

*Prueba de Sellek y Frade de coagulación al Etanol
(S.F.C.E.)^(*)
para el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipoidica^(**)*

Estudio comparativo con la reacción de Solé al Azul de Nilo

Por los Dres.:

ANTONIO SELLEK Y ALEJANDRO DEL FRADE

Técnica: HILDA T. HERNÁNDEZ, DR. RENE DÍAZ

Técnicos: ELADIO DE CASTRO Y MAURA SAN MARTÍN

El término nefrosis lipoidica que define los resultados obtenidos en esta comunicación, se refiere a una afección caracterizada por edemas, asociada a marcada proteinuria, proteínas plasmáticas siempre bajas (hipoproteinemia e hiposerinemia). El fibrinógeno y las fracciones globulínicas alfa 2 y beta, están aumentadas; especialmente la primera. La globulina gamma está inmodificada o descendida.

En diciembre 15 de 1961, Solé¹ en la revista "Klinische Wochenschrift" describe una reacción coloreada, para el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipoidica, usando como reactivo una solución acuosa al 0.1 gramo % de Azul de Nilo. Es este un colorante específico de los lípidos.

La técnica de la reacción de Solé es la siguiente: se coloca en una lámina

de cristal (nosotros usamos láminas excavadas), una gota de suero sanguíneo, recientemente obtenido y libre de hemólisis. Se agrega una gota del colorante. Mezclar con un aplicador de madera. Inclinarse la lámina suavemente. Si la reacción es positiva, se manifiesta ésta por un cambio de coloración del colorante de azul a carmelita. La positividad de la reacción se reportará por cruces (+ a ++++). En los casos negativos se mantiene el color azul del colorante. Esto último ocurre en normales y en aquellos de nefrosis lipoidica en remisión clínica y biológica. El mecanismo de la reacción de Solé es desconocido.

Al revisar la literatura internacional, sólo hemos encontrado un trabajo sobre esta prueba; que lo es el efectuado por Sirvent y otros,² en el Hospital de Niños "J. M. de los Ríos" de Caracas. Ellos estudian la prueba del Azul de Nilo en un grupo de 11 casos de nefrosis lipoidica, encontrando reacciones positivas en nueve pacientes con síndrome nefrótico activo, siendo negativa en dos casos que se encontraban en remisión clínica. Como control de sus estudios

(*) La abreviatura S.F.C.E. significa *Sellek-Frade Coagulación al Etanol*.

(**) Trabajo del Departamento de Laboratorio Clínico Central del Hospital Infantil de la Habana, "Pedro Borrás Astorga". Comunicación presentada en la sesión científica del Hospital, correspondiente a agosto 5 de 1966.

N. de la R. Recibido para su publicación el 5 de agosto de 1966.

emplearon 88 niños, 42 de ellos de nefropatías de diverso tipo (glomérulonefritis aguda, glomerulonefritis crónica y pielonefritis) y 46 con otras enfermedades (afecciones pulmonares, diarreas, síndrome pluricarenal edematoso, cirrosis hepática, artritis reumatoidea, quemaduras, sarampión etc.). Ellos expresan que no pueden llegar a conclusiones definitivas, aunque consideran que la reacción del Azul de Nilo es un método útil y sencillo, para el diagnóstico del síndrome nefrótico, siendo quizás un recurso más para seguir la evolución de esta enfermedad, ya que resulta evidentemente positiva cuando se encontró en actividad y negativa en la fase de remisión y piden continuar el estudio de esta reacción para lograr conclusiones valederas.

Al trabajar con dicha prueba ocupó nuestra atención el efectuar investigaciones científicas con otros colorantes y sustancias químicas diversas, encontrando que el etanol de 95 grados, ofrecía en cuanto a sensibilidad resultados similares a los del Azul de Nilo y era superior en especificidad. La positividad de la prueba se caracteriza por la formación de un coágulo en los casos positivos y ausencia del mismo en los negativos. Fundamento de la prueba del Etanol. Descansa en el principio de que una gota de suero de un niño normal, mezclado con una gota de alcohol etílico de 95 grados, permanece estable; mientras que un suero de un niño afecto de nefrosis lipóidica, en las mismas condiciones forma un coágulo.

TÉCNICA

1. Colocar en una lámina de cristal excavada, una gota de suero sanguíneo fresco, libre de hemólisis. La reacción no se presta para ser usada en tubos.

2. Añadir una gota de alcohol etílico natural de 95 grados. Si se quiere colorear previamente el alcohol con 0.1 gramo % de rojo escarlata bieblich Merck. Filtrar. Nosotros usamos un alcohol etílico natural de 95 grados de fabricación cubana.
3. Mezclar con un aplicador de madera.
4. La formación de un coágulo bien definido, se reportará como reacción positiva fuerte (+++ y ++++) proporcionalmente reacciones de menor intensidad se informarán como positivas débiles (+ a ++).
5. En los casos negativos hay ausencia de coagulación manifiesta, permaneciendo el Etanol coloreado o no, con sus características propias, al mezclarlo con el suero sanguíneo. En ocasiones se observan coagulitos muy pequeños e indefinidos, carentes de significación clínica. Estos son diferentes al coágulo característico observado en las reacciones positivas.
6. La reacción puede también ser usada con plasma sanguíneo, pero los mejores resultados se obtienen empleando suero.

No conocemos el mecanismo de la reacción, ni las causas determinantes; así como tampoco la participación que tienen los distintos elementos del suero sanguíneo; pero existe un hecho indiscutible y es el de que la coagulación se verifica frente al suero en la nefrosis lipóidica en fase activa y no en otras enfermedades y en normales. El mecanismo puede ser intrincado o tan simple como el de la coagulación de proteínas séricas anormales por el Etanol o de sustancias que forman complejos con las proteínas del suero o por la existencia de algún factor, que reacciona con el Etanol, transforma el estado coloidal y precipita las proteínas normales del suero sanguíneo.

La adición de 0.1 gramo % de rojo escarlata biebrich Merck al Etanol, se hace a fin de facilitar la lectura de la reacción. Este colorante no modifica los resultados obtenidos, pero nosotros recomendamos su uso en la proporción indicada.

En nuestras investigaciones hemos empleado un Etanol (C^2H^5OH) natural de 95 grados de fabricación cubana. Con alcoholes de menor grado la reacción se hace negativa, frente a casos positivos. Usando un alcohol etílico absoluto de 99 grados, la reacción se manifiesta como más intensamente positiva, pero tiene el defecto de dar con negativos resultados positivos inespecíficos; por tanto, los mejores resultados se obtienen empleando un Etanol natural de 95 grados, coloreado con rojo escarlata biebrich en la proporción de 0.1 gramo %.

RESULTADOS

El objeto de la presente comunicación es la de presentar los datos obtenidos con ambas reacciones (Solé y Etanol), en una serie de casos de nefrosis lipóidica (síndrome nefrótico) 17 de ellos en fase activa y 24 en remisión, por acción del tratamiento con esteroides. Conjuntamente a las reacciones del Azul de Nilo y del Etanol, se efectuó en todos ellos dosificaciones químicas de las proteínas séricas y del colesterol sanguíneo. En un grupo igualmente se realizó un estudio del fraccionamiento de las proteínas séricas por electroforesis. Además llevamos a cabo paralelamente ambas reacciones sobre 500 (quinientos) sueros, tomados sin ningún criterio discriminativo, procedentes de enfermos ingresados en los diferentes servicios (lactantes y mayores) del Hospital Infantil "Pedro Borrás Astorga".

Los resultados son mostrados en los cuadros I, II, III, IV y V.

En la fase activa de la nefrosis lipóidica (síndrome nefrótico), ambas pruebas son fuertemente positivas y coinciden en el 100%; sin embargo, en un caso de este grupo, la reacción del Etanol, se mostró positiva fuerte y la de Solé del Azul de Nilo era negativa. En otro la del "Etanol" fue más precozmente positiva, que la de Solé en un paciente en la fase activa de la enfermedad.

En la fase de remisión clínica inducida por el tratamiento con esteroides, ambas reacciones concuerdan también en el 100 %, dando resultados negativos o débilmente positivos.

En el grupo control de 500 (quinientos) sueros sanguíneos de lactantes y mayores con enfermedades diversas: Gastroenteritis, neumonía, bronconeumonía, diabetes mellitus, hepatitis viral, cirrosis hepática, íctero obstructivo, íctero neonatal, anemias: Siderémicas, hemolíticas, sickle cell, reumatismo, tuberculosis, glomerulonefritis agudas, glomerulonefritis crónicas (con cifras de urea de más de 100 mlgrs.%), procesos febriles, distrofia, cardiopatías diversas, parasitismo intestinal, hiper e hipotiroidismo, etc. la reacción al "Etanol" fue negativa en todos.

Con la reacción de Solé al Azul de Nilo, se obtuvieron positividad inespecíficas en cuatro ocasiones. Estas fueron un caso de Enfermedad de Hodgkin, un caso con gastroenteritis parasitaria (ameba histolítica), uno de neumonía a neumococo con derrame pleural y finalmente uno con hepatitis viral. En ninguno de ellos el estudio electroforético del suero fue el típicamente observado en la nefrosis lipóidica. En todos la reacción de Solé se hizo negativa al curar clínicamente los pacientes. La reacción del "Etanol" no ofreció resultados positivos falsos en ninguno de los

quinientos sueros estudiados en este grupo.

COMENTARIO

El presente estudio indica que existe un acuerdo casi absoluto (100%) entre la reacción de Solé y la prueba del Etanol en el 100% de los casos de nefrosis lipóidica en fase activa. En la fase de remisión clínica, también ambas pruebas concuerdan en el 100% dando resultados negativos, dudosos o muy débilmente positivos.

Entre los datos bioquímicos de la sangre encontramos como constante la hipoproteïnemia y la hiposcrinemia, que se encuentran presentes en el 100% de los casos en fase activa. La colesterolemia por el contrario fue variable.

La reacción del Etanol, parece ser rigurosamente específica de nefrosis lipóidica, no siéndolo así la reacción del Azul de Nilo que en una escala de 500 sueros, muestra un 0.8% de resultados inespecíficos.

La substancia o substancias que producen la positividad de ambas reacciones, es de naturaleza desconocida. Esto no parece para la de Solé deberse a anomalías de ninguna de las fracciones que componen el proteinograma, pues dicha prueba se comporta igualmente como positiva en aquellos casos en los que no existe uniformidad de los hallazgos electroforéticos de esta enfermedad, como en los que no lo presentan.

Tampoco la hipercolesterolemia es la causa de la positividad en ninguna de ambas reacciones, pues ellas son positivas, tanto en los casos de nefrosis lipóidica con cifras elevadas de colesterol como en los que la hipercolesterolemia es leve, por otra parte hemos aplicado ambas pruebas en estados patológicos en adultos no nefróticos, con

aumento notable del colesterol sanguíneo hasta de 500 mlgrs.%, siendo en todos ellos ambas reacciones negativas.

Las discrepancias en el material clínico integrado por enfermedades diversas y el resultado final de ambas pruebas (en uno decoloración y en otro coagulación), hace aparecer como seguro, que las respectivas fracciones responsables de ambas pruebas no sean idénticas.

En la glomerulonefritis agudas y crónicas, ambas pruebas son negativas, excepción hecha de aquellos pacientes portadores de un síndrome nefrótico, quienes desarrollan una glomerulonefritis. Son pues, dichas pruebas negativas en las nefritis y positivas en las nefronefritis (formas mixtas).

Debido a la rapidez, sensibilidad, especificidad y economía de la prueba del Etanol, ella puede ser empleada como prueba de rutina, junto a las investigaciones bioquímicas, en casos conocidos de nefrosis lipóidica o de diagnóstico difícil o dudoso. La reacción de Solé al dar un 0.8% de resultados inespecíficos (menos del 1%), merece también incluirse en este estudio, además de ser rápida y sensible.

El diagnóstico serológico por las pruebas de Solé y del Etanol, es útil y rápido en la práctica clínica, para el diagnóstico diferencial de la nefrosis lipóidica de otros procesos al ofrecer datos esenciales. Es bien sabido que algunas enfermedades como la sífilis, difteria, diabetes mellitus, lupus eritematoso, tuberculosis renal, enfermedad de Niemann-Pick, edemas nutricionales, intoxicaciones por substancias diversas (fósforo, cloroformo, bicloruro de mercurio), complicaciones de la penicilino-terapia etc. pueden presentar un cuadro con todos o casi todos los síntomas clínicos de la nefrosis lipóidica.

El grado de positividad de las reacciones del Azul de Nilo y del Etanol, en el curso de la nefrosis lipóidica (síndrome nefrótico) constituye un elemento de destacado valor para el pronóstico.

Cuando se observa una remisión clínica y bioquímica completa, ambas pruebas serológicas se hacen negativas.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

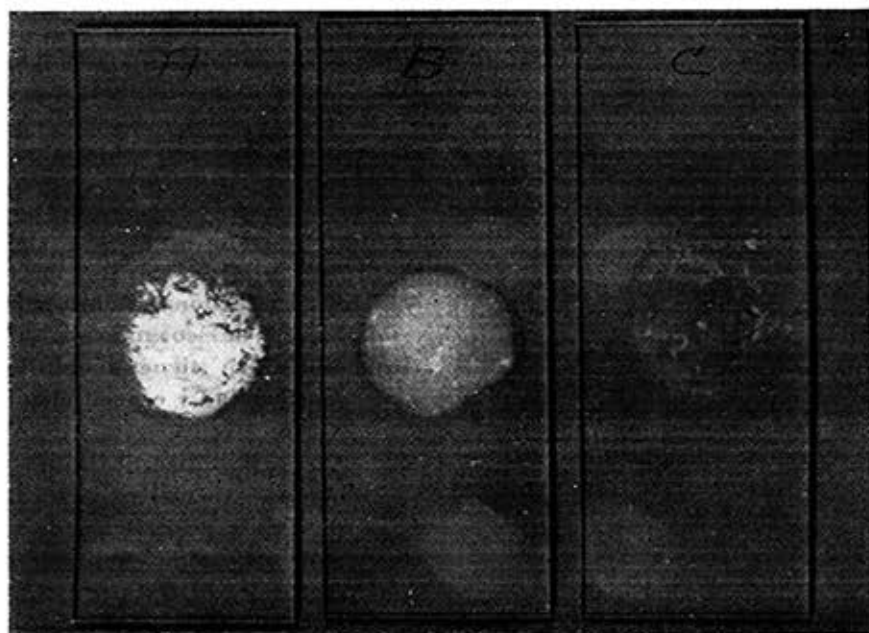
1. Los autores practican por primera vez en Cuba, la reacción de Solé al Azul de Nilo y proponen una nueva prueba, con alcohol etílico natural de 95 grados para el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipóidica (síndrome nefrótico).
2. El estudio ha sido llevado a efecto sobre 17 casos de nefrosis lipóidica en fase activa y 24 en estado de remisión y en sueros de 500 (quinientos) niños (lactantes y mayores), con enfermedades diversas, ingresados en los distintos servicios del Hospital Infantil de la Habana "Pedro Borrás Astorga".
3. En la fase activa de la nefrosis lipóidica, ambas reacciones coinciden en el 100%, excepto en un paciente en el cual la prueba del Etanol, resultó positiva y la de Solé negativa.
4. En la fase de remisión clínica, también ambas pruebas concuerdan en el 100%, dando resultados negativos o débilmente positivos.
5. En un estudio sobre 500 (quinientos) sueros de pacientes con enfermedades diversas, la reacción de Solé dio resultados positivos falsos en el 0.8% de los casos, no así la prueba del Etanol (S.F.C.E.) que fue negativa en el 100%.
6. Tanto la prueba de Solé al Azul de Nilo, como la de la coagulación del Etanol (S.F.C.E.), por su simplicidad, rapidez, economía y porcentaje de positividad en la fase activa, deben ser empleadas sin reserva en el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipóidica.
7. Ambas reacciones la una de coloración (Solé) y la otra de coagulación (Etanol), son útiles en el diagnóstico diferencial de la nefrosis lipóidica de otros procesos que la simulan.
8. El mecanismo que producen las reacciones positivas de Solé así como del Etanol (S.F.C.E.) es desconocido para esta última (Etanol), la positividad parece deberse a la acción del alcohol etílico, sobre complejos anormales propios de la nefrosis lipóidica o por la existencia de alguna sustancia que transforma el estado coloidal y hace que el alcohol precipite las proteínas normales del suero.
9. Los autores proponen a través de ambas pruebas, la utilización sistemática en clínica del estudio serológico, junto al bioquímico, para el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipóidica (síndrome nefrótico).
10. En conclusión la nueva prueba serológica de coagulación al Etanol (S.F.C.E.) tiene un alto grado de sensibilidad y especificidad, para el diagnóstico y pronóstico de la nefrosis lipóidica. Ella no requiere equipo especial ni experiencia. No da falsos positivos y es una reacción de rápida realización y utilidad práctica. La persistencia de su positividad en pacientes bajo tratamiento es signo de actividad del proceso.

PRUEBA DE SELLEK Y FRADE DE COAGULACION AL ETANOL (S.F.C.E.) PARA EL DIAGNOSTICO Y PRONOSTICO DE LA NEFROSIS LIPOIDICA

FUNDAMENTO. Descansa en el principio de que una gota de suero de un niño normal, mezclado con una gota de alcohol etílico natural de 95 grados, permanece estable; mientras que un suero de un niño afecto de nefrosis lipóidica en fase activa, en las mismas condiciones forma un coágulo.

TÉCNICA

1. Colocar en una lámina de cristal excavada una gota de suero sanguíneo fresco y libre de hemólisis. La reacción no se presta para ser usada en tubos. La prueba se practicará siempre con suero; en circunstancias especiales se empleará plasma.
2. Añadir una gota de alcohol etílico de 95 grados. Si se quiere colorearlo previamente con 0.1 gramo % de rojo escarlata hiebrich Merck. Filtrar. Nosotros usamos un alcohol etílico natural de 95 grados de fabricación cubana.
3. Mezclar con un aplicador de madera.
4. La formación en segundos de un coágulo bien definido se reportará como reacción positiva fuerte (+++ y ++++ cruces), proporcionalmente reacciones de menor intensidad se informarán como positivas débiles (+ a ++ cruces).
5. En los casos negativos, hay ausencia de coagulación manifiesta permaneciendo el Etanol coloreado o no, con sus características propias, al mezclarlo con el suero sanguíneo. En ocasiones se observan coagulos muy



A) Reacción Positiva Fuerte (++++) B) Reacción Positiva Débil (++) C) Reacción Negativa

pequeños e indefinidos, carentes de significación clínica. Estos son diferentes al coágulo característico observado en las reacciones positivas. La abreviatura S.F.E.C. significa *Sellek y Fraide Coagulación al Etanol*.

SUMMARY AND CONCLUSIONS

1. The authors have performed Solé's Nile blue reaction for the first time in Cuba. They propose a new test, using 95° pure ethyl alcohol to establish the diagnosis and formulated the prognosis of lipoid nephrosis (nephrotic syndrome).
2. A study has been made of 17 cases in the active stage of lipoid nephrosis and of 24 cases with clinical remission and of 500 (five hundred) children (infants and older) with various diseases, all inpatients of different wards of the Children's Hospital "Pedro Borrás Astorga", Havana.
3. During the active stage of lipoid nephrosis, both tests were concordant in 100% except in one patient in whom the ethanol test was positive and Solé's negative.
4. In the phase of clinical remission both test also agreed in 100% of the cases being negative or weakly positive.
5. In a study of 500 (five hundred) serum samples of patients affected with various diseases, Solé's test gave 0.8% of false positives while the ethanol test (S.F.E.C.) was negative in all cases (100%).
6. Both Solé's Nile blue test and the ethanol coagulation test (S.F.E.C.), should, for their simplicity, swiftness of the procedure, economy and rate of positivity during the active phase, be employed without re-

serve for establishing both the diagnosis and prognosis of lipoid nephrosis.

7. Both reactions, the one (Solé's) being a color test and the other (S.F.E.C.) a coagulation test, are useful to establish the differential diagnosis of lipoid nephrosis from entities simulating this disease.
8. The mechanism of positive reactions in both Solé's and the ethanol test (S.F.E.C.) is still unknown. In the latter positive reactions seem to be caused either through the action of ethyl alcohol on abnormal complexes peculiar to lipoid nephrosis or by the presence of a substance that produces a change in the colloidal state and makes alcohol precipitate normal serum proteins.
9. The authors have proposed routine clinical use of serological studies, employing both the mentioned test, along with biochemical studies to establish the diagnosis and prognosis of lipoid nephrosis (nephrotic syndrome).
10. In summary, the new serological test, the ethanol test, is highly sensitive and specific for establishing the diagnosis and prognosis of lipoid nephrosis. It does not require special equipment nor experience and does not give false positive findings. It is quick done and useful in practice. Persistence of positivity is a sign of activity of the process.

THE ETHANOL TEST OF SELLEK, FRAIDE ET AL. (S.F.E.C.) FOR ESTABLISHMENT OF THE DIAGNOSIS AND PROGNOSIS OF LIPOID NEPHROSIS

PRINCIPLE: This test is based on the fact that a drop of serum from a normal child, mixed with a drop of ethyl alcohol of 95° maintains its stability, while

serum from a child in the active stage of lipid nephrosis will clot, in the same conditions.

METHOD

1. Deposit one drop of fresh blood serum showing no sign of hemolysis, on an excavated slide. The test is not suitable to be performed in test tubes. It should always be performed using serum; only in special circumstances shall blood plasma be used.
2. Add one drop of 95° ethyl alcohol (stain, first, if so wished, with 0.1 gm. % of Biebrich Scarlet Red, Merck). Filter. We use 95° pure alcohol made in our country.
3. Mix with a wooden applicator.
4. Development within seconds of a well defined clot should be reported as highly positive reaction (+++ or ++++) while proportionally less intense reactions shall be reported as weakly positive (+ or ++).
5. In negative cases, there is no evidence of clotting, the ethyl alcohol, stained or not, conserving its characteristic properties when mixed with the serum. Sometimes tiny little defined clots, devoid of any clinical significance can be seen. These clots differ from the characteristic clot observed in positive reactions.

The abbreviation S.F.E.C. means Sellek-Frade's ethanol coagulation method.

RESUME ET CONCLUSIONS

- 1e. Les auteurs ont fait, pour la première fois à Cuba, l'épreuve de Solé au bleu de Nil et proposent une nouvelle épreuve employant l'alcool éthylique naturel de 95 degrés pour établir le diagnostic et le pronostic

de la néphrose lipoïde (syndrome néphrotique).

- 2e. L'étude s'est faite chez 17 cas atteints de néphrose lipoïde dans la phase active et chez 24 cas en rémission clinique et chez 500 (cinq cents) enfants (nourissons et plus âgés) souffrant de diverses maladies qui avaient été admis à l'Hôpital de l'Enfance "Pedro Borrás Astorga" à La Havane.
- 3e. Dans la phase active de la néphrose lipoïde, les deux réactions s'accordaient entre elles dans 100% sauf chez l'un des patients où l'épreuve de l'éthanol était positive et celle de Solé négative.
- 4e. Dans la phase de rémission clinique les deux épreuves s'accordaient entre elles dans 100% donnant des résultats négatifs ou positifs faibles.
- 5e. Dans une étude faite sur 500 (cinq cents) échantillons de sérum appartenant à des patients atteints de maladies diverses, la réaction de Solé donnait des résultats faux positifs dans 0.8% des cas mais pas l'épreuve de l'éthanol (S.F.C.E.) qui était négative chez tous les cas, c'est-à-dire, chez 100%.
- 6e. L'épreuve de Solé au bleu Nil aussi que celle de la coagulation par l'éthanol (S.F.C.E.) pour être simples expéditives et économiques le pourcentage des données positives obtenues avec celles-ci dans la phase active, doivent être employées sans aucun souci pour établir le diagnostic et le pronostic de la néphrose lipoïde.
- 7e. Les deux réactions, celle de la coloration et celle de la coagulation (S.F.C.E.) sont utiles pour le diagnostic différentiel de la néphrose

lipoïde des autres maladies que simulent celle-ci.

- 8e. Le mécanisme qui produit les réactions positives dans les épreuves de Solé e de l'éthanol (S.F.C.E.) reste inconnu. A l'égard de la dernière, on peut dire que la positivité paraît être due à l'action de l'alcool éthylique sur des complexes anormaux propres de la néphrose lipoïde ou à la présence de quelque substance qui change l'état colloïdal et fait que l'alcool précipite les protéines normales du sang.
- 9e. Les auteurs proposent, en parlant des deux épreuves, l'emploi routinier dans la pratique clinique de l'étude sérologique à côté de la biochimique pour établir le diagnostic et le pronostic de la néphrose lipoïde (du syndrome néphrotique).
- 10e. En concluant on peut dire que la nouvelle épreuve sérologique de l'éthanol possède un haut degré de sensibilité et de spécificité pour établir le diagnostic et le pronostic de la néphrose lipoïde. Cette épreuve n'exige ni appareillage spécial ni de l'expérience. Elle ne donne pas de résultats faux positifs, et en plus, c'est une réaction qui se fait vite et qui est utile dans la pratique. La persistance de la positivité de cette réaction pendant le traitement indique l'activité du procès.

EPREUVE A L'ETHANOL DE SELLEK-FRADE ET COLLABORATEURS POUR ETABLIR LE DIAGNOSTIC ET LE PRONOSTIC DE LA NEPHROSE LIPOIDE

PRINCIPE

L'épreuve se base sur le fait qu'une goutte de sérum d'un enfant normal mêlée avec une goutte d'alcool éthylique naturel de 95 degrés, se tient stable,

tandis que le sérum d'un enfant atteint de néphrose lipoïde dans la phase active de celle-ci, produit un coagulum dans les mêmes circonstances.

METHODE

1. Mettre sur une lame de verre creusée une goutte de sérum frais et ne montrant point d'hémolyse. La réaction n'est pas à propos pour se faire dans des éprouvettes. L'épreuve doit toujours se faire avec du sérum; seulement dans des circonstances spéciales on emploiera du plasma.
2. Ajouter une goutte d'alcool éthylique de 95 degrés (Si l'on veut on peut lui donner de la couleur préalablement avec 0.1 g.% de rouge écarlate Biebrich de Merck). Filtrer. Nous employons de l'alcool éthylique naturel de 95 degrés produit à Cuba.
3. Méler avec une petite baguette de bois.
4. La formation dans des secondes d'un coagulum bien défini sera rapportée comme une réaction positive forte (+++ ou ++++) et les réactions relativement plus faibles devront se rapporter comme des réactions positives faibles (+ ou ++).
5. Chez les cas négatifs, il y a l'absence de coagulation manifeste, l'éthanol se tenant coloré ou non, avec ses caractéristiques propres quand on le mêle avec le sérum sanguin provenant de ces cas.

Parfois on voit très petits coagulums d'aspect indéfini et que manquent de signification clinique; les coagulums-ci diffèrent de celui caractéristique que l'on observe dans les réactions positives.

L'abréviation S.F.C.E. signifie: méthode de Sellek et Frade de la coagulation par l'éthanol.

ZUSAMMENFASSUNG UND FOLGERUNGEN

1. Die Autoren haben zum ersten Male in Kuba die Nilblaureaktion von Solé durchgeführt. Sie schlagen eine neue Probe, die Athylalkohol gebraucht, für die Feststellung der Diagnose und Prognose der Lipoidnephrose vor.
2. Die Autoren haben ein Studium von 17 Fällen von Lipoidnephrose im aktivem Stadium und von 21 Fällen in klinischer Remission, durchgeführt, sowie auch von 500 (fünfhundert) an verschiedenen Krankheiten leidenden und im Havanner Kinderspital "Pedro Borrás Astorga" eingelieferten Kindern (Säuglingen und älteren).
3. Im aktiven Stadium der Lipoidnephrose stimmten beide Reaktionen in 100% der Fälle überein, mit Ausnahme eines Falles in welchem die Athanolprobe positiv und die Solé'sche Probe negativ waren.
4. In der Phase klinischer Remission stimmen auch beide Proben in 100% der Fälle überein, bei negativen oder schwach positiven Befunden.
5. In einem Studium von 500 (fünfhundert) Serumproben, die von Patienten mit verschiedenen Krankheiten stammten, ergab die Solé'sche Reaktion positive Befunde in 0.8% der Fälle, nicht so die Athanolprobe (S. F. A. K.), welche in allen, also in 100%, negativ war.
6. Die Solé'sche Nilblauprobe sowie die Athanolkoagulationsprobe (S. F. A. K.) solten, ihrer Einfachheit, Schnelle, niedrigen Kosten und Positivitätsprozentsatzes wegen, ohne Vorbedachtung für Feststellung der Diagnose und Prognose der Lipoidnephrose angewendet werden.
7. Beide Reaktionen, die (Solé'sche) Färbungs- und die Koagulationsreaktion (S.F.A.K.) sind für die Differentialdiagnose der Lipoidnephrose, um diese von anderen, sie vortäuschenden Vorgängen, zu unterscheiden, nützlich.
8. Der Mechanismus durch welchen die positiven Solé'schen und Athanolreaktionen (letztere kurz S.F. A.K.) erzeugt werden ist unbekannt. Im Fall der zweiten Reaktion scheint die Positivität durch die Wirkung des Athylalkohols auf abnormale, der Lipoidnephrose eigenen Komplexe oder durch dem Vorhandensein einer Substanz welche den kolloidalen Zustand ändert und welche verursacht dass der Alkohol die normalen Serumweißkörper präzipitiert, erzeugt zu werden.
9. Die Autoren schlagen die systematische Benützung in der Klinik der serologischen Untersuchungen an Seite der biochemischen für die Feststellung der Diagnose und Prognose der Lipoidnephrose (des nephrotischen Syndroms), vor.
10. Kurz gefasst, die neue serologische Probe; die Athylalkoholprobe, ist von grosser Empfindlichkeit und Spezifität; für die Feststellung der Diagnose und Prognose der Lipoidnephrose. Sieverlangt keine spezielle Geräte und auch keine Erfahrung. Sie ergibt keine falsch positive Befunde und ist eine schnelle und in der Praxis nützliche Probe. Die anhaltende Positivität bei den Patienten während der Behandlung zeigt auf die Tätigkeit des Vorganges hind.

ATHANOLPROBE VON SELLEK FRADE
UND MITARBEITER (S.F.A.K.) DIE FEST-
STELLUNG DER DIAGNOSE UND PROG-
NOSE DER LIPOIDNEPHROSE.

BEGRÜNDUNG.—Die Probe beruht auf der Tatsache dass das Serum eines normalen Kindes, mit einem Tropfen reinem 95 Athylalkohol vermischt, sich stabil verhält, während des Serum eines Kindes mit Lipoidnephrose im aktiven Stadium, in denselben Umständen, ein Koagulum bildet.

METHODE

1. Auf einer gehöhlten Glasplatte gebe man einen Tropfen frischen Blutserums ohne Zeichen von Hämolyse. Die Reaktion ist nicht für Reagenzgläser geeignet. Diese Probe soll immer im Serum durchgeführt werden; nur in speziellen Umständen soll man Plasma gebrauchen.
2. Mache einen Tropfen 95 Athylalkohol zu. (Falls gewünscht, färbe man früher den Alkohol mit 0.1 g. Biebrichs Scharlachrot von Merck). Man filtriere. Wir gebrauchen in

Kuba erzeugten reinen 95 Athylalkohol.

3. Man mische mit einem Holzstäbchen.
4. Die Bildung eines deutlichen Koagulums in wenigen Sekunden soll man als stark positive Reaktion (+++ oder ++++) und die verhältnismässig schwächeren Reaktionen als schwach positive (+ oder ++), melden.
5. In den negativen Fällen ist jede sichtbare Koagulation abwesend, der Athylalkohol bleibt gefärbt oder nicht, aber mit den charakteristischen Eigenschaften, wenn mit dem Blutserum vermischt. Zumals sieht man sehr kleine undeutliche Gerinnsel, die klinisch bedeutungslos sind. Dieselben unterscheiden sich von dem charakteristischen Koagulum das man in den positiven Reaktionen sieht.

Die Abkürzung S.F.A.K. bedeutet: Sellek-Frade'sche Athanolkoagulationsmethode.

CUADRO I
NEFROSIS LIPOIDICA (SINDROME NEFROTICO) ACTIVA O EN RECAIDA

Solé	S.F.C.E.	P.T.	Serina	Globulinas	Colesterol total	Otras Investigaciones
1. +++	+++ ⁻	5.51	3.42	2.09	222	Urea: 31.9 mlgrs.%. Proteinuria 1.60 grs. por 1000.
2. ++++ ⁻	++++	2.85	1.90	0.95	300	Urea: 30 mlgrs.%. Calcio total 8 mlgrs. por ciento. Fósforo in- orgánico 5.89. Fosfa- tasa alcalina 11.45 U. Bodansky.
3. ++	++	4.7	3.4	2.2	166	
4. ++++	++++	2.66	1.52	1.14	400	
BAJO TRATAMIENTO						
Dudosa	+	5.7	3.14	2.66	195	
5. ++++	++++	3.61	—	—	280	Urea: 26 mlgrs.%.
6. +++	+++	2.47	1.14	1.33	266	
++	—++					
BAJO TRATAMIENTO						
7. +++	+++	4.94	2.66	2.28	150	
8. +++	+++	3.04	1.14	1.90	250	Nefrosis. Peritonitis.
++	++	3.42	1.14	2.28	333	Urea: 55 mlgrs.%.
+	+					
9. +	+	5.13	3.23	1.90	200	Proteinuria 1.60 grs. por 1000.
10. +++	+++	3.04	1.71	1.33	400	
11. ++++ ⁻ +	++++	3.01	1.14	1.90	333	Nefrosis. Peritonitis. Leucemia. Fallecida.
12. ++++	++++	3.80	1.90	1.90	500	
13. +++	+++	3.42	1.90	1.52	333	Urea: 39.5.
14. Neg.	+++	5.89	3.23	2.66	250	Urea: 37.5
15. Neg.	+++	3.61	2.28	1.33	333	Urea: 22.5
EXAMEN SEROLOGICO POSTERIOR						
+++	+++					
16. ++++	++++	5.10	2.00	3.10	266	Urea: 25 Eritro. 75 mm.
17. +++	+++	4.71	2.98	1.73	365	

CUADRO II
NEFROSIS LIPOIDICA (SINDROME NEFROTICO) REMISION CLINICA

	Solé	S.F.C.E.	P.T.	Serina	Globulinas	Colesterol Total	Otras Investigaciones
1.	Neg.	Neg.	5.32	3.42	1.90		
2.	Neg.	Neg.	4.94	3.23	1.71	180	Urea: 25 mlgrs.%
3.	Neg.	Neg.	4.56	2.66	1.90	180	
4.	Neg.	Neg.	5.13	3.23	1.90	150	
5.	Neg.	Neg.	4.94	3.04	1.90	170	
6.	Neg.	Neg.	5.13	3.40	2.90	190	
7.	Neg.	Neg.	4.94	2.66	2.28		
8.	Dudosa	+	4.94	3.04	1.40	180	
9.	Dudosa	+	—	—	—	—	
10.	Neg.	Neg.	6.08	2.47	3.61	222	
11.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	
12.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	
13.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	
14.	Neg.	Neg.	5.70	3.80	1.90	153	Urea: 20 mlgrs.%
15.	Neg.	Neg.	6.08	3.61	2.47	166	
16.	Neg.	Neg.	4.56	2.47	2.04	150	
17.	Neg.	Neg.	5.51	3.61	1.90	133	
18.	++	++-	3.42	2.28	1.14	200	
19.	Neg.	Neg.	5.70	3.80	1.90	153	Urea: 22 mlgrs.%
20.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	
21.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	
22.	Neg.	Neg.	5.13	3.42	1.51	133	Urea: 52.5 mlgrs.%
23.	Neg.	Neg.	4.75	3.04	1.72	111	Urea: 35 mlgrs.%
24.	Neg.	Neg.	4.18	3.23	0.95	200	Urea: 27 mlgrs.%

CUADRO III
NEFROSIS LIPOIDICA. ELECTROFORESIS DE LAS PROTEINAS SERICAS Y REACCIONES DEL AZUL DE NILO Y ETANOL

Solé	S.F.C.E.	P.T. Gm. %	Serina	Cantidades expresadas %			Gamma Globulina
				Alfa 1	Alfa 2	Beta	
1.	++++	2.20	19.5	3.6	42.2	20.2	14.5
2.	+++	4.30	25	2.7	37.2	17.3	17.7
3.	++++	3	15.5	5.2	56	12.1	11.2

CUADRO IV
GLOMERULONEFRITIS AGUDAS Y CRONICAS

	Solé	Etanol	P.T.	Cantidades expresadas en gramos %			Urea
				Serina	Globulinas	%	
1.	Neg.	Neg.	6.08	2.47	3.61	42	mlgrs.%
2.	Neg.	Neg.	—	—	—	21	"
3.	Neg.	Neg.	6	3.80	2.20	60	"
4.	Neg.	Neg.	—	—	—	—	"
5.	Neg.	Neg.	—	—	—	61	"
6.	Neg.	Neg.	—	—	—	85	"
7.	Neg.	Neg.	—	—	—	100	"
8.	Neg.	Neg.	5.13	3.42	1.51	55	"

CUADRO V
CASOS PRESUMIBLEMENTE FALSOS POSITIVOS DE LA REACCION DE SOLE DEL AZUL DE NILO

	Solé	P.T. Gm.%	Serina %	Alfa 1 %	Alfa 2 %	Beta %	Gamma %	Diagnóstico
1.	+++	6.5	63.5	3.5	8.2	10.6	14.2	Gastroenteritis parasitaria (ameba histolítica).
2.	+++	6.2	43	4.6	13.7	18.6	20.1	Neumonía a neumococo. Derrame pleural.
3.	++	5.3	53	4	13.4	16	13.6	Hepatitis viral.
4.	++	6.70	45	5.1	13.8	10.2	25.8	Enfermedad de Hodgkin.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—Solé, A.: Farbreaktion im Serum der Lipoid-nephrose. *Klin Wschr*, 39: 1299-300, 1961.
- 2.—Sirvent, F., Barboza, J. J., Espallargas, C., Herrera, L., Torres, J. L.: La reacción del Cloruro de Azul de Nilo en el diagnóstico del síndrome nefrótico del niño, *Boletín del Hospital de Niños "J. M. de los Ríos"*, 5: 171, 1963 (Caracas).

Address:
Hospital Infantil "P. Borrás".
Dpto. de Lab. Clínico.
F y 27, Vedado, La Habana, Cuba.