

PROPOSICIÓN DE UN MÉTODO PARA
MEDIR LA INTENSIDAD DEL ESTADO
CONSTITUCIONAL SIFILÍTICO MEDIANTE
LA REACCIÓN DE WASSERMANN (1)

por

ANTONIO SALVAT

Los trabajos de Bordet y Gengou, estudiando la operación de la bacteriolisis mediante los sueros específicos, y revelando la complejidad que realmente yace en el acto aparentemente simple de dicho fenómeno, fueron el fundamento verdadero de todos los métodos técnicos cuyo eje es la desviación del complemento. Ahí reside también la razón de ser de la reacción de Wassermann, que pudiera definirse diciendo que es la aplicación al caso particular de la sífilis, de los descubrimientos de carácter general originales de los bacteriólogos de Bruselas. Aun es más justa la definición si se aplica a la reacción de Wassermann según

(1) Lo esencial de este trabajo fué publicado el año 1913, en *Crónica Médica*, de Valencia, y en *Revista Médica*, de Sevilla.

No obstante, en la *Presse Médical*, de París, número de 27 de enero de 1919, aparece un escrito de los Sres. Mathis y Labougle, donde denominan método de Calmette y Massol a un procedimiento cuya técnica y fundamento presentan analogías extraordinarias con el nuestro. Esta circunstancia nos induce a comunicar los hechos a la «Societat de Biologia» de Barcelona, con objeto de recordar nociones expuestas hace se s años, si bien entonces quizá no alcanzaran la fortuna de un extenso conocimiento público.

este sabio la concibió en un principio, estimando que los reactivos eran verdaderos anticuerpos y genuinos antígenos sifilíticos, antes de que estudios nuevos demostrasen que había otras acciones, quizá más extensas e importantes que aquella reacción simple, entre globulinas algunas de las cuales sirven de substrato a la función aléxica, y los cuerpo lipoides capaces de fijar o *adsorber* dichos albuminoides puros. Tengo para mí que esta última circunstancia, si bien mixtifica necesariamente el proceso puro que ha lugar en la bacteriolisis específica y a él se añaden otros factores que lo complican en gran manera, no se perturban los fundamentos en que yace el carácter específico de la reacción de Wassermann, siempre y cuando admitamos que la distrofia o paratrofia, esto es, el matiz que al metabolismo íntimo del organismo imprime la sífilis, creando una verdadera y nueva *constitución* en la acepción clínica y clásica de la palabra, es peculiar y *sui generis*. Creo haber demostrado ante mis propios ojos, mediante las pruebas y contrapruebas con numerosos y diversos antígenos, que dicha aserción es justa. Creo haber visto y distinguido en la propiedad *adsorbente* de los antígenos, dos acciones diferentes: una genérica, que desarrolla todo lipóide, y otra realmente propia de los de origen sifilítico, la cual destaca vigorosamente en los experimentos comparativos.

Opino, pues, que la llamada reacción de Wassermann para el reconocimiento de la sífilis, es uno de los trabajos de laboratorio más delicados que pueden verificarse. Son muchas las circunstancias y detalles que hay que tener en cuenta y que hay que gobernar con una buena técnica, para que surja puro e inmaculado el resultado diagnóstico que pretendemos.

El derroche de tiempo y de atención que hay que consagrar a este trabajo analítico, y la considerable educación técnica previamente necesaria para emprenderlo con la

debida honradez científica, son serias dificultades que aparecen muy formalmente en la práctica corriente de los laboratorios: de una parte, el apresuramiento con que se trabaja en los centros de explotación industrial de análisis médicos para despachar con presteza las demandas que se acumulan, es poco compatible con aquella intensidad en el estudio y parsimonia de obrar que he recomendado, razón por la cual se apela a los expedientes rápidos, de los que hay montón. De otra parte, en estos tiempos de acerba competencia profesional y financiera, se asaltan, o saltean, por mejor decir, las especialidades, llegando así de rondón al campo de estos estudios eminencias improvisadas.

Tambien tengo por cierto (y es mi segunda premisa) que dicha reacción de Wassermann es, de por sí y en abstracto, uno de los más bellos recursos técnicos para diagnóstico, un medio de precisión matemática para el reconocimiento de la sífilis, que puede y debe rechazar terminantemente cuantas tildes de falacia, inseguridad, etcétera, se le han atribuído.

Por ende, entiendo, creo y afirmo que los hechos concretos que fundamentan la desconfianza que a muchos clínicos he oído expresar, hechos de incongruencia entre los informes de los laboratorios y los acontecimientos sintomáticos y anatómopatológicos que evolucionaban en el enfermo, son debidos, simplemente, a que estuvieron mal hechas las correspondientes reacciones de Wassermann.

Esta opinión mía, comprobada muchas veces en mi laboratorio, es también la del propio Wassermann, quien ante mí se quejaba (en mayo de 1910) de que en la misma Alemania solía practicarse muy mal el método analítico de que es autor, precisamente por las causas mismas que yo he denunciado; además, alemanes son la mayoría de los muchos métodos de simplificación que han sido propuestos; métodos, que si bien sirven maravillosamente a los

intereses particulares de los analistas sobrados de trabajo o harto ambiciosos de dinero, abren contra la pureza científica de la reacción de Wassermann ancho margen de error. Claro es que semejantes procedimientos han obtenido la radical excomunión de Wassermann.

El analista que se dedique a su trabajo con buena y sana fe científica, y que, por lo tanto, se haya curado de estudiar a fondo la esencia filosófica, por decirlo así, de la reacción de Wassermann, habrá observado necesariamente la importancia suma de muchos detalles técnicos, que tendrá por inexcusables en su práctica. Pero entre todos alcanza la trascendencia de lo decisivo, el siguiente: la determinación cuantitativa *previa*, del valor del complemento.

Sabido es que la reacción de Wassermann está fundada en la fijación (o *adsorción*, como ahora se dice) del complemento o alexina mediante el sistema antígeno sifilítico + suero sifilítico; y que como reactivo revelador de este fenómeno que por sí solo no se denuncia a los ojos del observador, se emplea un sistema hemolítico, defectivo de complemento. Si aquella fijación del complemento se verificó, por el carácter sifilítico del antígeno y del suero, este sistema hemolítico no halla en el menbruo la alexina precisa para la hemolisis, y los hematíes reveladores permanecen íntegros, se sedimentan en el fondo del tubo y el líquido queda incoloro: la falta de hemolisis indica que la reacción ha sido positiva. Si, por el contrario, el suero no era sifilítico y no pudo, pues, sensibilizar al antígeno de este nombre, no ha lugar a la fijación del complemento: éste queda libre en la mezcla de líquidos, y cuando se añaden los hematíes cargados de hemolisina, se verifica la concatenación de los tres factores del sistema, a saber, hematíes + hemolisina + complemento. La hemoglobina disuelta tiñe bellamente el líquido; la hemolisis se ha producido, denunciando que la reacción de Wassermann es negativa.

El sentido común asevera, ahora, lo siguiente. Primero: caso de que el operador haya puesto una cantidad excesiva de complemento, y si es algo parca la cualidad sifilítica del suero que se estudia, ha de sobrar alexina después de quedar saturado el sistema sifilítico, con lo cual se verifica la hemolisis dando una falsa revelación. Por esta causa de error, ocurre que no pueden sorprenderse las reacciones positivas que dan los casos sutiles de sífilis, en los cuales se trata de revelar tenues indicios de la transformación específica de los humores orgánicos. Segundo: si se pone complemento escaso (ya porque no sea suficiente la cantidad de suero fresco de conejillo, ya porque la *frescura* esté por parte del operador y no por la del suero), ha de resultar, fatalmente, que la hemolisis reveladora no se verificará en los casos negativos de reacción de Wassermann, siempre que aquella cantidad de complemento sea menor que la dosis mínima activa para producir la hemolisis en sí.

He aquí patentizado con lógica incontrovertible (y pudiéramos abonarlo con hechos ejemplares) que antes de proceder a la reacción de Wassermann es preciso, ineludible, hacer la prueba del complemento y determinar *cuantitativamente* su valor. Es necesario conocer la cantidad mínima de complemento que se consume para verificar la hemolisis total en un plazo previsto, y usar estrictamente dicha cantidad en la reacción de Wassermann que se hace inmediatamente después: *inmediatamente después*, antes de que transcurra tiempo durante el cual pierda actividad el complemento.

Efectivamente, y es cosa bien sabida por todo el que haya hecho en serio trabajos suerológicos, la alexina o complemento, factor de todo suero fresco, ofrece las dos particularidades siguientes, que no hay que perder de vista en la reacción de Wassermann: su actividad en los distintos ejemplares de una misma especie animal, y aun en

un animal mismo según los momentos, es sumamente diversa: su valor disminuye siempre en el suero contenido fuera del sistema circulatorio, fenómeno espontáneo que se verifica sin regularidad ni progresión, habiendo sueros que conservan *días* su poder aléxico casi intacto, y otros que en *horas* merman muchísimo en dicho poder. No cabe duda: el carácter de la alexina como elemento *lábil* es notabilísimo, y esta *labilidad* es tan grande siempre y tan irregular siempre también, que constituye un groserísimo absurdo, anticientífico e irreal, el principio de emplear el complemento en la reacción de Wassermann a dosis fija y sin previa prueba cuantitativa. En libros que la gente tiene por buenos, en descripciones técnicas de la pobre reacción de Wassermann, se dice al hablar del complemento... «*échense tantas gotas* (1 ó 2 ó más, según los autores) *de suero de conejillo*».

Díaz Casabuena y yo, en Vigo, fuimos los primeros, que yo sepa, que empleamos sistemáticamente el procedimiento racional de la prueba previa del complemento: antes de aparecer la última edición de la obra de Kolle y Hetsch, casi la Biblia moderna de nuestros laboratoristas, en la cual se trata de lo que yo estoy tratando ahora, nos habíamos percatado de que era necesario operar en la forma que recomiendo, a fin de dar a la reacción de Wassermann toda la exquisita sensibilidad de que es susceptible: de entonces datan los bellísimos resultados que obtengo, de modo que en mi laboratorio no se producen nunca esas reacciones ambiguas, *débilmente positivas*, o de hemolisis parciales que en otros sitios se dan, sino siempre hechos de admirable radicalismo. Claro es que para llegar a esta justeza de resultados hago colaborar todos los demás factores que contribuyen a afinar y sutilizar la investigación, y los cuales son muchos: verbigracia, hago una cuidadosa elección de antígeno, cuyo poder de *adsorción* sobre suero sifilítico mudo,

cuyo poder intrínseco para impedir por sí solo la hemolisis conozco, y el cual uso a *la dosis máxima no impidiende*.

Después de haber trabajado mucho según la pauta que acabo de señalar, me ocurrió pensar si sería posible gobernar la reacción de Wassermann en el sentido de obtener de ella claros índices acerca de la intensidad del fenómeno, y, *mutatis mutandis*, del grado de alteración humoral específica. Yo usaba para ello el procedimiento general: emplear en sendos tubos, con los demás elementos iguales, tres dosis de antígeno; una máxima, según el criterio ya indicado, y otras dos sucesivamente menores. En los casos positivos, la hemolisis está impedida siempre en el tubo primero, y lo está o no en los otros, según *el grado* en la intensidad de la reacción. Pero entendí que sería mejor, más natural y más práctico, tomar como dato diferencial el complemento fijado y no el antígeno empleado; si el eje de la reacción de Wassermann es la desviación del complemento, y la cantidad de éste desviada o *adsorbida* por el sistema sifilítico para su integración y efectos consiguientes está en razón directa de la cuantía de los factores previos de aquel sistema, es decir, concretamente de la alteración sifilítica del suero, puede computarse el grado que esta alcanza conociendo cuánto complemento en exceso se ha empleado hasta tornar negativa la reacción.

El *modus faciendi* que yo empleo, es como a continuación voy a describir. Tomo la sangre de un conejillo de Indias mediante una punción cardíaca y dejo separar el suero; recojo éste y lo diluyo al 1 por 10 con solución salina fisiológica. Esta dilución me sirve para la prueba del complemento en el sistema hemolísico, manejándola con una buena pipeta de 1 cm.³ dividida en décimas y centésimas de dicho volumen.

Ya he dicho que se observan notables diferencias de poder aléxico: hay sueros que con dos décimas de centí-

metro cúbico de la referida dilución al 1 por 10, completan el sistema hemolítico en forma de producir la total disolución de los glóbulos rojos en media hora; otros necesitan volúmenes de seis y ocho décimas para determinar los mismos efectos. Precisa, pues, determinar numéricamente este factor mediante una serie de tubos que, conteniendo todos ellos idénticas dosis de amboceptor hemolítico y de hemáticas, lleven cantidades crecientes de complemento a partir de 0'05 cm.³ de la dilución de suero al 1 por 10 (cantidad que nunca es suficiente) incrementando por fracciones también de cinco centésimas. Examínese la batería de tubos a los cuarenta y cinco minutos de incubación en la estufa a 35°, y véase en cuáles la hemolisis es completa: la dosis mínima activa será la correspondiente a aquel tubo que en orden decreciente de complemento manifiesta aún dicha hemolisis total, no siéndolo en el inmediato.

He aquí la unidad de valor aléxico, determinada para el caso particular de suero que tenemos entre manos, unidad que debe corregirse todavía después de estudiar la acción impidiendo del antígeno que hemos de usar: generalmente hay que contar de media a una décima más, sobre el dato primeramente hallado.

En estas condiciones, a poquísimos complementos que un sistema sifilítico inhabilite para los efectos de la hemolisis subsiguiente, ésta deja de verificarse: si aquel sistema es muy tenue, una unidad más de complemento en exceso hará aparecer la hemolisis; pero si es fuerte, fijará una y n unidades antes de permitir la disolución hemática: el valor numérico de n será expresión de la energía de la reacción operada. No hay más que disponer otra batería de tubos, con iguales dosis de suero sifilítico y de antígeno, y crecientes de complemento según los múltiplos sencillos de la cantidad a , hallada como unidad; es decir, 2 a , 3 a , 4 a , etc.: al añadir la hemolisina y los hemáticas, tam-

bién en idénticas cantidades para todos los tubos, veremos en qué tubo comienzan a operarse las hemolisis. Si, por ejemplo, esto ocurre en el tubo que contiene a + 6 de complemento, diremos que la reacción de Wassermann positiva tiene un poder de desviación de complemento eficaz sobre seis unidades de éste.

De esta manera, creo que la reacción de Wassermann, que ya tenía un grandísimo valor como indicador cualitativo de la sífilis, puede adquirir la importancia de un medio capaz de ponderar la cuantía de la impregnación del organismo. Sube de punto aún el interés práctico del asunto cuando se trate de conocer, mejor que el tanto de una infección sifilítica, el cuánto de su cesión y desarraigo ante los medios terapéuticos. Por eso, después de haber usado con buen éxito el medio que propongo, lo recomiendo calurosamente a todos aquellos que con sano interés profesional trabajan en los laboratorios.

Me remito a las consideraciones del principio, de las cuales es fácil corolario lo siguiente: en la reacción de Wassermann parece que se verifican, en realidad, dos reacciones: una es estrictamente entre antígenos y anticuerpos sifilíticos, correspondiente a la que en la bacteriolisis específica produce la desviación del complemento, o fenómeno de Bordet y Gengou; otra es la que ha lugar entre sustancias afines de otro orden, como las globulinas y los lipoides, que también desvía el complemento, dado que éste tiene carácter globulínico o está vinculado a las moléculas de semejante clase de albúmina, y en la reacción es *adsorbido* por los lipoides en cuestión. Esta última reacción no es de carácter intrínsecamente sifilítico, pero los elementos cardinales que dan lugar a ella surgen en el organismo bajo el imperio de la sífilis, de la cual son expresión indirecta, aunque sí representativa.

Ambas reacciones entiendo que son mensurables, pero

no se me ocurre, hoy por hoy, el medio de estudiarlas separadamente: tengo la impresión, sin embargo, que la primera de entrambas debe ser más propia de los períodos floridos de la sífilis, en que los espiroquetos invaden el organismo de un modo prodigioso: entonces sería más propio usar como antígeno una *luetina* o los propios treponemas procedentes de cultivo puro, tal y como se hace con los cuerpos bacterianos correspondientes en cualquier ensayo de la reacción de Bordet. La reacción entre las substancias que corresponden al metabolismo modificado por la sífilis constitucional, quizá exprese con mayor propiedad los estados latentes, de terciarismo rancio y de parasífilis, en los cuales es difícilísimo o imposible hallar treponemas en el cuerpo: desde luego debo hacer notar que en estos casos, en que aparece positiva la reacción de Wassermann, manifiéstase con radical claridad con antígenos que representan meras disoluciones de lipoides heterónimos, verbigracia, el extracto alcohólico de corazón de conejillo de Indias que prepara Merck, el cual, por el contrario, sirve menos para el diagnóstico de la sífilis en períodos de agudeza sintomática.

Pero estos son anticipos. Mi criterio cuantitativo sólo puede aplicarse hoy al proceso sifilítico en pleno con todos sus factores, y debe procederse para practicar mi método a la reacción de Wassermann clásica, usando como antígeno un producto integral confeccionado de hígado de feto sifilítico, escrupulosamente.

Laboratorio de Higiene. Facultad de Medicina.