

## Significación clínica de la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías en pediatría y medicina interna. XVI aniversario\*

Por el Dr.:

ANTONIO SELLEK<sup>(\*\*)</sup>

Sellek, A. Significación clínica de la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías en pediatría y medicina interna. XVI Aniversario. Rev. Cub. Ped. 43: 5, 1971.

La prueba Sellek-Frade del acetato de cobre tiene un enorme valor para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías: cirrosis de todo tipo, hepatitis infecciosas víricas, hepatitis crónicas de evolución fibrótica, icteros obstructivos puros y complicados, atresias de las vías biliares (intra o extrahepática), lesiones hepáticas causadas por dietas, lesiones hepáticas causadas por agentes diversos: leishmaniosis visceral, fasciolosis hepática, leptospirosis, etc., lesiones hepáticas metabólicas (hemocromatosis), lesiones hepáticas en casos de hipertiroidismo, lesiones hepáticas en esquizofrénicos, lesiones hepáticas por hemólisis, hepatitis lúpica, etc.

Las enfermedades hepáticas se encuentran distribuidas ampliamente por todo el mundo. Dos entidades: hepatitis viral y cirrosis son de creciente interés mundial y sobre ellas existe un material inmenso. Fundaciones para investigaciones sobre las hepatopatías, simposios patrocinados por la "Organización Mundial de la Salud",<sup>11</sup> reuniones regionales, creación de unidades de investigación en hospitales, revistas médicas dedicadas exclusivamente a la publicación de artículos sobre patología hepática, cursos y libros también consagrados a este fin y que comprenden los aspectos clínicos, biológicos y experimentales de las enfermedades hepáticas represen-

tan una visión de conjunto de la profunda importancia de los esfuerzos colectivos e individuales sobre las hepatopatías.

La hepatitis infecciosa viral se cataloga desde hace muchos años entre las enfermedades infecciosas más frecuentes en niños<sup>110</sup> y no parece que haya diferencias entre las manifestaciones histológicas en niños y adultos.<sup>51,49</sup>

La frecuencia de la cirrosis hepática en niños establecida por las series de necropsias en Europa y Norteamérica oscila entre el 1 y el 2%.<sup>112</sup>

Las pruebas de turbidez y floculación hepáticas son de inminente aplicación práctica en clínica. Muchas de ellas son bien conocidas y han sido exitosamente estudiadas mediante una correlación entre función y estructuras hepáticas.<sup>11,12</sup>

El 15 de diciembre de este año, 1971, se cumple el XVI aniversario de pro-

(\*) Presentado en la sesión científica del Hospital correspondiente en Julio 2 de 1971.

(\*\*) Patólogo clínico. Exdirector Fundador y Asesor Científico del Departamento de Laboratorio Clínico Central del Hospital Infantil de La Habana "Pedro Borrás Astorga". F y 27, Vedado, La Habana, Cuba.

puesta la prueba *Sellek-Frade* del acetato de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades hepáticas.

La comunicación fue hecha ante la X Convención Nacional de la Sociedad Cubana de Médicos Laboratoristas Clínicos, celebrada en La Habana en 1955.

A través de dicho informe y de otros posteriores (1957) *Sellek y Frade*, describieron tres modalidades de la reacción llamadas: estándar, cuantitativa y ultramicrométodo. Posteriormente en América, Europa y Asia muchos investigadores mostraron interés por la prueba y así, en 17 países han aparecido informes sobre la misma: Albania, Argentina, Brasil, Cuba, Colombia, Chile, Estados Unidos, España, Francia, Honduras, Hungría, Italia, México, Perú, Rumania, Tailandia y Unión Soviética.

Aparte de las comunicaciones se han hecho sobre ella tesis de grado en las universidades de México y San Marcos de Lima y figurado en editoriales de la revista "The Lancet" de Londres o específicamente dedicados a ella como el de la "Semana Médica" de Buenos Aires. Así como también en comentarios y citas de destacadas obras.<sup>24,52,45,81,114,117</sup>

Al revisar la literatura internacional sobre ella hemos encontrado que los puntos de vista de la casi totalidad de los autores coinciden con los expuestos en el trabajo original; muy pocos criterios fueron divergentes y en realidad nada importantes para ser tomados en consideración.

Debido a la importancia de las pruebas de turbidez y floculación hepáticas y el valor de las más usuales, así como el criterio sobre las mismas expuesto por un grupo de las más renombradas personalidades en la materia, creemos de interés exponerlas aquí, antes de hacer

la revisión bibliográfica mundial sobre la prueba del acetato de cobre.

Según *Lemaire*,<sup>20</sup> profesor titular de la Cátedra de Terapéutica clínica de la Facultad de Medicina de París, ellas son suficientemente precisas y la interpretación de sus resultados tomados en conjunto no se presta ni a confusiones ni a conclusiones equivocadas.

*Popper*,<sup>51</sup> profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Columbia, en New York, señala que estas pruebas evidencian alteraciones complejas, tales como degeneración hepatocelular, colestasis e inflamación. Su aplicación prácticamente más importante es en el diagnóstico diferencial de las ictericias. A pesar de su naturaleza inespecífica son útiles para el diagnóstico ya que se aplican dentro de un sistema en el cual unos resultados sirven de complemento a otros.

*MacLagan*,<sup>130</sup> profesor de Química Patológica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Londres, expresa que estas pruebas han demostrado ser de considerable valor en la investigación de las enfermedades hepáticas. En ellas las variaciones pueden ser considerables, en cuanto a sensibilidad y especificidad. Las mismas no son parecidas en su mecanismo. La elección de una prueba para aplicación sistemática es un asunto difícil y más que nada personal.

*Hanger*,<sup>67</sup> profesor del Colegio de Medicina de la Universidad de Columbia, en New York, al referirse a la prueba de que es autor dice: "una reacción positiva refleja bastante exactamente la extensión de la necrosis aguda del parénquima hepático y la intensidad de la reacción inflamatoria de los elementos mesenquimales del hígado y, por tanto, tiene valor para diagnosticar la destruc-

ción de las células hepáticas lo mismo si se debe a hepatitis, anoxia o intoxicaciones graves. Es también útil para el diagnóstico de la cirrosis de *Laennec*, en la que el hígado es asiento de necrosis e inflamación aguda".

Para *Schiff*,<sup>330</sup> profesor de Medicina de la Universidad de Cincinnati, las pruebas de turbidez y floculación hepáticas son usualmente positivas en el íctero hepatocelular y negativas en los ícteros obstructivos. La existencia de reacciones positivas en los ícteros obstructivos es el reflejo de la incidencia de colangitis con hepatitis secundaria. Las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica no son de valor para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

Con respecto a estas pruebas *Sheila Sherlock*, profesor de Medicina de la Universidad de Londres, expresa que los resultados de las mismas son usualmente positivas en las hepatitis agudas, cirrosis activas y negativas en los ícteros colostáticos; excepto si están asociados con daño hepático. La prueba seleccionada debe ser simple, sus reactivos baratos y estables, así como brindar resultados reproductibles en diferentes laboratorios.

Según *Zimmerman*,<sup>128</sup> profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Chicago, estas pruebas son muy útiles en clínica y tienen en común la tendencia de resultar anormales en pacientes con infecciones hepáticas (hepatitis y cirrosis) y ser normales en los aquejados de ictericia obstructiva. Se observan índices elevados de positividad con ellas en un 90% de los enfermos con hepatitis víricas agudas y en un 70% de las cirrosis según fase y tipo. Son de máxima aplicación e interés en los Estados Unidos de Norteamérica las pruebas de floculación a la cefalina,

colesterol y la de enturbamiento de timol. En la bibliografía europea son más las referencias al empleo de otras pruebas de floculación.

Un estudio de la literatura internacional muestra que casi la totalidad de los autores están de acuerdo en considerar que la prueba *Sellek-Frade* del acetato de cobre es positiva de un 96 a un 100% de los casos de cirrosis (*Sellek-Frade, Castillo y López Fernández, Fraga Solari y Potaro, Nguyen-The-Minh, Celsi y Trevisán, Vietorisz, Muntoni, Schaposnik, Pittera, Giannini y Masseri, Frade, Pérez Montes, Behar y otros, Furiosi y Pasquini, Prado, Seoane y Celsi, etc.*).

La prueba en las cirrosis hepáticas es fuertemente positiva y la intensidad de la floculación corresponde generalmente a la gravedad de la evolución clínica (*Sellek-Frade, Nguyen-The-Minh, Pado!echia, Pittera, etc.*). El grado de positividad de la reacción en diversas determinaciones en el curso de la enfermedad constituye un elemento de valor para el pronóstico y evolución de la misma. Un hecho interesante lo es el que la reacción puede ser positiva aunque débilmente en un estadio en el que la cirrosis sólo se manifiesta por un hígado grande, casi monosintomático y en el que la laparoscopia muestra su naturaleza cirrótica (*Nguyen-The-Minh*).<sup>40</sup>

En las cirrosis compensadas la prueba da resultados negativos. Una retención de bromosulfaleína en estos casos se debe a trastornos circulatorios.

Se comprueba por las estadísticas mundiales que la prueba de *Sellek-Frade* en las cirrosis hepáticas es más sensible que las reacciones clásicas de *Takata-Ara, Hanger, MacLagan* y *Wunderly-Wuchuman*. En las comunicacio-

nes de la primera cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de Buenos Aires se expresa que ella sería positiva en el 98% de las cirrosis hepáticas; mientras que la del timol lo es en un 91.8% y la del cadmio en el 83.7%. Para el profesor *Schaposnik*, titular de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de la Plata (Argentina), la prueba del acetato de cobre en las cirrosis hepáticas tendría una positividad de un 96.6%. Como se sabe, en las cirrosis alcohólicas o nutritivas la prueba de turbiedad del timol no aumenta o presenta valores moderadamente normales (*Popper y Schaffner*).

Para el profesor *Andre Lemaire*, titular de la Cátedra de Terapéutica Clínica de la Facultad de Medicina de la Universidad de París, la prueba del timol no es bastante sensible en cirrosis y en este sentido debe ceder el paso a la prueba *Sellek-Frade*. Para él, cuando se observa una prueba de timol negativa o muy débilmente positiva, la de *Sellek-Frade* es fuertemente positiva, se puede considerar la eventualidad de un *pousse icterico* grave en el curso de una cirrosis hasta entonces latente. Una positividad débil de la reacción no contradice el diagnóstico de cirrosis.

En las cirrosis hepáticas hay una disminución en la concentración de la serina y un aumento de la gammaglobulina; lo cual puede variar según el estadio de la enfermedad y las condiciones físicas del paciente.

De acuerdo con *Victorisz*,<sup>56</sup> en los casos de hígado graso con degeneración hepatocelular, que se observa en los alcohólicos, la prueba del acetato de cobre es anormal.

Un cuadro similar al de la cirrosis de *Laennec* puede suceder a la hepatitis

neonatal, al síndrome de *Toni-Fanconi* o ser la forma de presentación de la enfermedad de *Wilson*. En la India la cirrosis hepática es un enfermedad corriente en niños de 1 a 3 años de edad. *Sharma*<sup>120</sup> encuentra entre 100 niños indios con hepatomegalia, un 51.8% de casos de cirrosis.

Histológicamente se ha demostrado que no existen diferencias entre las cirrosis hepáticas en niños y las del individuo adulto,<sup>51</sup> señalándose además que las más comunes lo son: 1. la posnecrótica vinculada a una hepatitis infecciosa viral o al progreso de una hepatitis crónica. 2. La cirrosis biliar relacionada a una atresia intra o extrahepática de las vías biliares en las que las pruebas de turbidez y floculación son al comienzo negativas y más tarde positivas y disociadas. 3. La cirrosis atrófica tipo *Laennec*.

Otras causas de cirrosis en niños además de las citadas son la sífilis congénita, galactosemia, anemia falciforme, eritroblastosis, insuficiencia cardíaca, etc.

La prueba del acetato de cobre es muy útil para el diagnóstico etiológico de los diversos tipos de cirrosis, así como de las hemorragias altas del tubo digestivo por várices esofágicas.<sup>13</sup>

En la hepatitis infecciosa viral la importancia de la reacción ha sido destacada por casi todos los autores. En ella según *Sellek y Frade*, la reacción es positiva en el periodo de estado en el 100% de los casos.<sup>2,3,4,95,122</sup> El grado de positividad es variable según el periodo evolutivo de la enfermedad. Durante el periodo de estado las cifras son altas, y existe una relación directa entre la positividad de la reacción y el grado de intensidad de la hepatitis viral. La persistencia de la positividad en la convalecencia nos indica que el daño hepatocelular no se efectúa satisfactoriamente

y que nos encontramos frente a una forma prolongada o crónica o a una hepatitis que evoluciona a la cirrosis (cirrosis poshepatitis). Según *Solari* y *Botaro* de la Universidad de Génova,<sup>30</sup> en las hepatitis crónicas de evolución fibrótica es especialmente sensible, siendo positiva constantemente en todos los casos en los que las otras pruebas no se han precisado todavía.

Para *Celsi* y *Trevisán*,<sup>26</sup> de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Universidad de Buenos Aires (Titular: Prof. Dr. Egidio S. Mazzei), la reacción del acetato de cobre es positiva en el 97.2%, la del tímol en el 100%, sulfato de zinc 91.6% y la del sulfato de cadmio 33.3%. *Nguyen-The Minh*,<sup>25</sup> la encuentra positiva en el 100%.

*Galmarini*<sup>23</sup> informó en 1961 sus resultados con la prueba ante la Sociedad Argentina de Gastroenterología, expresando que la misma es positiva en un 100% en el período de estado de la enfermedad; aunque no en todos los casos sus valores adquieren cifras patológicas, como sucede en el período pre o subictérico inicial. Observaciones similares han sido hechas por *Muntoni*,<sup>28</sup> de la Universidad de Cagliari (Sicilia) y *Solari* y *Botaro*,<sup>30</sup> de la Universidad de Génova.

Para *Papadhimitri*<sup>78,136</sup>, Jefe de la Clínica de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Tirana (Albania), el mayor número de positivos se observa en el acmé del proceso en todas las formas de hepatitis viral (benigna, medianamente grave, grave y prolongada) y es menor, durante la convalecencia.

En la hepatitis viral, así como en las cirrosis la positividad de la reacción está relacionada con un aumento de la gammaglobulina, lo cual existe en todos los procesos en los que hay irritación o reacción mesenquimal.

En general la práctica señala que la reacción es de gran valor para conocer el curso evolutivo de la enfermedad y como guía del tratamiento. Su negatividad en exámenes repetidos asegura la curación del enfermo. En los casos de hepatitis virales graves y necrosis hepáticas, con aumento masivo de la gammaglobulina, la reacción es fuertemente positiva.

*Pittera, Cassia* y *Ferlito*,<sup>82</sup> del Instituto de Patología Médica Especial y de Metodología Clínica de la Universidad de Catania (Sicilia), señalan que en las hepatitis infecciosas en el período de estado la prueba se consideró positiva en la totalidad de los casos. En la atrofia amarilla aguda, dicen ellos, se observa un resultado positivo y de alto grado en el 100%.

El acetato de cobre, añaden, junto a la reacción de *Hanger*, se presenta como la reacción más sensible y más estrechamente relacionada a la función hepática. Esta prueba además asocia a la elevada sensibilidad, una gran especificidad en la investigación de las enfermedades del hígado; superior inclusive a aquella poseída por la reacción de *Hanger*.

Nuestros resultados, dicen estos autores en correspondencia con los de *Sellek* y *Frade*, confirman el valor clínico de la prueba, que puede ser incluida entre las pruebas hepáticas más sensibles; capaz de expresar con suficiente precisión las condiciones reales del parénquima hepático; mientras que la mayor parte de las otras pruebas de labilidad serocoloidal proveen resultados no siempre esperados, limitados como están por una moderada sensibilidad y una escasa especificidad.

*Dobrovolskii* y *Corbunov*<sup>113</sup> en la revista "Asuntos de Laboratorios", de Moscú, estudian el valor de la prueba

del acetato de cobre en 160 casos de hepatitis viral y la encuentran positiva en el 86.7% de los casos y en las formas no ictericas y difusas en el 76%. Señalan además que en el período de agudización y recidiva de la enfermedad habitualmente se observa de nuevo una reacción positiva. En relación con esto añaden que utilizan la prueba como criterio de curación y la consideran como un valioso método auxiliar más sensible que las otras pruebas de floculación existentes. El resultado de la prueba permanece positivo durante todo el curso de la enfermedad y gradualmente se va tornando negativo a medida que desaparecen todas las manifestaciones clínicas y se normaliza el contenido de bilirrubina de la sangre.

*Mazzei*,<sup>121</sup> profesor titular de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de Buenos Aires, en unión de *Celsi* y *Lasala* en un trabajo conmemorativo del 146 aniversario de la fundación de dicha cátedra titulado "Hepatitis viral aguda. Experiencia durante los últimos diez años", en el que estudian 250 casos comprendiendo: forma hepatocelular clásica 206 (82.4%); forma hepatocelular con colestasis intrahepática agregada en 17 casos (6.8%); forma hepatocanicular o colangioliática en 15 casos (6%) y forma anictérica (4.8%); expresando en sus conclusiones que entre las reacciones de labilidad sérica adquirieron gran valor la de turbidez del timol (positiva en el 94.8%) y la del acetato de cobre (positiva en el 89.3%).

*Monari* y *Pezzoli*<sup>96</sup> en la revista "La Clínica Pediátrica", de Bolonia, investigan el comportamiento de la reacción de *Sellek-Frade* al acetato de cobre en 48 casos de hepatitis viral infantil mediante repetidas determinaciones en el curso de la enfermedad. La prueba re-

sultó positiva en el 89% de los pacientes desde el primer día de la enfermedad, con tendencia a la curación en la fase de negativización.

En los lactantes mayores y niños de más edad la prueba del acetato de cobre<sup>1,2,3,4</sup> al igual que las de *Hanger* y *MacLagan* es positiva en un porcentaje alto, similar al de los adultos. En recién nacidos la cifra de positivos para las tres reacciones es reducida, ello se debe a la ausencia de células plasmáticas en esta edad y por consecuencia es muy baja la cifra de gammaglobulinas y en general de globulinas.

En las formas colostáticas de la hepatitis viral se ocasiona poca necrosis del parénquima hepático y, sin embargo, se produce un estancamiento de los conductos capilares o edemas e infiltración en los tejidos vecinos, que impiden mecánicamente el curso de la bilis. A menudo es difícil diferenciar la hepatitis colangioliática de la obstrucción biliar extrahepática. En estos casos la prueba del acetato de cobre, al igual que las de *Hanger* y *MacLagan*, es negativa o muy débilmente positiva.

*Olive Bardosa*,<sup>129</sup> de la Clínica Pediátrica del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo de Barcelona (Director: Prof. *P. Martínez García*), en un trabajo sobre pruebas funcionales hepáticas y datos de laboratorio en la hepatitis viral en niños, expresa que cada autor elige según sus preferencias personales las pruebas y que en dicho servicio las preferidas son las del timol de *MacLagan*, *Sellek-Frade* y *Hanger*.

Considera la prueba del acetato de cobre de *Sellek-Frade*, parecida a la del cadmio, pero agrega que es mucho más fiel y que es positiva en el 97% de las hepatitis.

En las formas anictéricas recomienda el uso de las pruebas de *Hanger*, timol

de *MacLagan* y la de *Sellek-Frade*, unidas a la dosificación de las transaminasas, que por su precocidad están indicadas en las hepatitis anictéricas.

Establece además que la prueba de *Sellek-Frade* se hace negativa una semana después de la despigmentación; mientras que la del timol es la última en negativizarse. No obstante señala casos con timol negativo, siendo la transaminasa y la prueba de *Sellek-Frade* positivas.

En enfermos con antecedentes más o menos lejanos de hepatitis la persistencia inmodificada de las pruebas descritas en fase aguda: Transaminasas, Timol, Cadmio y *Sellek-Frade* constituyen datos reveladores de cronicidad.

*Olive Bardosa* reporta también que en las cirrosis la prueba de *Sellek-Frade* es positiva en el 98%, encontrándose positividad con ella en casos en los cuales las otras pruebas eran negativas.

No parecen existir diferencias entre las manifestaciones histológicas de la hepatitis viral en el recién nacido en comparación con las del niño mayor y adultos<sup>51,49</sup> por lo que no debe hablarse de hepatitis neonatal, como una forma especial de esta enfermedad.

La formación de células gigantes es una manifestación de regeneración hepatocelular y representa una gran actividad proliferativa del hepatocito en la niñez, tal como se expresa por *Popper* y *Schaffner* y por otros autores.<sup>51,49</sup>

*Baldi* y *Ferrara*<sup>57</sup> expresan que de 32 enfermos de hepatitis crónica, en 29 la prueba del acetato de cobre fue positiva. Para *Pittera* y otros,<sup>89</sup> de la Universidad de Catania, la reacción fue positiva en el 100% de los casos.

La positividad de la reacción en los pacientes con hepatitis crónica se atribuye a un aumento de la gammaglobulina observada en tales casos. En el síndrome de *Banti* la prueba es positiva en el 100% de los casos, de acuerdo con la estadística de 14 pacientes estudiados en la Universidad de Bari. *Pittera* y otros obtienen cifras similares en siete casos. *Sellek* y *Frade* reportaron en una de sus comunicaciones originales un caso con aumento de la gammaglobulina y reacciones positivas de *Hanger*(+) y *Sellek-Frade*(++++). La prueba del timol era normal (3.4 unidades).

En las colecistitis agudas y crónicas que se acompañan de daño hepático la prueba es positiva. Ella es negativa en las colecistitis sin hepatitis.

En las lesiones hepáticas metabólicas, como las observadas en las hemocromatosis, la reacción según *Nguyen-The-Minh*<sup>25</sup> es positiva en el 66% de los casos.

En los icteros hemolíticos congénitos por conflictos materno-fetal la prueba es negativa en el 100% de los pacientes; por el contrario, en los icteros hemolíticos por sepsis, con excesiva producción de gammaglobulina, la reacción es positiva en el 66%.

En los casos de favismo (icterohemoglobinúrico) la prueba según *Muntoni*<sup>58</sup> es negativa en un 100%.

En los pacientes con anemias falciformes no ictericas la prueba es negativa. Ahora bien cuando existen lesiones hepatocelulares, la reacción se hace positiva.

En los ícteros neoplásicos la prueba es negativa y muy rara vez débilmente positiva. *Nguyen-The-Minh*<sup>25</sup> la encuentra negativa en cinco de seis casos de neoplasias hepáticas. Según *Solari y Botaro*,<sup>39</sup> las neoplasias primitivas del hígado dan resultados negativos mientras que en las metástasis hepáticas se nota una positividad ligera.

En los casos de esteatosis hepáticas simples diagnosticadas por biopsia o autopsia la prueba del acetato de cobre es negativa en el 100% de los casos, al igual que las reacciones de *Hanger* y *MacLagan*.<sup>3</sup> En los de hígado graso con degeneración hepatocelular observado en alcohólicos la prueba del acetato de cobre es anormal.<sup>56</sup>

Como es sabido las dietas deficientes y prolongadas terminan produciendo afecciones hepáticas. En ellas la prueba es positiva en un 60%.<sup>3</sup>

En niños con diarreas graves y patología hepática la prueba fue positiva en un 55% (*Sellek y Frade*).<sup>3</sup>

Como quiera que un daño hepático constituye parte esencial de la patología de otras enfermedades puede en consecuencia observarse en ellas (50%) reacciones positivas (Mononucleosis infecciosa, etc.).

En pacientes esquizofrénicos la reacción es positiva en el 66.66%, según *Cazato*,<sup>26</sup> de la Clínica de Enfermedades Nerviosas y Mentales de la Universidad de Bari. *Gutiérrez Agramonte, Hierrezuelo y Magriñat*<sup>104</sup> en un estudio efectuado en el Hospital Psiquiátrico de La Habana en 247 enfermos esquizofrénicos crónicos encuentran un 49% de positivos con la prueba del acetato de cobre. *Larragoiti*,<sup>123</sup> en una comunicación previa presentada en la "Sociedad Cubana de Psiquiatría" sobre 76 esquizo-

frénicos, encuentra después de un cuidadoso análisis de los datos obtenidos que un 20% es la cifra que se mantiene positiva en tales enfermos.

En los casos de absceso amebiano la lesión hepática según *Popper* y *Schaffner*<sup>51</sup> puede asumir distintas formas: necrosis focal, degeneración grasa local e inflamación portal. Según el profesor *Viranivati* de Bangkok (Tailandia),<sup>87</sup> la prueba del acetato de cobre es positiva en el 71.4%. La de *Hanger* en el 43.2% y la del timol de *MacLagan* en un 38.8%. Otros autores<sup>13,25</sup> la encuentran negativa en casos aislados.

En los casos de nefrosis lipóidica, diabetes mellitus, enfermedad de *Hodgkin*, leucemias y hemopatías en general la prueba es negativa.

En un estudio sobre 25 casos de hipotiroidismo con cifras bajas de iodo proteico se encontró resultados negativos de la prueba del acetato de cobre en todos (*Sellek, Castro y Hernández*). En casos de hipertiroidismo, como consecuencia de la agresión hepática, se determinan lesiones y se encuentran pruebas positivas fuertes de acetato de cobre (+++ y ++++). En todos los casos las cifras de iodo proteico eran elevadas (8.9 gammas y más).

Según datos ofrecidos por *Nguyen-The-Minh*<sup>25</sup> la reacción en su estadística dio resultados positivos en cuatro de seis casos de tuberculosis pulmonar cavitaria y en dos de abscesos pulmonares. En estos últimos la reacción se hizo negativa con el tratamiento. También *Solari y Botaro* han señalado la existencia de positivos en dicha enfermedad. Como es sabido, en el 86% de los casos de tuberculosis pulmonar existe hipergammaglobulinemia y varios autores han estudiado la influencia de las alteraciones de las pruebas de labilidad



serocoloidal hepáticas en el curso del tratamiento de esta enfermedad.

La reacción es positiva intensa en casos de leishmaniosis visceral.

Según *Pérez Carril* y otros<sup>11</sup> en las leptospirosis las pruebas de *Hanger*, *MacLagan* y *Sellek-Frade*, generalmente negativas durante los primeros 10-20 días, se hacen positivas en los casos de leptospirosis icterica al entrar en su tercera semana de evolución.

En la insuficiencia cardíaca congestiva la prueba sería positiva en un porcentaje variable de casos. Algunos autores dan cifras de un 50 a un 100%. En un estudio sobre 24 casos estudiados por *Victorisz*<sup>56</sup> la prueba del acetato de cobre fue positiva en 15, con resultados de intensidad variable. La prueba presenta un descenso gradual en su intensidad, como resultado de la terapéutica efectiva y de la consiguiente compensación. *Nguyen-The-Minh*<sup>25</sup> de cuatro casos de insuficiencia cardíaca congestiva observa en uno una reacción positiva débil. Se trataba de un hígado cardíaco irreductible, que evolucionaba hacia una cirrosis.

En casos de mieloma múltiple, la positividad de la prueba depende del tipo de proteína presente. *Castillo* y *López Fernández*<sup>13</sup> la encuentran positiva intensa en el de globulina tipo gamma y negativa en el alfa.

En los casos de paludismo se observan reacciones positivas fuertes. Según los autores ello indicaría un trastorno del sistema reticuloendotelial más que del hígado.

En las sarcoidosis, al igual que las reacciones de *Hanger* y *MacLagan*, da resultados positivos, cuando ataca el hígado.

En la fiebre reumática la prueba da resultados positivos en un limitado

número de casos. Ello estaría relacionado a un aumento de la gammaglobulina y a un descenso de la serina.

La reacción es positiva en el lupus eritematoso diseminado,<sup>125</sup> y sus resultados tienen valor pronóstico pues su grado de positividad estaría relacionado a un aumento de la gammaglobulina y a un descenso de la serina.

En las hepatitis tóxicas medicamentosas la prueba del acetato de cobre, al igual que las reacciones de *Hanger* y *MacLagan*, es negativa o muestra muy limitadas alteraciones, al contrario de las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica, que sí resultan útiles y muestran moderadas elevaciones en las colestasis producidas por medicamentos. *Popper* y *Schaffner* dividen las lesiones hepáticas tóxicas medicamentosas en dos grupos: lesiones con necrosis y lesiones sin necrosis, de ahí la variabilidad de los resultados de las pruebas de turbiedad y floculación hepáticas de las transaminasas, cuyos valores pueden alcanzar cifras tan elevadas, como las que se observan al comienzo de la hepatitis infecciosa viral.

La obstrucción biliar extrahepática produce lesiones difusas hepáticas con su componente inflamatorio. Al principio existe una colestasis simple exenta de inflamación mesenquimal, siendo en consecuencia la prueba del acetato de cobre negativa en el 100% de los casos (*Sellek* y *Frade*, *Celsi* y *Trevisán*, *Nguyen-The-Minh*, *Padolechia*, *Solari* y *Botaro*, *Baldi* y *Ferrar*, *Pittera*, etc.).

Al prolongarse la obstrucción y cuando la infección o la fibrosis aparecen la reacción se hace positiva. Una reacción negativa con fosfatasa alcalina elevada, califica al proceso de obstrucción biliar extrahepática o de colestasis intrahepática. Para *Nguyen-The-Minh*<sup>25</sup> la pue-

ba es positiva en el 100% de los ícteros complicados. Según *Celsi y Trevisán*<sup>26</sup> su positividad es de un 87.5%. La reacción de *Sellek-Frade* dicen ellos es la mejor prueba para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

De cuatro casos de agenesia de las vías biliares en tres o sea en el 75% la prueba del acetato de cobre resultó positiva.<sup>2,3</sup>

Para *Vio*, de la Universidad de *Bologna*,<sup>26</sup> la prueba de *Sellek-Frade* no es suficiente por sí sola para el diagnóstico de determinado tipo de íctero, pero que asociada a la reacción de *Jirgl* eleva con este fin notablemente su valor.

Para *Leon Schiff*,<sup>130</sup> profesor de Medicina de la Universidad de Cincinnati, las transaminasas glutámina oxalacética y glutámico pirúvica carecen de valor para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

En niños con atresia de las vías biliares las pruebas de *Hanger*, *MacLagan* y *Sellek-Frade* son negativas al comienzo por largo tiempo y luego se hacen positivas.

Entre los medicamentos que producen lesión focal figuran las tetraciclinas, eritromicina, oleandomicina, isoniacida, ácido paraaminosalicílico, sulfonamidas y ácido paraaminobenzoico. Los anti-leucémicos y anticancerosos producen fibrosis. Entre los medicamentos que no producen necrosis y sí colestasis parenquimatosa tenemos la metiltestosterona y la clorpromazina. Existen además medicamentos que unen efectos necrosantes y colostáticos.

Para diferenciar en el recién nacido una atresia de las vías biliares de una hepatitis a células gigantes, lo cual es difícil en clínica, se recordará que la actividad de las transaminasas es mayor en la hepatitis que en la atresia y que

en éstas, cuando existe lesión del parénquima hepático y fibrosis, las pruebas de turbiedad y floculación hepáticas se hacen positivas.

La leucinaminopeptidasa se ha señalado como elevada en la atresia de las vías biliares. Según *Bodansky*<sup>60</sup> un aumento de su actividad es característica de todas las enfermedades hepáticas en general y no tiene mucha capacidad discriminativa frente a los diferentes tipos de hepatopatías.

En sujetos normales la reacción es negativa en un 100% de los casos. Las cifras normales en niños varían de 0 a 3.8 unidades y de 0 a 4.72 en adultos, empleando como patrones, soluciones turbias de cloruro de bario.

Los valores siempre son más bajos en niños que en adultos.

El método es universalmente reconocido por exacto y práctico y por ser de técnica rápida y sencilla.

La prueba está fundada en el hecho de que los sueros de pacientes con ciertas enfermedades hepáticas cuando son adicionados a una solución apropiada de acetato de cobre producen varios grados de turbiedad y floculación, mientras que los de individuos normales dan poca o ninguna turbidez.

La positividad de la prueba depende de una alteración cualitativa y cuantitativa de la gammaglobulina, siendo este hecho acentuado por modificaciones cuantitativas de otras proteínas del plasma. Cuando los niveles de serina son bajos y los de gammaglobulinas altos, se produce la floculación.

*Sellek y Frade*<sup>3</sup> en sus comunicaciones originales informaron que por electroforesis habían encontrado un decrecimiento de la serina en un 66.66% y un aumento de la gammaglobulina en

un 100% en los casos de cirrosis hepática y hepatitis viral infecciosa con reacción positiva. La globulina beta fue ligeramente alta en un 16%. De los hechos anteriores se deduce que el reactivo de acetato de cobre reacciona principalmente sino exclusivamente con la fracción gamma de las globulinas del suero.

Aún cuando diversos autores han propuesto modificaciones a la lectura de los resultados y recomiendan hacerlo en vez de a los cinco minutos, a los 15 (*Galmarini*) o a los veinte (*Fraga*) y otros como *Victorisz*, con el propósito de hacer la lectura de la reacción de floculación rápida, a los 30 minutos, hace la dilución del suero con solución salina normal de cloruro de sodio. No somos partidarios de modificaciones a la lectura original.

La prueba del acetato de cobre tiene importantes ventajas sobre las otras pruebas: 1. Fácil preparación de los reactivos. 2. Duración indefinida de la solución matriz de acetato de cobre guardada en refrigeración. 3. Lectura de los resultados a los cinco minutos. 4. Bajo costo. 5. Sensibilidad y corto espacio de tiempo para su realización. 6. Prueba simple que utiliza un solo reactivo químico (acetato de cobre) económico y fácil de obtener.

En lo que respecta a la prueba de turbidez del timol de *MacLagan*,<sup>69,70</sup> señala *Watson*<sup>74</sup> que la solución buffer de timol no es constante como pudiera desearse. Su turbidez varía de un lote a otro y de tiempo en tiempo, y se encuentra que dejada en reposo se vuelve sensiblemente más turbia en un período de dos semanas. Los resultados también varían con la naturaleza química de los cristales de timol; usando dos marcas diferentes dice *Ducci*<sup>71</sup> se encuentran en un mismo suero discrepancias en los resultados.

*De la Huerga y Popper* también expresan un criterio similar. La prueba del timol es muy a menudo negativa en la cirrosis de *Laennec*.

En la prueba de *Hanger* la emulsión lipídica de trabajo debe usarse sólo el día en que se prepara. Hay en ella ciertos inconvenientes debido a una falta de uniformidad en la apreciación e interpretación de los resultados débiles (+). La contaminación bacteriana de la emulsión da resultados falsos, ella es además fotosensible y el estado de la cefalina afecta la sensibilidad de la prueba. La prueba de *Hanger* no puede ser leída cuantitativamente en un colorímetro fotoeléctrico, debiendo sus resultados ser dados groseramente de 0 a 4+.

En general, para las reacciones de *Hanger*, *MacLagan* y *Sellek-Frade* los factores responsables de la positividad están relacionados con cambios cualitativos y cuantitativos de las proteínas séricas.

A fin de obtener la mayor información en clínica deben usarse los tres métodos citados mejor que uno solo, ya que los resultados de cada prueba varían con el proceso de la enfermedad hepática. Para la caracterización de la hepatitis infecciosa viral es útil en los períodos tempranos de la misma combinarlos a la determinación de la actividad de la transaminasa glutámica pirúvica. A este respecto el profesor *Andre Lemaire*, de la Facultad de Medicina de París, y *Nguyen-The-Minh* dicen en su trabajo titulado "Los tests de floculation dans les maladies du foie" lo siguiente: Debido a la divergencia de sensibilidad y especificidad de cada una de estas pruebas debemos escoger las que se complementan y las que al practicarse simultáneamente permitan la mejor discriminación de los procesos patológicos del

hígado que clínicamente presentan manifestaciones similares. Ellos proponen la asociación de tres reacciones:

—La prueba del timol de *MacLagan*.

—La reacción del acetato de cobre de *Sellek-Frade*.

—La reacción del rojo coloidal de *Ducci*.

La prueba del acetato de cobre tiene mayor valor que la electroforesis en el diagnóstico de las hepatopatías, pues lo esencial puede ser por ella obtenido en forma simple sin necesidad de recurrir a métodos complicados como la electroforesis.

Como quiera que las proteínas plasmáticas tienen su origen en el hígado en proporción considerable las mismas son frecuentemente alteradas en cantidad y calidad cuando una enfermedad hepática está presente. Los cambios cualitativos pueden ser estimados por electroforesis, pero una combinación de ambos (cualitativos y cuantitativos) sólo pueden ser evaluados por las pruebas de turbiedad y floculación hepáticas.

*Giannini y Messeri*,<sup>101</sup> del Instituto de la Clínica de Enfermedades Tropicales e Infecciosas de la Universidad de Roma, hacen un estudio de la reacción al acetato de cobre de *Sellek-Frade* en 152 casos confrontando los resultados de la misma con otras pruebas de labilidad serocoloidal y el protidograma electroforético en casos de cirrosis, hepatitis viral aguda y hepatitis crónicas. Señalan que la reacción al acetato de cobre en dicha investigación dio resultados netamente positivos; mientras que el protidograma electroforético se mostró sólo módicamente alterado.

*Peris, Montale, Nicora y Fetta*,<sup>118</sup> del Instituto Científico de Medicina Interna de la Universidad de Génova, expresan

que la prueba del acetato de cobre tiene una importancia prominente exclusiva en la patología hepatobiliar y que ella puede ser positiva, con datos electroforéticos normales.

*Prado, Seoane y Celsi*<sup>125</sup> en un estudio comparativo entre la reacción *Sellek-Frade* y los niveles de gammaglobulinas determinados por electroforesis en 69 sujetos normales y 330 enfermos, pertenecientes a la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Universidad de Buenos Aires, encuentran una positividad franca de la reacción al acetato de cobre sobre la electroforesis en las cirrosis portales y posnecróticas, así como en las hepatitis agudas y collagenopatías.

En un estudio sobre 50 casos normales en los que se efectuó simultáneamente por *Sellek-Frade* la prueba del acetato de cobre y la de la bromosulfaleína para identificar lesión hepática se encontró una concordancia absoluta entre ambas pruebas. Sin embargo, la prueba de la bromosulfaleína, como es sabido no tiene valor para el diagnóstico diferencial de los ícteros y por dar resultados anormales falsos, si la insuficiencia hepatocelular se acompaña de trastornos circulatorios. Como se sabe, su valor clínico se reduce a aquellos casos en los que no hay íctero, ni trastornos circulatorios. Además, la prueba de la bromosulfaleína ofrece inconvenientes y peligros para la vida de los pacientes (muerte súbita). *Magath*,<sup>137</sup> del Departamento de Laboratorio Clínico de la Clínica Mayo, publicó en la revista "American Journal of Clinical Pathology" un editorial consagrado a la prueba de la bromosulfaleína titulado "An extremely simple test", en el cual expone su experiencia en 200 000 pruebas. Señala que además de las muertes súbitas se producen además de la faringe y

pulmones, disnea, urticaria, edema angioneurótico, asma y cambios electrocardiográficos. Igualmente se refiere a las complicaciones técnicas vinculadas a la realización de la prueba (lecturas difíciles con sueros hemolizados, punciones venosas pobres, alteraciones de los patrones. Su realización en casos de edemas y ascitis y de personas muy enfermas a las cuales se les ha hecho toda clase de pruebas y de terapéutica intravenosa). En fin, que para *Magath* la prueba de la bromosulfaleína no tiene nada de extremadamente simple. Otros autores describen casos mortales.<sup>153 y 157</sup>

#### CONCLUSIONES

En la V Convención de la Sociedad Cubana de Médicos Laboratoristas Clínicos (Sociedad Cubana de Patología Clínica), celebrada en La Habana el 15 de diciembre de 1955, *Sellek* y *Frade* comunicaron los resultados de una nueva prueba de labilidad serocoloidal para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías mediante el uso como reactivo exclusivo una solución de acetato de cobre.

La reacción puede ser realizada en tres modalidades llamadas: Standard, Cuantitativa y Ultramicrométodo.

La reacción ha sido extensamente usada internacionalmente y han aparecido trabajos sobre ella en 17 países de América, Europa y Asia: Albania, Argentina, Brasil, Cuba, Colombia, Chile, Estados Unidos, España, Francia, Honduras, Hungría, Italia, México, Perú, Rumania, Tailandia y Unión Soviética.

Además de su simplicidad, economía y rapidez de ejecución la prueba es entre todas las de labilidad serocoloidal una de las más sensibles y específicas.

La positividad de la prueba depende de una alteración cualitativa y cuantitativa de la gammaglobulina (100%),

siendo además este hecho acentuado por modificaciones cuantitativas de otras globulinas del plasma (serina).

Es más sensible que las reacciones clásicas de *Takata-Ara* y sus modificaciones, *MacLagan*, *Wunderly-Wuchuman*, *Weltmann*, etc. Sus resultados son muy concordantes con los de la prueba de *Hanger*.

Comparada específicamente con la reacción de *Hanger* se encuentra que ésta no puede ser leída cuantitativamente. Además su emulsión lipídica no es tan barata y fácil de preparar como el reactivo químico del acetato de cobre.

En lo que respecta a la reacción del timol de *MacLagan* se observa que la turbidez de la solución buffer del timol no es constante y se modifica con el tiempo. Además, la prueba de *MacLagan* es muy a menudo negativa en la cirrosis de *Laennec* y la del acetato de cobre fuertemente positiva.

Estadísticas señalan ampliamente a la prueba del acetato de cobre de *Sellek* y *Frade* una gran sensibilidad en las cirrosis hepáticas activas (posnecrótica y nutricional) 96.6 a un 100%. Ella es fuertemente positiva y la intensidad de la floculación corresponde generalmente a la gravedad de la evolución clínica.

En las hepatitis infecciosas virales en lactantes mayores, niños y adultos la reacción es positiva en el período de estado en un 100%. El grado de positividad es variable según el período evolutivo de la enfermedad. Durante la etapa de estado las cifras son altas (100%), existiendo relación entre la positividad de la reacción y el grado de intensidad de la hepatitis viral. La persistencia de la positividad en la convalecencia indica que nos encontramos frente a una forma prolongada, crónica o de una hepatitis que evoluciona a una cirrosis.

En el período pre o subictérico inicial la reacción es positiva en un 90%. Los resultantes restantes negativos son debidos al hecho de que la gammaglobulina, con la cual ella está relacionada en un 100%, se eleva con la evolución del proceso.

En la convalecencia sus resultados son tomados por casi todos los autores como un criterio de curación, pues su negatividad en exámenes repetidos asegura tal hecho.

Es fuertemente positiva en los adultos y niños con hepatitis virales graves y necrosis hepáticas (atrofia amarilla) con aumento de la gammaglobulina.

Comparada la prueba del acetato de cobre con la dosificación de la actividad de la transaminasa glutámica pirúvica se encuentra que esta última se comporta como sensible (90 a 95% de positivos) para el descubrimiento temprano de la hepatitis infecciosa (período de inicio), típica o latente.

Luego, la misma carece de valor (transaminasa) pues sus cifras decrecen rápidamente a pesar del progreso de la enfermedad. Además, el factor tiempo modifica sus resultados, y hace que no tengan valor pronóstico.

En las hepatitis crónicas de evolución fibrótica la reacción es constantemente positiva y muestra una sensibilidad precoz, comparada con las reacciones de *Takata-Ara*, *MacLagan* y *Kunkel*.

En los casos de ícteros obstructivos puros en adultos la prueba es negativa en el 100% de ellos. En los complicados se hace invariablemente positiva, y es la mejor prueba para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

En niños con atresia de las vías biliares (extra o intrahepáticas) al comienzo la prueba del acetato de cobre es negativa, pero más tarde se hace positiva al

existir lesión del parénquima hepático y fibrosis.

En el síndrome de *Banti* la prueba es positiva en un 100%. En las colecistitis agudas o crónicas, que se acompañan de daño hepático, la prueba es positiva. Ella es negativa en la colecistitis sin hepatitis.

En las hemocromatosis ella es positiva en un 66%. En los ícteros neoplásicos ella es negativa y rara vez débilmente positiva.

En las hepatitis tóxicas medicamentosas, al igual que las reacciones de *Hanger* y *MacLagan*, es negativa o muestra ligeras alteraciones y depende de la presencia o ausencia de reacción mesenquimal.

En los ícteros hemolíticos por complicación maternofetal es negativa en un 100%. También lo es en los ícteros hemoglobilínúricos.

En las anemias a células falciformes la prueba es negativa en un 100%. Cuando existen lesiones hepatocelulares se hace positiva.

En las afecciones hepáticas en niños por dietas deficientes y prolongadas la prueba es positiva en un 66%.

En casos de hígado graso simple la prueba es negativa. En los pacientes portadores de hígado graso con degeneración hepatocelular la prueba es positiva.

En los ícteros hemolíticos por sepsis en niños la prueba es positiva en un 55%.

La prueba es útil tanto en niños como en adultos para el diagnóstico diferencial de las hepatomegalias así como de las hemorragias altas del tubo digestivo.

Como quiera que un daño hepático constituye parte esencial de la patología de otras enfermedades, puede en consecuencia observarse reacciones po-

sitivas, por ejemplo, en casos de mononucleosis infecciosa (50%).

En pacientes con abscesos amebianos hepáticos aislados la prueba es negativa. Cuando existe lesión parenquimatosa hepática e inflamación se hace positiva en un 71.4%.

La reacción es positiva en enfermedades producidas por agentes diversos: leishmaniosis visceral, fascioliasis hepáticas, leptospirosis, etc.

En la insuficiencia cardíaca congestiva la prueba es positiva en un porcentaje variable de casos.

#### PRUEBA SELLEK-FRADE DEL ACETATO DE COBRE

Reactivos: 1. Solución stock de acetato de cobre. Se prepara disolviendo 200 mg. (0.20 grs) de acetato de cobre químicamente puro (*Merck*,  $5H_2O$ ) en 500 cc. de agua bidestilada. Esta solución debe ser conservada en el refrigerador. Ella se conserva así indefinidamente. 2. La solución reactivo de trabajo se prepara tomando 2.5 cc. de la matriz y completar a 100 cc con agua bidestilada. Este reactivo debe ser justamente preparado en el momento de usarse.

#### Proceder

La prueba es extremadamente simple. Consiste en colocar en un tubo de ensayo rigurosamente limpio y seco 6 cc. de la solución reactivo de trabajo. Se añade 0.1 cc. de suero fresco del paciente, se agita ligeramente y se observa el resultado a los cinco minutos. Si la reacción es negativa, la columna líquida permanece límpida o muestra una opalescencia libre de flóculos que no sobrepasa la cifra de cuatro unidades comparada con los standars de *Kinsburg* usados en la reacción del timol de *MacLagan*. En las determinaciones cuanti-

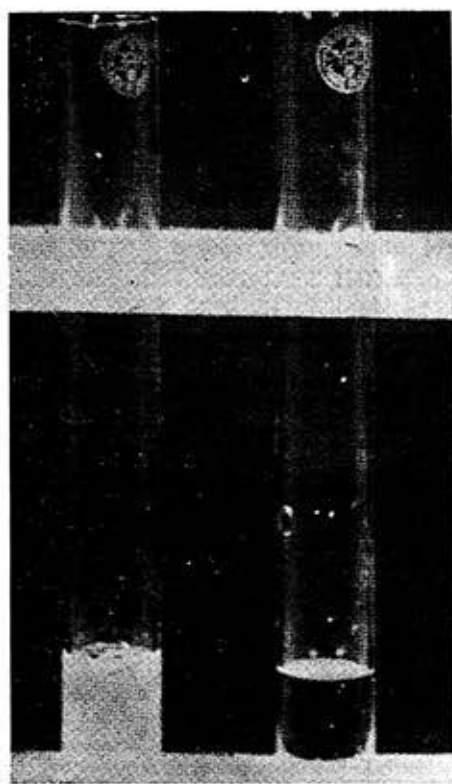


Fig. 1.—Prueba del acetato de cobre de Sellek-Frade para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades hepáticas. Izquierda: un caso fuertemente positivo. Derecha: un caso negativo.

tativas pueden también emplearse soluciones turbias de "Cloruro de bario", haciendo el examen en un fotocolorímetro o espectrofotómetro de acuerdo con las indicaciones de *Shank* y *Hoagland* para la reacción del timol de *MacLagan*. Generalmente los resultados normales son algo más bajos en niños que en adultos.

Cuando en los casos positivos fuertes la reacción se deja unas 18 horas en reposo a la temperatura ambiente se observa una completa precipitación, siendo claro el líquido que sobrenada. Si se produce opacidad con pequeño precipitado es positiva +. Graduaciones intermedias de turbidez y floculación son dadas como ++ y +++.

El grado de positividad de la reacción puede expresarse por:

Cruces: + ++ +++ ++++

o  
Unidades  
de turbidez 4 5-7 8-10 12 o más

En niños y otros pacientes en los cuales es difícil de obtener suficiente cantidad de sangre para un gran número

de investigaciones o para análisis repetidos se usa la prueba del acetato de cobre como ultramicrométodo.

Ultramicrométodo. Técnica: Colocar 0.6 cc. de la solución reactivo de acetato de cobre en un tubo de 13 x 100 mm. Añadir 0.01 cc de suero fresco del paciente. Lectura: se hace en forma similar a la de la reacción standar.

#### SUMMARY

Sellek, A. *Clinical meaning of the copper acetate Sellex-Frade test for the diagnosis, prognosis and treatment of hepatopathies in pediatry and internal medicina. XVI Anniversary. Rev. Cub. Ped. 43: 5, 1971.*

The copper acetate Sellex-Frade test has an enormous value in the diagnosis, prognosis and treatment of hepatopathies: cirrhosis of all types, viral infectious hepatitis, chronic hepatitis of fibrotic evolution, pure and complicated obstructive icterus, atresias of the biliary ways (intra or extrahepatic), hepatic lesions caused by diets, hepatic lesions caused by several agents: visceral leishmaniosis, hepatic fascioliasis, leptospirosis, etc., metabolic hepatic lesions (hemo-chromatosis, hepatic lesions in cases of hyperthyroidism, hepatic lesions in schizophrenic, hepatic lesions by hemolysis, lupic hepatitis, etc.

#### RESUME

Sellek, A. *Signification clinique de la preuve de Sellex-Frade à l'acétate de cuivre pour le diagnostic, le pronostic et le traitement des maladies du foie dans pédiatrie et médecine interne. XVI Anniversaire. Rev. Cub. Ped. 43: 5, 1971.*

La preuve de Sellex-Frade à l'acétate de cuivre a une énorme valeur pour le diagnostic, le pronostic et le traitement des hépatopathies: cirrhoses de tous les types, hépatite infectieuse virale, hépatite chronique d'évolution fibrotique, ictères obstructifs purs et compliqués, atrésies des voies biliaires (intra et extrahépatiques), lésions hépatiques occasionnées par diètes, lésions hépatiques occasionnées par divers agents: leishmaniose viscérale, fascioliose hépatique, leptospirose, etc., lésions hépatiques métaboliques (hémochromatose), lésions hépatiques chez cas d'hyperthyroïdisme, lésions hépatiques chez schizophréniques, lésions hépatiques par hémolyse, hépatite lupique, etc.

#### РЕЗЮМЕ.

Сельек А. Клиническое значение теста Сельек-Фраде медьного ацетата для диагноза, прогноза и лечения гепатопатии в педиатрии и внутренней медицине. XVI годовщина. Rev. Cub. Ped. 43:5, 1971.

Тест медьного ацетата Сельека-Фраде имеет громадное значение для диагноза, прогноза и лечения гепатопатии, циррозов всех видов, инфекционных вирусных гепатитов, хронических гепатитов фибротической эволюции, чистых и осложнённых obstructивных желтух, атрезии желчных путей (внутренних и внепечечных), печечных повреждений вызванных по диетам, печечных повреждений вызванных разными агентами, висцерального лейшманиоза, печечного фасциолоза, лептоспироза, и тд., метаболических печечных повреждений (гемохроматоз), печечных повреждений в случаях гипертириоза, печечных повреждений у шизофреников, печечных повреждений из за гемолиза, гепатит волчанки и др.



## BIBLIOGRAFIA

- 1.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: La nueva prueba turbidométrica del acetato de cobre como índice de disfunción hepática. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 10: 26, 1956.
- 2.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Seroreacción de turbidez y floculación del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías. Prueba Standard, Cuantitativa y Ultramicrométodo. Significación Clínica. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 11: 58, 1957.
- 3.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Prueba de Sellek-Frade para el diagnóstico de las hepatopatías. Electroforesis. Biopsia. Significación Clínica. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 11: 102, 1957.
- 4.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Copper acetate turbidity and flocculation test for the diagnosis of diseases of the liver. *Gradwohl Laboratory Digest*, 21: 8, 1957.
- 5.—*Sanford, A. H.*: Liver function test. *Postgraduate Medicine*, 22: A-68, 1957.
- 6.—*Ramírez, A.*: Estudio comparativo entre la reacción del acetato de cobre y los tests de cefalina + colesterol, oro coloidal, timol y sulfato de zinc. Tesis profesional. Universidad de San Marcos. Lima, Perú, 1957.
- 7.—*Wollenweber, H. L.*: New liver function test: copper acetate turbidity. *Current Medical Digest*, 24: 64, 1957.
- 8.—*American Journal of Clinical Pathology*. Selected titles from foreign journals, 30: 350, 1957.
- 9.—*Salgado, S.*: Reacción de Sellek-Frade y su comparación cualitativa con otras pruebas. Tesis profesional. Universidad de San Marcos. Lima, Perú, 1957.
- 10.—*Popper, H.*: Profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Columbia, New York. Comunicación personal, 1957.
- 11.—*Franklin, M.; Popper, H.; Steigman, F., and Kozoll, D. D.*: Relation between structural and functional alterations of the liver. *J. Lab. and Clin. Med.* 33: 435, 1948.
- 12.—*Popper, H.; Steigmann, F., and Szanto, P. B.*: Quantitative of morphologic liver changes and clinical tests. *American Journal of Clinical Pathology*, 19: 710, 1949.
- 13.—*Castillo, P. A.; López Fernández, F.; Medina, D.*: Nuestra experiencia con la prueba de Sellek-Frade en el diagnóstico de las hepatopatías. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 11: 100, 1957 y *Revista de la Confederación Médica Panamericana*, 5: 279, 1958.
- 14.—*Fraga, S.*: La reacción de Sellek-Frade en la investigación del funcionamiento hepático. *El Médico*, 8: 82, 1958 y *Noticias Clínicas*, 16: 33, 1958, México D.F.
- 15.—*Bolio, A.*: Turbidez y floculación del acetato de cobre como prueba funcional hepática. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, 1958.
- 16.—*MacLagan, N. F.*: Los tests de floculación en la función hepática. *El Día Médico*, Buenos Aires, Nov. de 1958 (pág. 31).
- 17.—*Faberi, M. y Polini, I.*: La reazione all'acetato di rame di Sellek-Frade confrontata con altre prove di siero labilita negli epatopazienti. *Il. Lab. in la Diag. Med.*, 3: 136, 1958.
- 18.—*Delgado, C. S.*: Estudio paralelo entre las seroreacciones de turbidez y floculación del acetato de cobre de Sellek-Frade, Hanger y Timol en las hepatopatías. *Revista del Colegio Q-F de Chile*, junio de 1958.
- 19.—*Liveq function*. Leading articles. *The Lancet*. Londres, pág. 403, 1958 (august 23).
- 20.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Prueba de Sellek-Frade del acetato de cobre y actividad de las transaminasas glutámica oxalacética y pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 13: 30, 1959.
- 21.—*Jovine, E.; Gaya, C. E. y Villa, J. C.*: Fotocolorimetría Clínica. Editorial Universitaria, Buenos Aires, 1959.
- 22.—*Fraga, S.*: Modificación a la lectura de la reacción de Sellek-Frade del acetato de cobre. *Revista Mexicana de Laboratorio Clínico*, XI: 11, 1959.
- 23.—*Paiva, C. A. y Salgado, C.*: El test de Sellek-Frade y su comparación con los de Kuinkel y Timol. Tesis de la Facultad de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de San Marcos, Lima, Perú.
- 24.—*Nodarse, O.*: Interpretación clínica de los análisis clínicos. Obra de texto de la Cátedra de Microscopía y Química Clínicas de la Escuela de Medicina de la Universidad de La Habana, 1960, (pág. 530). Editor: M. V. Fresneda.
- 25.—*Nguyen-The-Minh*: La reaction al acetate de cuivre de Sellek-Frade. Son utile dans les affections hepatiques. *La Presse Medicale*. No. 23, pág. 1958, junio 25 de 1960.
- 26.—*Cazzato, C.*: La reazione all'acetate di rame di Sellek-Frade negli schizofrenici. *Giornale di Psiquiatria e di Neuropatologia*, 88: 849, 1960 (No. 4).
- 27.—*Granato, P. O. y Boabista, A. L.*: Estudio comparativo da prova de Sellek-Frade. *Rev. Brasileira de Medicina*, 15: 410, 1960 (Maio).
- 28.—*Reinhold, J. G.*: Flocculation test and their application on the study liver disease. *Advances in Clinical Chemistry*, 5: 126, 1960.

- 29.—*Lemaire, A. e Nguyen-The-Minh*: Les tests de flocculation dans les maladies du foie. Rev. de Patologie Generale et de Physiologie, 69: 1229, Oct. No. 721.
- 30.—*Basnuevo, J. G.*: Bibliografía internacional sobre la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías. Revista Kuba, 16: 63, 1960.
- 31.—*Martcorena, A.*: Reacciones de Salazar Mallen y Sellek-Frade en hepatopatías. Revista "Laboratorio" (Granada, España), 30: 407, 1960.
- 32.—*Castillo, F. G.*: Evaluación de las pruebas de laboratorio en las enfermedades del hígado. Rev. Cubana de Laboratorio Clínico, 14: 99, 1960.
- 33.—*MacLagan, N. F.*: Profesor de Química Patológica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Londres, 1960. Comunicación personal.
- 34.—*Wroblewsky, F.*: Profesor de Medicina de la Universidad de Cornell. Comunicación personal, 1960.
- 35.—*Wuhrmann, F.*: Profesor de Medicina de la Universidad de Zurich (Suiza). Comunicación personal, 1960.
- 36.—*Celsi, H. T. y Trevisan, A. B.*: Valor diagnóstico de la reacción de Sellek-Frade en las afecciones hepatobiliares. La Prensa Médica Argentina, 48: 2627, 1961.
- 37.—*Celsi, H. T.*: Hepatograma. Su interpretación actual. La Prensa Médica Argentina, 48: 4627, 1961.
- 38.—*Sellek, A y Del Frade, A.*: Prueba de Sellek-Frade del acetato de cobre y actividad de las transaminasas glutámica oxalacética y pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. II Fegato (Roma), 7: 1, 1961.
- 39.—*Solari, E. y Botaro, F.*: Ricerche su du una nuova reazione di labilita colloidale. II Laboratorio Nella Diagnosis Medica, 6: 58, 1961.
- 40.—*Nguyen-The-Minh*: La reaction al acetate de cuivre de Sellek-Frade. Son utilite dans les affections hepaticues. II Fegato, 7: 149, 1961.
- 41.—*Permanyer, J. J.*: Capítulos de Laboratorio Clínico en Síntesis Médica. Barcelona, Años: 1957, 1961 y 1963.
- 42.—*Viranuvati, V. y otros*: Further study on iodine of liver function test. Relations in between iodine test and other liver function test. A. J. Gastroenterology, 36: 468, 1961.
- 43.—*Viranuvati, V. y otros*: Copper acetate (Sellek-Frade) test of liver reaction. To be published.
- 44.—*Houssay, B. A.*: Comunicación personal, 1961.
- 45.—Anales de la Cátedra de Clínica Médica del profesor E. S. Mazzei. Año 1961-62.
- 46.—*Rouques, L.*: La reaction de Sellek-Frade dans les affections hepaticues. Presse Medicale, 70: 770, 1962 (marzo 31).
- 47.—*Kumate, J.; Beltrán, F.; Benavides, L. y Flores, M. A.*: Liver function tests in infants with biliary atresia. Pediatrics, 20: 630, 1960.
- 48.—*Kumate, J.; Benavides, L.; Sagon y Gutiérrez, G.*: Boletín Médico del Hospital Infantil de México, 18: 273, 1961.
- 49.—*Salas, M. y Ambrosius, K.*: Aspectos histológicos de la hepatitis del recién nacido y del lactante. Bol. Médico del Hospital Infantil de México, 18: 293, 1961.
- 50.—*Fraga, S.*: Semiología de las pruebas hepáticas. Revista Mexicana de Laboratorio Clínico, 14: 77, 1960.
- 51.—*Popper, H. y Schaffner, F.*: El hígado. Su estructura y función. Editorial Noguer, Barcelona, 1962.
- 52.—*Demeuleneare, L.*: Savoir interpreter l'examen fonctionnel hepato-biliaire. Editor, Albert de Vissecher, Bruselas, 1962.
- 53.—*Galmarini, O. V.*: Evaluación de la reacción turbidométrica del acetato de cobre. La Prensa Médica Argentina, 49: 739, 1962 (marzo 31).
- 54.—*Padolechia, N.; Panaro, A. I.; Maiorano, C.*: Experimentaciones clinica e indagini fisiopatologiche sul nuovo test di labilita colloidale di Sellek-Frade. Minerva Médica, 53: 2855, 1962 (sept. 29).
- 55.—*Ionescu y otros*: Consideratti critique asupra testolore de disproteinemia cu referire apreciata la reacción Sellek-Frade, 14: 359, 1962 (Martie), Bucarest.
- 56.—*Victorisz, K.*: Modified Sellek del Frade liver function test. Orvosi Hetilap, 103: 1904-5, 1962, 7 oct. Budapest.
- 57.—*Baldi, A. y Ferrara, E.*: Test all acetatoe di rame nella diagnostica della epatopatie. Igiene e S. Publice, 18: 146, 1962.
- 58.—*Muntoni, S.*: La reazione di Sellek-Frade nella diagnostica della affezione epatiche. Minerva Gastroenterologica, 8: 148, 1962 (Oct.-Dic.).
- 59.—*Vio, A.*: Diagnosi differenziale degli itteri: la proba all'acetate di rame Sellek-Frade comparata al test di Jirgl. Rivista di Gastroenterologia (Parma), 14: 59, 1962 (Marzi-Abril).
- 60.—*Minarelli, A.*: Reazione dell'acetate di rame di Sellek-Frade. Romagna Medica, 14: 621, 1962 (Dec.).
- 61.—*Romero, E.*: Profesor Titular de Patología Médica de la Universidad de Valladolid. Comunicación personal.
- 62.—*Watanabe, R.*: Transaminasas séricas. Reacción con acetato de cobre y bilirrubinemia en hepatitis. Tesis de grado. Medicina, México, 47: 426, 1962.
- 63.—*Watanabe, R.*: Transaminasas séricas. Reacción con acetato de cobre y bilirrubinemia en hepatitis. Tesis de grado. Medicina, México, 47: 445, 1962.

- 64.—*Duarte Marin, N.*: Seroreacción de Sellek-Frade para el diagnóstico de las hepatopatías. *Revista de la Clínica de Maternidad "David Restrepo"*, 3: 32, 1962. Bogotá, Colombia.
- 65.—La prueba de labilidad coloidal de Sellek-Frade. *La Semana Médica*, Buenos Aires, Editorial, 122: 151, 1963. (enero 31).
- 66.—*Bodansky, O.*: The present and future role of enzymology in clinical pathology. *Am. J. Clin. Pathology*, 38: 343, 1962.
- 67.—*Hanger, F. M.*: Practical considerations of the jaundiced patient. *Medical Clinics of North America*.
- 68.—*Hanger, F. M.*: Serological differentiation of obstruction from hepatogenous jaundice by flocculation of cephalin-cholesterol emulsion. *J. Clin. Inv.*, 18: 261, 1939.
- 69.—*MacLagan, N. F.*: Thymol turbidity test a new indicator of liver disfunction. *Nature*, 154: 670, 1944.
- 70.—*MacLagan, N. F.*: Liver function test in the diagnosis of jaundice. *Brit. Med. J.*, 2: 197, 1947.
- 71.—*Ducci, H.*: The thymol test of MacLagan. *J. of Lab. and Clin. Med.* 32: 1266, 1947.
- 72.—*De la Huerga, J. and Popper, H.*: Standardized reagent for thymol turbidity test. *J. of Lab. and Clin. Med.*, 44: 353, 1954.
- 73.—*Reinhold, J. and Jonan, V.*: The thymol test. A study of factors affecting its accuracy and description of the modified technic. *Am. J. Clin. Pathology*, 26: 669, 1956.
- 74.—*Watson, C. J. and Rappaport, E. M.*: A comparison of the results obtained with the Hanger cephalin-cholesterol flocculation test and the MacLagan thymol turbidity test in patients with liver disease. *J. Lab. and Clin. Med.*, 30: 983, 1945.
- 75.—*Ramos Piloto, P.*: Exprofesor Titular de Física Biológica de la Escuela de Medicina de la Universidad de La Habana. Comunicación personal, 1957.
- 76.—*Ortiz Rivas, O.*: Exprofesor Auxiliar de la Cátedra de Microscopía y Química Clínica de la Escuela de Medicina de la Universidad de La Habana, 1957.
- 77.—*Trevisan, A. P.*: Ictericas posthepáticas. Estudio clínico y humoral. *La Prensa Médica Argentina*, 50: 70, 1963 (Enero 4).
- 78.—*Papadimitri, O.*: The Sellek-Frade (Copper acetate) test in viral hepatitis. *Bull. Univ. Shtet Tirane (Mick)*, 3: 66, 1963.
- 79.—*Gómez, J. A.*: Pruebas funcionales hepáticas en el diagnóstico de las enfermedades del hígado. Monografía, 1963, Tegucigalpa, Honduras.
- 80.—*Schaposnik, F.; Milman, F. y Cacciatore, J.*: La prueba del acetato de cobre en la exploración funcional del hígado. *Orientación Médica (Buenos Aires)*, 12: 457, 1963 (Agosto 23).
- 81.—*Más Martín, J. C. y Corral, J. F.*: Lecciones de laboratorio clínico. Escuela de Medicina. Universidad de La Habana.
- 82.—*Peg, J. y Pujol, J.*: Estudio químico-clínico de la reacción de Sellek-Frade. *Revista Clínica y Laboratorio (Zaragoza, España)*, 49: 285, 1964.
- 83.—*Sellek, A.; Frade, A. y Perelló, J. M.*: Valor de la reacción de Jirgl en el diagnóstico de los icteros obstructivos. *Revista Cubana de Pediatría*, 36: 515, 1964.
- 84.—*Fiabane L. y Targon H.*: La prove di Sellek-Frade in rapporto alle attività transaminasiche nell'epatite virale. *Il Laboratorio nella diagnosi medica, VIII*: 37, 1963.
- 85.—*Rudner, O. P. y otros*: *Kazan Medical Journal*, No. 5 de 1963.
- 86.—*Kinslenko, D. I.*: Thesis 7 Congress of Microbiology Epidemiology, 1963 (Kiev, URSS).
- 87.—*Viranuvoti, V. y otros*: Liver function test and hepatic amebiasis. Based in 274 cases. *Am. J. Gastroenterology*, 39: 345, 1963.
- 88.—*Floris, N. y Muntoni, S.*: Ricerche sull'idrofluorosi. Comportamento di alcune prove di labilità serica e di funzionalità epatica in soggetti idrofluorotici. *Minerva Médica*, 54: 3895, 1963.
- 89.—*Pittera, A. y otros*: Contributo casistico al valore clinico di una nuova prova di sieroflocculazione la prove all'acetato di rame. *Medicina Clinica e Sperimentale*, 1: 71, 1964.
- 90.—*Mikol, E.*: La reaction de Sellek-Frade all'acetate de cuivre en hepatologie. *La Presse Medicale*, 72: 2930, 1964 (No. 49, Nov. 21).
- 91.—*Celsi, T. H. y Trevisan, A. B.*: Valor diagnóstico de la reacción de Sellek-Frade en las afecciones hepatobiliares. *Il Fegato*, 10: 123, 1964.
- 92.—*Amorelli, A.*: Il valore del teste di Sellek-Frade nelle tonsilliti cronica focali. *Archivi Italiano di Laringologia*, LXXII. 467, 1964.
- 93.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías ocho años después. *Revista Mexicana de Laboratorio Clínico*, 17: 99, 1965.
- 94.—*Peg, V. y Pujol, J.*: Estudio químico-clínico de la reacción de Sellek-Frade. *Revista Mexicana de Laboratorio Clínico*, 17: 99, 1965.
- 95.—*Bassi, M.; Bufardec, G.; D'Alonzo, D. y Menci, S.*: Utilità della reazione Sellek-Frade nelle affezioni epatiche e considerazioni sul suo comportamento dopo terapia prednisolonica. *Il Policlinico. Sezione pratica*, 72: 639, 1965.
- 96.—*Monari, E. y Pezzoli, A.*: Comportamento della reazione di Sellek-Frade all'acetato di rame nelle epatiti virali infantile. *La Clinica Pediatrica (Bologna)*, 48: 80, 1965.
- 97.—*Furiosi, P. y Pasquini, F.*: L'uso combinato di due semplici tests sierologici nella differenziazione degli icteri. *Gazz. It. Med. Chir.*, 70: 136, 1965.
- 98.—*Tamayo, R. y Sagareta, A.*: Hepatitis viral. Revisión estadística en un año de docencia. *Revista Cubana de Medicina*, 4: 350, 1965.

- 99.—*Elizastegui, F.*: La hepatitis viral. Estudio estadístico sobre 373 casos. *Revista Cubana de Medicina*, 4: 64, 1965. (Febrero).
- 100.—*Coata, G. y Filetti, A.*: La nostra esperienza con la reazione di Sellek-Frade. *Riforma Médica (Nápoles)*, 79: 1100, 1965.
- 101.—*Giannini, G. y Masseiri, E.*: Valore diagnostico della reazione di Sellek-Frade nelle epatopatie acute e croniche. *Rassegna Italiana di Gastroenterologia*, 3: 349, 1966.
- 102.—*Mikol, Cl.*: Valeur de la reaction de flocculation al'acetate de cuivre. *La Presse Medicale*, 74: 199, 1966 (22 Janvier).
- 103.—*Aguirre, G.*: Una investigación útil y eficaz en el diagnóstico de las hepatopatías. Nuestra experiencia. *Gaceta Médica del Norte, XVI*: 326, 1966.
- 104.—*Gutiérrez Agramonte, E.; Hierrezuelo, P. O. y Magriñat, J. M.*: La prueba del acetato de cobre de Sellek-Frade en la esquizofrenia. *Revista del Hospital Psiquiátrico de La Habana*, 7: 359, 1966.
- 105.—*Frade, A.; Pérez Montes, L.; Behar, N.* y otros: Experiencia clínica con la prueba de Sellek-Frade o del acetato de cobre. *Revista Cubana de Medicina*, 5: 82, 1966.
- 106.—*Nobile, M.*: La reazione di Sellek-Frade nella diagnostica funzionale del fegato del bovino en el bufalo. *Acta Medica Veterinaria, XII*: 101, 1966 (Nápoles; Italia).
- 107.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: Test i Sellek-Frade acetat bakeri ne semund jet e melcise. *Buletin i Universitetit Shtetëror të tiranes. Nr. 1. viti 1966* (Albania).
- 108.—*Ambrosius, K.*: La cirrosis postnecrótica de la infancia. Estudio Anatomopatológico. *Bol. Médico del Hospital Infantil de México, XXIII*: 603, 1966.
- 109.—*Kumate, J. y González, A.*: Las pruebas hepáticas en la patología extrahepática de lactantes mayores. *Bol. Médico del Hospital Infantil de México, XXIII*: 627, 1966.
- 110.—*Schereier, K. und Khodabaksh, E.*: Hepatitis epidémica en la edad infantil. Experiencia en 850 casos. *Univ. Kinderklinik Heidelberg. Deutsche Medizinische Wochenschrift, Stuttgart*, 88: 1937, 1963.
- 111.—Symposium european sur l'hepatite e virus. Prague 1964. Ed. O.M.S. Bureau Regional de l'Europe.
- 112.—*Vestermak, S.; Wulf, H. L. and Zachau-Christiansen, B.*: Cirrosis hepática familiar infantil. *Danish Medical Bull.*, 11(2): 46, 1964.
- 113.—*Deboravolski, K. A. y Goryounava, N. P.*: Significado diagnóstico de la prueba del acetato de cobre en la enfermedad de Botkin (Hepatitis Infecciosa). *Revista Asuntos de Laboratorio, No. 10*, págs. 601-602, 1967 (Moscú, URRS).
- 114.—*Gras J.*: Proteínas plasmáticas. Editorial Jims. Tercera Edición, 1967, págs. 155, 157 y 538. Barcelona, España.
- 115.—*Paniagua, M.*: Fundamentos clínicos para la indicación de las pruebas hepáticas en nuestro medio. *Revista Cubana de Medicina*, 6: 152, 1967.
- 116.—*Senti Paredes, A.*: Exploración funcional del hígado. *Revista Cubana de Medicina*, 6: 529, 1967.
- 117.—*Jaulmes, Ch.; Jude, H.; Querangol, I. y Delga, J.*: Editorial Toray-Masson Barcelona. 1968 (Obra de Jefes de Laboratorio del Ejército Francés).
- 118.—*Peris, G.; Montale, P. y Nicora, E.*: Nostra esperienza con el test di Sellek-Frade all'acetate di rame: su significato nella patologia epatobiliare. *Archivio Maragliano di Patologia e Clinica*, 24: 657, 1968.
- 119.—*Pérez, R.; Stepanov, I. y Rodríguez J.*: Leptospirosis congénita. *Revista Cubana de Medicina*, 6: 152, 1967.
- 120.—*Mazarella C.*: Diagnóstico diferencial de laboratorio en los estados de ictericia. *La Riforma Médica (Nápoles)*. No. 17 de 1968.
- 121.—*Mazzei, E. S.; Celsi, T. H. y Lasala, F. G.*: Hepatitis viral aguda. Experiencia durante los últimos diez años. *Prensa Médica Argentina*, 55: 156, 1968.
- 122.—*Sellek, A. y Del Frade, A.*: The Sellek-Frade copper acetate test in liver disease. *Il Fegato (Roma)*, 14: 4, 1968.
- 123.—*Larragoitti, R.*: Comunicación sobre la reacción del acetato de cobre en los pacientes esquizofrénicos. *Rev. del Hospital Psiquiátrico de La Habana*, X: 440, 1969.
- 124.—Manual de técnicas para laboratorios clínicos. Grupo nacional de laboratorios clínicos del Ministerio de Salud Pública. Editor: Instituto Cubano del Libro, La Habana, 1969.
- 125.—*De Prado, L. H.; Seoane, R. M. y Celsi, T. H.*: Estudios comparativos entre los niveles plasmáticos de gammaglobulinas determinados por electroforesis en papel y la reacción de Sellek-Frade. *La Prensa Médica Argentina*, 56: 143, 1969.
- 126.—*Sharma, S. K.*: Hepatomegaly in Children. *Clinical and Epidemic Considerations, Indian Pediat.*, 6: 383, 1969.
- 127.—*Zimmerman, E.*: Toxic Hepatopathy. *A. J. Gastroenterology*, 49: 39, 1968.
- 128.—*Zimmerman, J.*: Todd-Sanford (Davidson-Wells), Diagnóstico clínico por el laboratorio. Editor: Marin, Barcelona, 1966.
- 129.—*Olive, A.*: Las pruebas funcionales hepáticas y datos de laboratorio en la hepatitis viral de los niños. *Acta Pediátrica Española*, Agosto de 1967.
- 130.—*Schiff, L.*: Diseases of the liver. Editor: J. B. Lippincott, Philadelphia, 1963.
- 131.—*Sherlock Sheila*: Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Scientific Publications, 1963.
- 132.—*Schachter y Klein, S.*: Hepatitis tóxica hidrazídica. *Studiu pe 262 de intoxicatü*

- ente. *Medicina Interna* (Bucarest), 21: pág. 61, 1969.
- 133.—*Miller, S. E.*: Textbook of Clinical Pathology. The Williams Wilkins Comp., 1960.
- 134.—*Bulter, H.*: Error possibilities in the bromsulphalein tes. *Deutsch Med. Wschr.*, 93: 928, 1969 (3 de mayo).
- 135.—*Ceausu, E. M.*; *Torjescu, V.* y otros: Valoarea testului eu rosu coloidal vi a reactiei eu acid cloralinic in diagnosticul hepatitelor acute si cronice. *Medicina Interna* (Bucarest), XVIII: 595, 1966 (Mayo).
- 136.—*Papadhimitri, O.*: La prueba de Sellek-Frade (al acetato de cobre) en la hepatitis viral y su evaluación clínica. *Revista Cubana de Pediatría*, 37: 229, 1965.
- 137.—*Magath, T. B.*: Editorial: An extremely simple test. *American Journal Clinical Pathology*, 39: 630, 1963.
- 138.—*Sellek, A.*; *Hernández, H.*; *De Castro, E.* y *Pulido, M.*: Iodo proteico de la sangre en pediatría. *Revista Cubana de Pediatría*, 41: 281, 1969.
- 139.—*Robbins, L. S.*: Tratado de patología. Tercera Edición 1968.
- 140.—*Inclán, B.*; *Sellek, A.* y *Prado, G.*: Sobre la reacción de Takata-Ara en las hepatopatías. *Archivos de Medicina Interna*, (La Habana), 1: 354, 1935.
- 141.—*Lavin, R.*; *Sellek, A.* y *Del Frade, A.*: Sobre la reacción del oro coloidal de Lange en el suero sanguíneo para el diagnóstico de las hepatopatías. *Revista Vida Nueva*, XLIX: 203, 1942.
- 142.—*Milaués, F.*: Exploración funcional del hígado. Obra editada por el autor. La Habana, 1953.
- 143.—*Toyos Gómez, V.*: Explotaciones funcionales hepáticas. Capítulo de la obra de los doctores V. y G. Anido titulada: Laboratorio Clínico. Técnica e interpretaciones. Cultural, La Habana, 1947.
- 144.—*Montero, R.*: Estudio de la función hepática en el niño. Tesis de Adscripción a la Cátedra de Patología y Clínica Infantiles. *Archivos de Medicina Infantil*, XIV: 1, 1945.
- 145.—*Papadhimitri, O.*: El tratamiento hormonal de la hepatitis viral icterigena. *Revista Cubana de Pediatría*, 37: 568, 1965.
- 146.—*Cardelle, G.* y *Jordán, J.*: Consideraciones sobre algunos casos de hepatitis epidémica. *Archivos de Medicina Infantil*, 15: 209, 1949.
- 147.—*Cardelle, G.* y *De la Heria, O.*: Hepatitis viral (Hepatitis sérica). *Archivos de Medicina Infantil*, XXI: 34, 1952.
- 148.—*Abalí, A. J.* y otros: Alteraciones hepáticas en los trastornos nutritivos. *Revista Cubana de Pediatría*, XXVI: 431, 1954.
- 149.—*Torres Corvo, M.*: Cirrosis del hígado consecutiva a malformación congénita de las vías biliares extrahepáticas. *Revista Cubana de Pediatría*, XXVI: 13, 1954.
- 150.—*Jordán, J.*: El síndrome icterico en el recién nacido. *Revista Cubana de Pediatría*, 34: 33, 1962.
- 151.—*Blanco Rabassa, E.* y *Borbolla, L.*: Cirrosis postnecrótica. Presentación de tres casos. *Archivos de Medicina Infantil*, XXV: 106, 1956.
- 152.—*Martín Jiménez, Borges, F.*; *Sosa Bens, D.*; *De Varona, E.*: Absceso hepático amebiano en un lactante. *Archivos de Medicina Infantil*, XXV: 122, 1956.
- 153.—*Mallin, S. R.* and *Gambescia, J.*: A fatal reaction sulfobromophthalein. *J.A.M.A.*, 174: 1858, 1960.
- 154.—*Nodwickai, E. G.* and *Roth, G. E.*: Acute anaphylactoid shock due to bromosulphalein. *Am. Rev. Resp. Dis.*, 81: 79, 1960.
- 155.—*Franchini, A.*: Accidenti mortali da farmaci e responsabilità professionale del medico. *Fed. Med.*, 3: 41, 1967.
- 156.—*Katz, W. A.* and *Scarp, M.*: Bromosulphalein reactions. *Am. J. Med. Sci.*, 248: 545, 1964.
- 157.—*Hansen, J. C.* and *Crampton, R. S.*: Fatal anaphilatic reaction to sulphobromophthalein. *Arc. Int. Med.*, 112: 171, 1963.
- 158.—*Valledor, T.*, *Blanco, R. E.*; *Borbolla, L.*; *Satanowsky, C.*; *Torroella, E.* y *García, P. A.*: Ictero obstructivo en el recién nacido y lactante pequeño. *Revista Cubana de Pediatría*, 28: 127, 1956.
- 159.—*Vilardel Viñas, F.*: Director de la Escuela de Patología Digestiva del Hospital de Santa Cruz y San Pablo de Barcelona. Comunicación personal 1971.