

Reacțiile de flocluație ale serului
sanguin în sifilis



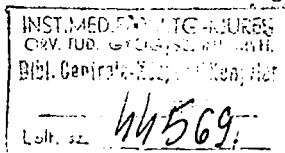
DOCTORAT IN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE
PREZENTATĂ ȘI SUSȚINUTĂ IN ZIUA DE 1940

DE

VASILE DUMITRESCU

Medic extern al policliniciei C. R. F. Cluj

Fost extern al Clinicii Urologice Cluj



24 MAY 2005

UNIVERSITATEA »REGELE FERDINAND I« DIN CLUJ FACULTATEA DE MEDICINA

Decan: Prof. Dr. DRĂGOIU I.

Profesori :

Anatomia umană	Prof. Dr. PAPILIAN V.
Chimie generală medicală	" " SECĂREANU ȘT.
Chimie biologică	" " MANTA I.
Istologie și embriologie	" " DRĂGOIU I.
Fiziologie și fizică medicală	" " BENETATO GR.
Anatomia patologică	" " VASILIU T.
Bacteriologie	" " BARONI V.
Patologia generală și experimentală	" " BOTEZ A. M.
Igienă și medicină preventivă	" " MOLDOVAN I.
Clinica medicală I	" " HAȚIEGANU I.
Clinica medicală II (semiologie)	" " GOIA I.
Clinica chirurgicală (semiologie, med. oper)	" " POP A.
Clinica chir. și boalele căilor urinare	" " ȚEPOSU E.
Clinica ginecologică și obstetricală	" " GRIGORIU C.
Clinica dermatologică și sifilografică	" " TĂTARU C.
Clinica infantilă și puericultură	" " POPOVICIU GH.
Clinica neurologică și Endocrinologia	" " MINEA I.
Clinica psihiatrică	" " URECHIA C.
Clinica oftalmologică	" " MICHAIL D.
Clinica balneologică și dietetică	" " STURZA M.
Clinica oto-rino-laringologică	" " BUZOIANU G.
Clinica stomatologică	" " ALEMAN I.
Medicina legală	" " KERNBACH M.
Radiologia medicală	" " NEGRU D.
Istoria medicinei	" " BOLOGA V.
Farmacologie (supl.)	" " BARONI V.
Igienă și medicină preventivă (generală)	Agr. " ZOLOG M.
Clinica boalelor contagioase	Conf. " GAVRILĂ I.

JURIUL DE SUSȚINERE :

PREȘEDINTE: Prof. Dr. V. BOLOGA

MEMBRII :	}	" " EM. ȚEPOSU
		" " T. VASILIU
		" " GH. POPOVICIU
		" " GR. BENETATO
SUPLEANT:		Conf. " T. POPOVICI

SCURTĂ PRIVIRE ASUPRA SIFILISULUI IN GENERAL

Definiția : Sifilisul este o maladie infecțioasă datorită unui micro-organism, intermediar între protozoare și schizomicete și care descoperit de *Schaudinn* sub numele de spirocheta *pallida*, este azi denumită *treponema pallidum*.

Istoric : După concepția actuală se admite existența sifilisului pe continent și înainte de sfârșitul sec. XV, în răspândirea căruia campania lui Carol al VIII-lea făcută cu armata în care se înrolase mulți dintre mateloții lui Columb infectați cu sifilis în insula Haiti, unde boala endemică și pelerinajul popoarelor au contribuit ca factorii cei mai importanți.

Etiologia : Agentul patogen al sifilisului a fost descoperit în anul 3. III 1905 de *Schaudinn și Hoffmann* sub numele de spirocheta palida. Agent confirmat de *Lesser* în ședința Soc. Charité dela 8 IV. 1905 bazat pe observațiile personale și ale altora și în mod experimental de *Metschnikoff și Roux* pe maimuțe și iepuri.

În urmă, o mulțime de autori au reșit să pună în evidență *treponema* în leziuni primare și secundare la sifilisul câștigat și la cel congenital. *Levaditi și Marie* 1920, bazați pe observațiunile clinice referite la paralitici și pe cercetările lor experimentale (inoculări la animale) fac deosebire între două specii de *treponemi*, care au aceleași caractere morfologice.

a) Varietatea dermatropă, ar produce sifilisul cu manifestățiuni cutanate pe lângă evoluție clasică.

b) Varietatea neurotropă ar cauza alterațiunile nervoase care se prezintă la tabetici și paralitici. *Revaut* susține teoria unicistă.

Caractere morfologice : spirocheții sunt niște micro-organisme fine, subțiri cu 8—20 spirale profunde, egale, sub formă de tirbușon având o lungime de 10—15 microni și larg, de o jumătate micron. *Schaudin* a descris la extremitățile acestor micro-organisme un cil terminal datorit alungirii progresive a corpului. *Levaditi* a confirmat existența acestui cil.

Proprietăți biologice: Caracterul esențial al tréponemelor este motilitatea lor, ele fac mișcări vii, rotatorii ca un sfredel dealungul unui ax longitudinal, mișcări de dislocație, mișcări de lateralitate, mișcări serpentine. Spiralele sunt conservate în timpul de reapos și după moarte.

Vitalitatea: Culturile sunt omorite la + 60° și - 16° (Lismayer). Față de antiseptice sunt sensibile (sublimat). După unii înmulțirea se face prin diviziune longitudinală, după alții transversală. Treponemele se pot cultiva pe medii dar destul de dificil, mijloacele întrebunțate sunt în general lichide (ser diluat adăugat de un organ proaspăt) sub parafină.

Patogenia generală a sifilisului: Sifilisul poate fi câștigat și congenital. Infecția la cel câștigat se poate face în două moduri: Directă sau indirectă. În ambele împrejurări infecția putând fi genitală și extragenitală. Pentru a se face o infecție e necesar ca pielea sau mucoasa să fie în contact timp mai îndelungat cu o leziune sifilitică în prezența unei leziuni de continuitate. Când poarta de intrare a infecției nu se poate depista vorbim de sifilis d'emblee.

Pe baza manifestațiilor clinice distingem 3 perioade evolutive în sifilisul câștigat. (*Ricord*).

I. **Perioada primară:** sau a sifilomului primar cu incubarea I-a cuprinsă între 15—30 zile în care timp virusul intrat în piele se aclimatizează, se sporește și apoi trece în circulația limfei. Caracteristic acestei perioade sifilomul primar și scleradenita regională. Urmează incubarea II-a cu scleradenita generalizată, treponemii trecând în limfă și curentul sanghin invadează întreg organismul

II. **Perioada secundară:** începe la 8—12 săptămâni după infecție. Durează 12 săptămâni dela data infecției până la 7 ani. Este o perioadă septicemică a sifilisului. În această perioadă distingem:

a) Epoca precoce caracterizată prin erupțiuni generale.

b) Epoca latenței cu absența leziunilor sifilitice și

c) Epoca recidivelor caracterizată prin leziuni localizate. Leziunile sifilitice în perioada secundară se numesc exanteme sau sifilide tegumentare și enanteme pe organele interne.

III. **Perioada terțiară:** Manifestațiunile clinice în prima fază a acestei perioade se traduc prin sifilide tuberculoase, tuberoase, tubero-ulceroase, tuberoserpiginoase. Această perioadă este caracterizată prin leziuni destructive

(gome). Ea începe după 7 ani dela infecție și durează până la 20 ani. S'a mai descris încă o perioadă Quaternara ce apare dela 15 ani în sus dela data infecției caracterizată prin manifestațiuni nervoase.

Sifilisul congenital: Acesta se deosebește de cel câștigat prin faptul că virusul sifilitic nu se propagă pe căile limfatice și că primul semn al infecțiunii nu este sifilomul primar, ci aparauța manifestațiunilor precoce a sifilisului constituțional, care aci adeseori sunt însoțite și de leziuni terțiare.

Diagnosticul sifilisului câștigat. Diagnosticul clinic, simptomatic și diferențial cu ajutorul metodelor de investigațiune. care ne stau la dispoziție. totdeauna este precizabil. Intre acestea avem: anamneza, examenul clinic, tratamentul de probă, examinările de laborator, metodele biologice (exam. sângelui și lichid. cef. rachidian) examenul istopatologic și inoculările la animale.

Diagnosticul sifilisului congenital: Il facem din întreg cortegiul simptomatic. Vom avea în vedere: datele anamnezice, starea sanitară a mamei, avorturile repetate, R. W. starea generală a copilului și polimorfismul erupțiunilor.



SEROLOGIA SIFILISULUI.

Imposibilitatea practică de a evidenția treponema, fie în accidentele terțiare, fie în umorile vechilor sifilitici, a făcut să se caute alte procedee de diagnostic biologic. De aci au luat naștere, în studiul sifilisului, pe de-o parte reacția de fixare, iar pe de altă parte reacția de flocluație.

Istoric și preliminarii. Se cunoaște principiul reacțiilor de fixare care a fost descoperit de către *Bordet* și *Gengou*.

Dacă se introduce în organism un produs albuminoid (microb, celulă) organismul se apară în contra acestui agent, prin producerea de anticorpi care se răspândesc în sânge, unde, după coagularea acestuia este posibil să se gasească în ser. Acești anti-corpi au față de microbii și celulele care au fost introduse de preferință pe cale subcutanată sau intravenoasă, proprietăți multiple: neutralizare prin adsorbție sau combinație chimică, liză etc.

Această acțiune a anticorpilor față de »antigeni« se produce grație a două substanțe. I. Alexina, descoperită de *Büchner* și care se distruge prin încălzire la 55° și care există în serul sanghin normal. II. Sensibilizatricea lui *Bordet* care este specifică antigenului întrebuițat pentru desvoltarea anticorpilor, astfel că acțiunea distructivă a unui ser față de antigen se petrece ca și cum fixarea alexinei serului normal ar mordansa antigenul, și sensibilizatricea ar veni să completeze acțiunea pregătitoare a acestei alexine, și ar disolva sau distruge antigenul, dacă e vorba de un anticorp destructor.

Astfel de ex. dacă se injectează unui iepure, cum se face pentru R. W. în mai multe reprize, globule roșii de berbec spălate cu ser artificial pentru a le debarasa de serul sanghin, se obține foarte rapid un ser, capabil de a distruge globulele roșii de berbec, și care se cheamă ser de iepure antiberbec. Intr'adevăr, dacă se lasă să cadă o mică cantitate din acest ser antiberbec într'o suspensiune de globule roși normale în ser artificial, se produce dizolvarea globulelor roșii de berbec conținute în tub, și hemoglobina este pusă în libertate, ceea ce se observă ușor prin colorația în roșu, rapidă, totală a serului artificial, după decantare centrifugată. Avem deci, repetăm, un ser hemolitic antiberbec. Dacă se încălzește acest ser hemolitic la 55° se constată că și pierde proprietățile hemolitice, vasăzică nu mai distruge globulele roșii de berbec. Inșă este suficient ca să se adauge la acest ser încălzit o picătură dintr'un ser normal oarecare, luat de exemplu dela un porc de India, pentru a i se reda acestui ser, proprietatea de a distruge globulele roșii. I s'a dat astfel din nou alexina distrusă prin încălzire la 55°.

Bordet și *Gengou* au utilizat această proprietate a fixării sensibilizatricei de către globulele roșii, pentru a pune în evidență într'un ser, prezența anticorpilor microbieni, și prin aceasta existența la un subiect dat, a microbului pentru care reacția de fixare e pozitivă. Această reacție de fixare a lui *Bordet* și *Gengou*, a fost aplicată la febra tifoidă, la tuberculoză, la dizenterie, tuse convulsivă, scarlatină, meningită cerebro-spinală, echinococoză, sporotrichoză, într'un cuvânt la cea mai mare parte a bolilor microbiene.

Wassermann, *Neisser* și *Bruch* au fost aceia care în 1906 au aplicat reacția de fixare la sifilis. Dificultatea de a realiza această reacție de fixare, este că treponema n'a putut fi niciodată cultivată într'o manieră practică și suficientă pentru a obține un antigen. Astfel că acești

autori s'au gândit să întrebuințeze ca antigen un extract dintr'un organ bogat în treponeme, în speță ficatul de făt eredo-sifilitic, în care ultramicroscopul a relevat în prealabil, prezența unui mare număr de treponeme. Deci au întrebuințat extractul alcoolic de ficat de nou născut eredo-sifilitic, și acest antigen este caracteristic pentru R. W. În 1907 *Levaditi* demonstrează, că se poate înlocui ficatul sifilitic prin ficat normal și chiar prin săruri biliare, și plecând din acest moment, s'au întrebuințat succesiv diverse organe: ca, inimă de cobai, sau de cal, sau de bou, și chiar substanțe chimice definite ca; lecitina și colestherina; s'a demonstrat într'adevăr că lipoidele sunt capabile de a servi ca antigeni, adică de a servi la fabricarea de anticorpi, în acelaș titru ca și albuminoidele.

Această lipsă de specificitate a antigenului, pune la îndoială la prima vedere, valoarea reacției Wassermann din punct de vedere diagnostic, însă rezultatele concordante obținute de către clinicieni, au fost așa de demonstrative, încât astăzi valoarea acestei reacții nu se mai contestă. Nu e mai puțin adevărat, că reacția pare a evidenția în serul sifiliticilor, mai ales prezența de lipoizi care nu există la alți bolnavi, și astfel progresiv, la reacția de fixare s'a adăugat un alt mod de a căuta acești lipoizi, *metodele de floclulație*, cari precipită în ser prin mijloace potrivite, și face fenomenul vizibil, fără ca să fie nevoie a lua ca martor un sistem hemolitic, care să demonstreze prin distrugerea globulelor roșii și colorația roșie a lichidului existența complimentului liber în lichid, nefixat de antigenul opus serului suspect de sifilis. Așa că, există astăzi două mari clase de metode biologice de studiu a serului sifiliticilor: *Reacțiile de fixare, și reacțiile de floclulație*.

REAȚIUNILE DE FLOCLULAȚIE.

În reacțiile celui de-al doilea grup, acțiunea antigenului asupra serului sifilitic, poate fi constatată direct, deoarece ea se manifestă printr'o precipitare, sau mai exact printr'o floclulație. De asemenea studiul acestor reacțiuni este cel mai potrivit pentru a ne clarifica asupra naturii fenomenului care stă la baza tuturor reacțiilor serologice din sifilis.

Ce este floclulația? Se poate zice grosso-modo că este precipitarea soluțiilor coloidale. Se știe că soluțiile coloida-

le, spre deosebire de adevăratele soluții, sunt sisteme heterogene, în care o parte din substanța introdusă în excipient, rămâne în stare nedisolvată, sub formă de particule fine, numite micle, invizibile cu ochul liber și dispersate în solvant, rămân în suspensie independent de gravitație și de atracțiunea dintre ele, grație forței repulsive a sarcinilor electrice de acelaș semn cu care sunt încărcate. Dacă printr'o acțiune oarecare, mecanică, chimică, electrică, se modifică această stare de echilibru, micellele se aglomerează, se reunesc în grămezi din ce în ce mai mari și sfârșesc prin a se sedimenta. Această rupere a stării coloidale constituie floculația. Ea poate fi provocată în special, prin amestecul a două coloide încărcate cu electricitate de sens contrar. Dacă de ex. într'o soluție coloidală ale cărei micle sunt electrizate pozitiv se introduce cantități crescânde dintr'un alt coloid electro-negativ, se formează o serie de complexe care diminuează progresiv sarcina electrică a primului coloid, până la neutralizarea completă, corespunzând punctului său izo-electric; dar dacă se adaugă încă, începând dela acest punct cantități noi din cel de al doilea coloid, micellele se încarcă din nou cu electricitate, de astă dată negativă, și reîncep a se dispersa.

Floculația urmează un drum paralel. Ea începe în primul moment al neutralizării, crește până la maximum, care corespunde punctului izo-electric, și e caracterizată prin separarea completă a coloidului de solvant; apoi floculatul se disociază puțin câte puțin, și se formează o nouă soluție coloidală, cu o încărcare electrică de semn contrar celei dela început. Floculația este deci un fenomen periodic, reversibil, producându-se într'o zonă limitată de două potențiale electrice. Ea este de asemenea un fenomen progresiv. Nu se declanșează brusc, ci trece printr'o serie de stadii succesive; mai întâi coagulația și umflarea micellelor, care se manifestă printr'o simplă opacifiere a mediului, apoi formarea de grămezi și de flocoane distincte, și în fine sedimentarea floculatului și clarificarea lichidului solvant. Astfel pare a fi și mecanismul reacțiilor de floculație în sifilis. Diluția în apă sărată a li-poidelor organice (antigen), constituie o suspensie coloidală, care se știe că este încărcată cu electricitate negativă. Cât despre proteinele serului, ele sunt, verosimil, de asemenea în stare de soluție coloidală. Printre aceste proteine, globulinele, care joacă în aceste reacțiuni un rol primordial, suferă de fapt prin infecția sifilitică, o diferențiere

de ordin electro static. În serul normal, globulina foarte dispersată și stabilă este electricizată negativ ca și lipoidele din extract; cărora le ridică punctul izo-electric și le mențin în soluție, cu tot conținutul în ioni (Na. +) a soluției saline: Ea se comportă ca un coloid protector. În serul sifilitic din contra și de aici vine caracterul lor de labilitate bine cunoscut. Globulina e amfoteră, sau chiar ușor pozitivă; în prezența ionilor (Na. +) soluției saline, ea neutralizează micelulele extractului și determină flocația sistemului.

REAȚIUNILE DE FLOCAȚIE A SERULUI SANGHIN.

Există un mare număr de reacții de flocație a serului sifilitic. Principiul tuturor acestor reacții este același; singura diferență dela un procedeu la altul este compoziția exactă a antigenului, al cărui element fundamental este întotdeauna un extract alcoolic de miocard; adică modalitatea diluției, condițiile și durata de contact cu serul, faza în care se observă flocația și aspectul floclatului.

După diferitele moduri de preparare a antigenului necesar reacției, îmbunătățite prin progresele tehnice, se pot clasa reacțiile de flocație în trei mari grupe:

I. În care antigenul este asemănător celui din reacția de fixare a complementului, a lui *Bordet—Wassermann* și din care fac parte:

- a) Reacția lui *Sachs—Georgi* (1918).
- b) Reacția lui *Vernes* (1918).
- c) Reacția lui *Meinicke* (1919).

II. Cu antigen adăugat cu tinctură de rășină:

- a) Reacția de opacifiere a lui *Meinicke* (1922).
- b) Reacția de clarificare a lui *Meinicke* (1929—1922).

III. Cu antigen colesterinat concentrat:

- a) Reacția lui *Kahn* (1928).
- b) Reacția lui *Sachs—Witebsky* (1928—1931).
- c) Reacția lui *Müller* (1925—1932).

Reacția lui Sachs—Georgi: Este prima reacție de flocație care a intrat în practică alături de reacția lui Wassermann. Astăzi însă nu mai este utilizată. Într-adevăr este de o mare specificitate însă nu se poate spune același lucru în ce privește sensibilitatea. În plus este lentă și

lectura rezultatului este delicată. Insuși autorul, i-a adăugat din 1928 o altă reacție, elaborată împreună cu *Witebsky* și care e mult mai sensibilă, mai rapidă, mai ușor de citit, însă mai puțin specifică. În ambele cazuri se întrebuintează ca antigen, extract de cord de bou colesterinat. Pentru a indica diferența de rapiditate dintre cele două reacții, *Sachs* le-a designat, prima sub numele de *Lentochol-reaction*, iar a doua, cea a lui *Sachs—Witebsky*, sub numele de *Citochol-reaktion*.

Reacția lui Vernes. Are avantajul că oferă o tehnică perfectă, pentru prepararea extractului alcoolic și a diluției sale, astfel că, constantele fizice a reacției coloidale, sunt exact determinate și reacțiile sunt întotdeauna comparabile. Lectura se face precis, cu ajutorul unui fotometru special, construit de *Brico și Yvon*; acesta permite de a se evalua prin simpla citire a unei scări gradate, cantitatea de lumină absorbită de un lichid interpus, cu alte cuvinte densitatea optică a aceluși lichid. Compararea densității optice a tubului de reacțiune, cu aceea a unui tub martor dă o măsură foarte precisă a intensității reacției. *Vernes* a construit o serie de instrumente foarte ingenioase, cari facilitează execuția reacției sale și asigură o mare precizie științifică. Inconvenientul acestor metode, este că nu poate fi practică de cât în laboratoare mari și foarte bine înzestrate.

Reacția de opacifiere a lui Meinicke. A fost complet abandonată de către autorul său, în favoarea reacției de clarificare a lui. Mai este încă utilizată în Franța, în câteva laboratoare.

Reacția de clarificare a lui Meinicke. Are foarte mari avantajii asupra precedentei. Este foarte sensibilă, lectura rezultatului este cu mult mai netă și nu dă loc la incertitudini. Incepând din 1929, *Meinicke* a perfecționat-o de mai multe ori. Vom descrie tehnica cea mai recentă.

1. **Prepararea suspensiei coloidale.** Antigenul e un extract alcoolic de cord de bou epuizat în prealabil prin eter, bogat în lipoide, adăugat cu Tinctură de Tolu, și colorat cu albastru Victoria. Lichidul de diluție este apă sărată 3,5%. Pentru reacția completă se prepară două suspensiuni: una apă sărată neutră, și cealaltă cu apă sărată alcalinizată cu carbonat de sodiu anhidru.

Tehnica diluției e aceeași în ambele cazuri. În două tuburi se introduce câte un volum de extract și 10 volume din lichidul de diluție, Se pun la baie-marină la 56° apoi se varsă dintr'odată și se lasă să

se matureze încă exact două minute la baia-marină. Aceste suspensiuni sunt turburi, lăptoase și de culoare albastruie. Alcalinizarea are de scop, să stabilizeze suspensia coloidală și să diminueze sensibilitatea reacției. Suspensia neutră, convine deci serurilor mijlocii sau slab pozitive, pe când suspensia alcalină, convine serurilor intens pozitive.

2. *Executarea reacției*: în ambele cazuri, tehnica e aceeași, dacă se întrebunțează 0,2 cmc. ser suspect pentru reacțiile cu suspensia neutră, și 0,1 cmc. pentru reacțiile cu suspensia alcalină. Un singur tub martor este suficient. Se introduce în acest tub 0,2 cmc. sau 0,1 cmc. de ser proaspăt perfect clar și 0,5 cmc. din suspensia coloidală. Se agită și se lasă să stea. Se poate adăuga la fiecare serie de reacții un tub de control cu suspensie fără ser, în care trebuie întodeauna să se producă o reacție de floculație pozitivă.

3. *Citirea rezultatelor*: a) Citirea precoce la microscop. Încă la începutul reacției, se ia din fiecare tub cu o pipetă capilară, picături cari se așează pe lame port-obiect. Lamele se lasă timp de o oră în camera umedă a lui *Malassez*. Se examinează apoi picăturile la microscop, fără lamelă, cu obiectivul 3. În reacțiile negative câmpul apare gris gălbui uniform punctat de fine granulații regulate. În reacțiile intens pozitive se văd flocoane mari, opace, brune negricioase, unite în grămezi și cari lasă între ele spații clare, negranulate. În reacțiile slab pozitive, flocoanele sunt mai fine, mai puțin opace și spațiile intermediare nu sunt complet clarificate. În fine, în unele cazuri, câmpul este presărat cu granulații inegale și neregulate fără clarificare: acestea sunt reacțiile dubioase. În aceste cazuri, se poate relua examinarea după încă o oră în camera umedă.

b) Citirea cu lupa: Se face după-o oră jumătate, într'o cameră întunecată și ținând tubul aproape orizontal, la mijlocul distanței dintre ochi și o puternică sursă luminoasă electrică, plasată la un metru înaintea și deasupra capului observatorului. Se examinează cu o lupă care mărește de 4 ori. — În reacțiile negative, lichidul e galben-brun, transparent, fără flocoane sau granulații. — În reacțiile intens pozitive, lichidul e alburiu și conține flocoane albastre, compacte, în parte sedimentate. — În reacțiile slab pozitive, lichidul nu e decolorat, și nu conține decât rare și fine flocoane fără tendință la sedimentare. — În cazurile dubioase, lichidul a pierdut o parte din transparență, fără ca să se poată observa o floculație netă.

c) Citirea tardivă prin clarificare: Se face după 16—24 ore prin examen direct la lumina zilei. — In reacțiile negative, lichidul rămâne turbure, ca la începutul reacției. — In cele intens pozitive el e complet decolorat și limpede, iar la fundul tubului se vede un sediment albăstrui. — In cele slab pozitive, lichidul e mai mult sau mai puțin clarificat, dar totuși rămâne opalescent și sedimentul nu e aglomerat — In cazurile dubioase, clarificarea este foarte slabă.

Din aceste procedee, cel mai sensibil și care dă mai puțin loc la confuzii, este examenul microscopic. Proba tardivă de clarificare este mai puțin sensibilă, însă cea mai sigură. Citirea cu lupa e intermediară și poate fi neglițată.

Reacția Kahn poate fi considerată ca metoda tip a reacțiilor de flocluație și chiar a reacțiilor fundamentale în sifilis. Si nu numai pentru că e foarte sensibilă și specifică, ci mai ales fiindcă e rapidă, dă rezultate foarte nete și tehnica ei e de o mare simplitate.

Ea comportă două variații, care nu diferă decât prin compoziția antigenului: *Reacția Standard*, care e metoda clasică și *reacția prezumtivă* și mai sensibilă dar mai puțin specifică. Se aplică atât serului sanghin, cât și lichidului cefalo-rahidian și sunt două procedee: unul simplu calitativ, iar celălalt cantitativ.

Materialul necesar. Aparatura specială. Tubul cu fundul rotund de 7,5 pe un cm., tubul cu fundul plat de 5,5 x 1,5 cm. pipete gradate, de precizie, suporturi speciale pentru tuburi, aparat de agitaț.

Reactivi: Antigenul sau mai precis reactivul precipitant e un extract alcoolic $\frac{1}{5}$ de pulbere de cord de bou epuizat prin eter și în care se disolvă 0,6 gr. colesterină la 100 cm. Acest extract se titrează pentru a se determina exact proporția în care trebuie diluat cu apă sărată fiziologică. Pentru prepararea suspensiei coloidale-serul bolnavului trebuie să fie perfect clar și debarasat, la nevoie prin centrifugare nu numai de globulele roșii ci și de orice particulă figurată. Prin inactivare se augmentează sensibilitatea reacției; se încălzește deci serul timp de $\frac{1}{2}$ oră la 56°. Apă sărată: soluție de CNa chimicește pură; 0,9 la 100 cmc. apă distilată.

Reacția calitativă a serului sanghin. Sunt necesare 3 tuburi pentru fiecare reacție, conținând doze descrescânde de antigen. Se plasează pe suport unul inapoia altuia. Prepararea suspensiei coloidale: Se amestecă extractul alcoolic cu apă sărată, după proporțiile determinate

prin titrare și care în mod obișnuit sunt 1 cmc. pentru 1,1 cmc. Suspensia se agită pentru a se omogeniza și se repartizează cu pipeta în toate tuburile din primul rând al suportului, câte 0,05 cmc. în cele din rândul al doilea câte 0,025 cmc. iar în rândul al treilea câte 0,0125 cmc. Serul se repartizează imediat după repartizarea antigenului, pentru a se evita evaporarea acestuia, în doze de 0,15 cmc. în fiecare tub. Proporțiile de ser și antigen vor fi deci în primul rând de tuburi $\frac{1}{3}$, în al doilea $\frac{1}{6}$ și în al treilea $\frac{1}{12}$. Intreg suportul cu tuburi se pune la aparatul de agitat pentru 3 minute. În fiecare serie de reacție se așează pentru control câte un tub care conține cantitatea corespunzătoare de antigen plus apă sărată. În fiecare tub se adaugă încă puțină apă fiziologică pentru a se dilua flocculatul. Lectura se face imediat cu ochiul liber sau preferabil înclinând tuburile deasupra unei oglinzi concave, care le mărește ușor imaginea. Tuburile pozitive conțin numeroase granulații refringente perfect distincte în timp ce tuburile negative sunt complet limpezi. După abundența, mărimea și precizia delimitării granulelor din fiecare din cele trei tuburi, se deduce gradul de intensitate al reacției și se face media celor trei rezultate.

Reacția Müller: Aici flocculatul are un aspect particular: nu e un precipitat mai mult sau mai puțin dispersat, ci e un gonglomerat unic un fel de balon gelatinos care umple lumenul tubului de reacție și care înoată la jumătatea coloanei de lichid.

La conferința din Montevideo proporția rezultatelor obținute cu serurile sifilitice au fost:

Kahn prezumativ.....	75,6%
Müller	69,3%
Kahn Standard.....	63,9%
Meinicke (M. K. R. II) ...	62,2%

Rezultatele nespecifice obținute prin reacțiile de mai sus cu serul de control:

Kahn prezumativ	1%
Müller	0,7%
Meinicke (M. K. R. II.).....	2,4%

Dacă principiul acestor reacțiuni este de remarcabilă simplitate, în schimb execuția lor este dificilă; ele necesită precauțiuni minuțioase și nu trebuiesc încredințate decât serologilor experimentați.

Prepararea și titrarea antigenilor sunt foarte delicate și depășesc în general capacitățile laboratoarelor particulare. Nu trebuie să întrebuițăm decât antigeni originali.

controlați de către autorii reacțiilor și vânduți cu autorizația lor. După compoziția extractului toată valoarea rezultatului depinde într'adevăr de starea fizică a suspensiei coloidale și de condițiile contactului său cu serul suspect. Prepararea acestei suspensiuni este deci un timp esențial reacțiilor.

Cea mai mică eroare tehnică falsifică rezultatele și trebuie știut că metodele de floculație sunt din acest punct de vedere mult mai puțin tolerante decât reacțiile de fixarea complementului, deci nici un detaliu nu poate fi neglijat. Sticlăria întrebuițată va fi de o curățenie perfectă, spălată cu apă clorhidrică, apoi clătită cu apă distilată și uscată ; se va supraveghea neutralitatea apei distilate și puritatea produselor chimice. Orice necurățenie, orice variație a acidității ionice, modifică echilibrul soluțiilor coloidale.



CONCLUZII

I. Reacțiunile serologice ale sifilisului nu sunt decât expresiunea unui dezechilibru fizico-chimic a umorilor, dezechilibru care apare ca un simptom aproape constant infecției sifilitice însă care în acelaș timp nu are cu el o legătură exclusivă.

II. Aceste reacțiuni trebuiesc astfel aranjate ca starea de echilibru stabilită între diferiții lor constituanți, să fie destul de stabilă pentru a nu se lăsa distrusă la cea mai mică perturbare a serului suspect.

III. Ele țin de faptul că antigenii întrebuințați pentru depistarea sifilisului sunt în acelaș timp reactivi precipitanți ai globulinelor, proprietate care depinde de echilibrul compușilor lor lipoidici și de starea lor tizică, de dispersiunea coloidală.

IV. Sensibilitatea reacțiunilor este oarecum insuficientă, sensibilitate ce nu poate fi mărită din cauza imposibilității tehnice actuale cât și prin aceea că mărirind sensibilitatea, s'ar face în detrimentul specificității lor.

V. Specificitatea este pur empirică, în practică, această specificitate este totdeauna suficientă.

VI. Deoarece reacția Kahn este ușor de executat și este foarte sensibilă, rămâne până în prezent reacția fundamentală.

VII. Deci vom avea :

reacțiuni principale : Kahn Standard,

„ de control : Meinicke M. K. R. II.

„ de prezumție : Kahn prezumtiv.

„ cantitative : Vernes.

VIII. Cu toate progresele realizate în acești ultimi ani prin serologia sifilisului, totuși suntem departe de a atinge perfecțiunea.

Văzută și bună de imprimat :

Decanul Fac. de Medicină
ss. **Prof. Dr. I. Drăgoiu**

Președintele tezei :
ss. **Prof Dr. V. Bologa**

BIBLIOGRAFIE.

BORDET : Traité de l'immunité dans les maladies infectieuses. Paris, Masson 1920.

DEMANCHE R. : Précis de technique du sero-diagnostique de la sifilis. 1936 pag. 129.

DEMANCHE R. : Siphilis.

LENGYEL N. : Sifilisul extra-genital. Cluj, Med. 1925 Nr. 1—2.

MILIAN : Revue franc. de dermat et de venerologie. 1925.

TĂTARU C. : Starea actuală a patologiei și terapiei sifilisului. Clujul Med. 1921. Nr. 10.

