

## CONTRIBUCIO A L'ESTUDI DE LA SERO-FLOCULACIO DEL PALUDISME

(REACCIÓ D'HENRY)

pels Drs. PAU CARTAÑA CASTELLA i JOSEP TORREDEME MOLINE

El fet de que en alguns casos de paludisme es fa difícil i àdhuc impossible la troballa de l'hematozoari en la sang perifèrica, havia portat als investigadors a cercar, ja de temps, en el sèrum dels malalts palúdics alguna propietat característica utilitzable pel diagnòstic.

En aquest sentit segurament anaven encaminats els treballs de "Lo Monico et Panichi" sobre aglutinació dels hematies d'individu sa o palúdic pel sèrum de malalt palúdic; Abrami et Senevet estudiant en 1917 el fenòmen de la schizontolisis; però sobretot els més importants foren els treballs sobre la reacció de fixació del complement que en aquell mateix temps donaren lloc a laborioses i pacients investigacions. Les substàncies emprades com a Antígens, foren diferents segons els autors i segons els resultats que obtenien, així Gordon Thomson es serví d'un antígen preparat amb cultius de 24/48 hores, rentats amb aigua destilada després de centrifugació per a fer desaparèixer l'hemoglobina i tractats per la sosa decinormal i neutralitzats amb àcid clorhídric. El mateix autor va emprar després un extracte de melsa palúdica.

Horowitz Vlassova utilitzà placentes de palúdiques riques en paràsits, Savtchenko i Boronoff utilitzaren fetge de palúdic. De Blasi emprava sang rica en paràsits.

Els resultats no foren, sembla, definitius, i les grans dificultats, a voltes insuperables que les tals tècniques significaven, pel fet de la impossibilitat en procurar-se aquells antígens, obstaculitzaren els treballs d'aquells investigadors dignes de tota lloança.

Així les coses, en el "Congrès pour l'avancement des Scien-

ces" de Constantina, l'Abril de 1927, presentà el Dr. X. Henry (Chef del Laboratori Departamental de Constantina) una comunicació sobre un nou procediment d'examen serològic de la infecció palúdica basat en el principi següent: Així com coneixem els antígens vinguts de l'exterior o exoantígens i convenim en què desperten, en entrar en un organisme, la formació d'anticossos específics, així diu, hi ha una altra sèrie d'antígens que gràcies a diversos processos infectius, o d'altres, són nascuts dintre de l'organisme mateix, i que per aquest fet ell anomena endògens, que donen lloc a la vegada als seus anticossos específics, endògens que en el cas del paludisme estan constituïts pel pigment melànic i el pigment ocre.

La reacció d'Henry consisteix en objectivar mitjançant una reacció de floculació la presència d'aquest endògen i de l'anti-endògen.

En aquest sentit i en conseqüència, les substàncies a emprar com antígens (endògens) deurien ésser els pigments melànics i ocre formats en l'interior de l'organisme paluditzat, però donada la dificultat o impossibilitat de procurar-se'ls, l'autor va procurar substituir-los per substàncies d'una composició química el més pròxima possible, o sigui el que ell anomena antígens homòlegs o de substitució.

Passant per alt totes les substàncies i els tantejos que l'autor va fer amb cadascuna, resumiren dient que en substitució del pigment ocre s'emplea un albuminat de ferro i un Metilarsinat de ferro, i en lloc del pigment melànic una melanina extreta de la coroides de l'ull del bou.

Tenim, doncs, tres antígens; el Metilarsinat de ferro, un albuminat de ferro i la melanina. Els dos primers constitueixen en la tècnica la ferro-floculació, i la tercera la melano-floculació.

El Metilarsinat s'emplea tal com l'epedeix la casa Bouty (Mètharfer Bouty) portant la dilució al 1 per 450.

L'Albuminat s'obté, segons tècnica que no detallem en raó a la brevetat, partint de l'Albuminat Merk, portant la designació "ferrum albuminatum in la mellis".

La Melanina s'obté, com hem dit, de la coroides de l'ull del bou de la manera següent: Ulls de bou recent morts, eliminació del cristalli, rascar la coroides, recollir líquid gelatinós i melanina; mesclar bé, afegir al macma dues vegades el seu volum d'aigua destilada, triturar bé amb la mà aseptitzada, afegir formol al 1 x 200, (per la conservació), esperar 10 minuts, filtrar sobre cotó de vidre, el filtrat negreenc és finalment centrifugat

8 minuts a quatre mil voltes, el líquid negrenc que sobrenada  s recollit en recipients estèrils i conservat a la glacera.

DISPOSITIU DE LA REACCIÓ

Dues reaccions, una ferro-floculació (Metharfer i albuminat i una melano-floculació (Melanina). Sis tubs en cada reacció, de la manera com detallem en els quadres adjunts:

| I. FERRO-FLOCULACIO                                            |                             |       |       |           |                         |           |
|----------------------------------------------------------------|-----------------------------|-------|-------|-----------|-------------------------|-----------|
| REACTIUS<br>(Quantitats en dècimes de cc.)                     | Reacció en aigua destil ada |       |       |           | Reacció en aigua salada |           |
|                                                                | Tubs reacció                |       |       | Testimoni | Reacció                 | Testimoni |
|                                                                | N.  1                       | N.  2 | N.  3 | N.  4     | N.  5                   | N.  6     |
| Sèrum . . . . .                                                | 2                           | 2     | 2     | 2         | 2                       | 2         |
| Metharfer a 1/450 en aigua destil ada . . . . .                | 10                          |       |       |           |                         |           |
| Albuminat de ferro a 1/4800 . . . . .                          |                             | 10    |       |           |                         |           |
| Albuminat de ferro a 1/6000 . . . . .                          |                             |       | 10    |           |                         |           |
| Aigua destil ada . . . . .                                     |                             |       |       | 10        |                         |           |
| Albuminat de ferro a 1/4800 en aigua salada a 1/1000 . . . . . |                             |       |       |           | 10                      |           |
| Aigua salada a 1/1000 . . . . .                                |                             |       |       |           |                         | 10        |
| II. MELANO-FLOCULACIO                                          |                             |       |       |           |                         |           |
| Sèrum . . . . .                                                | 0'2                         | 0'2   | 0'3   | 0'2       | 0'2                     | 0'2       |
| Melanina dilució A . . . . .                                   | 1                           |       |       |           |                         |           |
| Melanina dilució B . . . . .                                   |                             | 2     |       |           |                         |           |
| Melanina dilució B . . . . .                                   |                             |       | 0'9   |           |                         |           |
| Aigua bidestil ada (testimoni) . . . . .                       |                             |       |       | 1         |                         |           |
| Melanina dilució A . . . . .                                   |                             |       |       |           | 1                       |           |
| Aigua salada a 3'5 p. 1000 (testimoni) . . . . .               |                             |       |       |           |                         | 1         |

La dilució dels antígens a emprar es fa amb aigua destil ada els uns, i amb aigua salada els altres, aix   s que cada reacció

té els quatre primers tubs diluïts amb aigua destilada, i els altres dos amb aigua salada. El fet de què alguns sèrums flocculen espontàniament en aigua destilada sola, obliga a aquesta tècnica, ja que l'auto flocculaci  no es dóna en els tubs contenint les dilucions en aigua salada. En el cas d'auto flocculaci  en aigua destilada, donen el diagnòstic els dos tubs darrers amb aigua salada, d'altra manera quan hi ha hagut auto-flocculaci  en el tub 4, no es té compte per a res dels 4 primers tubs i es fa la lectura cuidadosa dels dos darrers tubs amb aigua salada.

La mateixa observació quant a la melano-reacció.

Agitar. Una hora i mitja d'estufa a 37, mitja hora de temperatura de laboratori abans de la lectura per a la ferro-flocculaci .

Dues hores quaranta cinc minuts d'estufa i quinze minuts a la temperatura del laboratori per a la melano-reacció.

La flocculaci  indicant la positivitat apareix en alguns casos al cap de 20 o 30 minuts en forma de volves, m s voluminoses en el Metharfer i més fines en l'albuminat.

La lectura es fa a simple vista, a la lupa o al aglutinosc pic.

Henry i d'altres han empleat el fotometre de Vernes. No donem detalls d'aquesta tècnica, sens dubte superior a la nostra, per no tenir-ne encara una casuística pròpia.

Hem practicat la reacció d'Henry en 126 malalts. Com en alguns d'ells s'ha repetit v ries vegades aquesta reacció, el nombre de sèrums examinats ha estat de 137, donant un total de 137 ferro-flocculacions i 122 melano-flocculacions.

La tècnica emprada ha estat la ferro i melano-flocculaci  segons les publicacions i indicacions que han tingut a bé donar-nos l'autor de la reacció Dr. Henry i el professor Le Bourdell s.

A excepció de 15 sèrums en els quals s'ha practicat solament la ferro-reacció, en tots els dem s s'ha practicat la ferro i la melano-reacció. De 126 malalts examinats, 96 corresponien a aquells que tenien antecedents palúdics positius i paludisme en evolució, a subjectes sans amb antecedents palúdics antics i a subjectes amb antecedents palúdics recients, tots ells habitant en zona intensament palúdica. Els altres 30 han estat en individus sense antecedents palúdics de cap mena, habitants d'una comarca no palúdica, situada a 100 kil metres d'aquesta. La reacció ha estat en tots ells, negativa.

*Grup I*

Malalts amb antecedents palúdics positius i paludisme en evolució (Paràsits en sang perifèrica).

Nombre d'examinats..... 36.

La reacció ha estat netament positiva en 35 i negativa en un sol (Si bé en aquest no es va fer només que la ferro-floculació).

*Grup II*

Malalts amb melsa palpable.

Nombre de malalts examians ..... 6

Quatre d'ells amb paràsits en sang perifèrica.

Dos d'ells sense paràsits en sang perifèrica.

Els quatre primers han donat reacció netament positiva, els dos restants han estat l'un negatiu i l'altre lleugerament positiu.

En dos malalts del grup I hem practicat la reacció en sang extreta durant l'accés i després d'ell. En un cas la reacció ha estat abolida durant l'accés i fortament positiva després d'ell. En l'altre no s'ha vist diferència grossa.

*Grup III*

Malalts amb antecedents palúdics llunyans, quines manifestacions palúdiques havien tingut lloc feia anys, (de 3 a 23 anys o més de la data actual) sense esplenomegàlia i amb bon estat de salut.

Casos observats ..... 30

22 han donat reacció negativa, però els altres 8 han donat una reacció marcadament positiva, amb tot i haver passat de 10 a 20 anys i més des de la seva última manifestació clínica palúdica. Aquests 8 malalts són els que tenien antecedents palúdics més marcats.

*Grup IV*

Malalts amb antecedents palúdics positius, sense esplenomegàlia, sense paràsits en sang perifèrica i amb bon estat de salut. (Les mateixes condicions que els del grup anterior). Però quins antecedents eren més recents (D'alguns mesos a 3 anys).

Nombre de casos observats..... 31

Vint d'ells positius i onze amb reacció negativa.

Un nombre major de positius, doncs, en aquest últim grup.

*Grup V*

Casos de paludisme provocat amb fi terapèutic (Malarioterà-

pia). Devem a l'Institut Pere Mata, de Reus, l'haver pogut estudiar 7 casos en aquestes condicions. En quatre d'ells hem practicat la reacció des del primer acc  i hem continuat practicant-la en els següents a l'objecte de veure en quin moment apareixia la reacció positiva en aquests sèrums i la marxa que seguia en ells. La inoculació ha estat feta per via intramuscular, sang de malalt amb plasm dium vivax.

*Malalt n.  1.* Incubació 7 dies. La reacció fou marcadament positiva després del segon acc  i continu  sient-ho després del tercer acc .

*Malalt n.  2.* Incubació de 16 dies. La reacció fou lleugerament positiva després del primer acc , forta després del segon i molt més forta després del tercer, continuant aix  després del 4, 6 y 7.

*Malalt n.  3.* Incubació de 19 dies. Marcadament positiva després del primer acc  i augmentat en intensitat després del segon i tercer acc .

*Malalt n.  4.* Incubació de 19 dies. Positiva netament després del primer acc  i augmentant en intensitat després del segon.

Els altres 3 malalts paluditzats amb el mateix fi, havent tingut 17, 15 i 15 accesos respectivament, hem practicat la reacció després de 3 mesos d'acabat el tractament intensiu. La relació ha estat positiva, però no tant marcada com en els quatre primers.

Aquest mateix fet s'observ  en un altre malalt al qual, practicada la reacció per segona vegada, després de dos mesos de tractament, don  un resultat positiu molt més dèbil.

#### RESULTATS COMPARATIUS ENTRE ELS TRES TIPUS DE REACCIÓ

##### (METHARFER, ALBUMINAT I MELANINA)

En 32 sèrums la reacció a la Melanina s'ha mostrat més intensa, més prompte i més sensible, que en Metharfer i Albuminat.

En 7 casos la reacció a la Melanina, ha estat superior al Metharfer, però igual a l'Albuminat.

En 7 casos s'ha mostrat més intensa la reacció amb l'Albuminat.

En 3 casos s'ha mostrat més intensa amb el Metharfer que amb l'Albuminat, però no superior a la Melanina.

Concretant, doncs, la reacció a la Melanina s'ha mostrat més intensa, precoç, divent, per tant, ésser preferida als altres dos antígens.

## CONCLUSIONS

a) La reacció d'Henry és una reacció de floculació basada en el principi dels *endògens*.

b) Comporta una doble reacció amb tres antígens homòlegs o de substitució, el Metharfer i l'Albuminat de ferro constitueixen la ferro-floculació i la Melanina, dóna lloc a la melano-floculació.

c) La reacció es mostra específica en quant al paludisme.

d) Té un gran valor en el paludisme visceral sense hemozoaris en la sang perifèrica i amb sintomatologia t pica. En els casos deguts a *Plasmodium falciparum* (entre els quals es donen més freqüentment aquestes condicions esmentades) la reacció és indispensable.

La reacció no és sols positiva en els casos t pics d'evolució normal amb paràsits a la sang perifèrica, sinó que ho és també en tots aquells casos sense paràsits en sang perifèrica i amb un quadre clínic d'afecció visceral completament diferent i distant del paludisme t pic. Es aquest sens dubte el més gran valor de la sero-floculació d'Henry, sobre tot en països en els quals la forma laver nia abunda donant freqüentment formes de paludisme larvat i aquests s ptomes viscerals. Cal recordar que el *Plasmodium falciparum*  s més de la sang visceral que de la sang perifèrica.

Hem tingut ocasió d'estudiar dos casos de paludisme larvat (publicats en el Butlletí de l'Institut d'Higiene de Reus), l'un amb s ptomes a càrrec del sistema nerviós central, l'altre amb un s ndroma hepàtic, que no feren pensar en paludisme sense l'esmentada reacció. Recentment en el passat Congr s internacional de paludisme celebrat a Alger, el Dr. Bonnet present  una comunicació titulada: "Alguns casos de trastorns nerviosos d'origen palustre, Utilitat diagn stica de la reacció d'Henry".

Després d'aquests fets podem dir amb l'autor que el seu mètode contribueix justament a precisar els dominis del paludisme visceral crònic.

e) Que el tractament influencia de tal manera la reacció que aquesta pot servir de control d'aquell. Desapareix la reacció després d'un tractament ben instit it, però resta positiva si el tractament és mal seguit, augmentant d'intensitat abans d'una recidiva.

Apart de la noció biol gica dels *endògens*, considerem que aquesta reacció té la gran importància pr ctica dels fets anome-

nats. La nostra casuística concorda amb les lleis enumerades per l'autor d'aquesta reacció.

f) Amb una tècnica reduïda tal com la micro-reacció que ha descrit recentment l'autor, adquireix un valor epidemiològic, puix que pot fer-se en país atacat un índex serològic (al costat de l'índex esplènic i plasmòdic).

g) Interès biològic baix el punt de vista del principi dels endògens i de la patogènia del paludisme.