsi, T. y Trevisan, A.*: Valor diagnóstico de la reacción Sellek-Frade en las afecciones hepatobiliares, Prensa Médica Argentina, 48:19, 1961.

DISCUSION

Dr. P. García Sigüero.—Es plausible la inquietud con que el autor ha practicado la reacción del acetato de cobre con una numerosa y variada casuística, llegando a las conclusiones ya publicadas sobre el tema.

Continuamente aparecen nuevas y promisoras pruebas para medir la capacidad funcional hepática, pocas son las que perduran a base de su simplicidad y bajo costo ante otras similares y de aplicación coincidente; en este caso la reacción del acetato de cobre, que mide al igual que otras la relación de calidad y de cantidad seroalbúmina con la gammaglobulina llega beneficiada por la técnica sencilla y económicamente adaptable a la rutina del laboratorio.

Creemos que su práctica no se ha generalizado con la rapidez de otros procedimientos porque encuentra a los laboratorios sometidos a la rutina de los procedimientos clásicos.

En el último Congreso de Clínica Patológica llevado a cabo en Madrid el año pasado presenciamos el enfrentamiento del Dr. MacLagan con el Dr. Sellek, quedando como saldo que el tiempo

diría si la reacción del acetato de cobre puede llegar a reemplazar a la reacción de MacLagan como la reacción del rojo coloidal de Ducci reemplazó a la del oro coloidal.

En nombre del Dr. Antonio Sellek, con quien estamos en contacto desde nuestro encuentro en Madrid felicitamos y agradecemos el interesante trabajo que nos ha presentado el Dr. Galmarini.

Dr. Arias.—Trabajando sobre el tema hace algunos años atrás, traté de adaptar al uso clínico la prueba de autores chilenos, y encontré la misma objeción que encuentro ahora a esto; que la prueba de Dreyfuss varía en propor-

ción bastante defectuosa con respecto al pH; a mayor acidez del agua y mayor disminución del pH, mayor porcentaje de positividad. En este método no hay ningún método de ajuste de pH.

Creo que la inquietud del autor es digna de tomarse en cuenta.

Dr. O. V. Galmarini.—Agradezco el comentario del Dr. García Siguero. En cuanto al pH digo al Dr. Arias que tiene mucha importancia porque hay diferencia entre agua destilada y agua bi-distilada. Y si se actúa en ambiente diferente es factible que haya modificaciones en los porcentajes.

Reproducido de la "Prensa Médica Argentina", Vol. XLIX, No. 13, Marzo 30 de 1962, Pág. 739.