UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

TÉCNICA DE INVESTIGACIONES

SOBRE

LA SANGRE

TESIS

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

JULIO R. GARINO

QUÍMICO DE 1ª CLASE EN LA OFICINA QUÍMICA NACIONAL
EX-PRACTICANTE DEL HOSPITAL SAN ROQUE

BUENOS AIRES
TIPO-LITOGRAFIA DE A. PRINA – CORRIENTES 1790
1900

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

TÉCNICA DE INVESTIGACIONES

SOBRE

LA SANGRE

TESIS

PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR EN MEDICINA

POR

JULIO R. GARINO

QUÍMICO DE 1ª CLASE EN LA OFICINA QUÍMICA NACIONAL
EX-PRACTICANTE DEL HOSPITAL SAN ROQUE

BUENOS AIRES
TIPO-LITOGRAFIA DE A. PRINA - CORRIENTES 1790
1900

La Facultad no se hace solidaria de las opiniones manifestadas en las tesis.

(Art. 162 del Reglamento).

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

Decano

Doctor D. Enrique E. del Arca

Vicedecano

Doctor D. José T. Baca

Académicos titulares

Doctor D. Leopoldo Montes de Oca
» » José T. Baca
» » Rafael Herrera Vegas
» » Jacob de Tezanos Pinto
» » Eufemio Uballes
» » Juan R. Fernàndez
» » Enrique E. del Arca
» » Pedro N. Arata
» » Manuel Blancas
» » Roberto Wernicke
» » Pedro Lagleize
» » José Penna
» » Luis Güemes
» » Eliseo Cantòn
» » Gregorio N. Chaves

Académicos Honorarios

Doctor D. Ernesto Aberg
» » Pablo Marengo
» » Eduardo Wilde
« » Martin Spuch
» » Telémaco Susini
» » Edmundo Nocard
» » Emilio R. Coni

Secretario Titular

Doctor D. Luis M. Acuña

Prosecretario

Doctor D. Zenón Aguilar

ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas		Catedráticos Titulares
Anatomia descriptiva	Doctor	Juan José Naon.
Anatomia topográfica	»	Juvencio Z. Arce.
Histologia teórico práctica	»	Rodolfo de Gainza.
Fisiologia general y humana	»	Pedro J. Coronado
Patología general y ejercicios clinicos.	»	Roberto Wernicke.
Materia Médica y Terapeutica	»	Justiniano Ledesma.
Higiene pública y privada	»	Melitón Gonzalez del Solar.
Patología externa	»	Obdulio Hernandez.
Patología interna	»	José Penna.
Anatomia patológica	»	Telémaco Susini.
Bacteriología	»	Cárlos Malbrán.
Medicina operatoria	»	Adalberto Ramaugé
Enfermedades de mujeres y su Clínica.	»	Enrique Bazterrica.
Enfermedades de niños y su Clinica	»	Manuel Blancas.
Enfermedades de los ojos y su Clinica	»	Pedro Lagleyze.
Enfermedades nerviosas y su Clinica	»	José M. Ramos Mejia.
Enfermedades mentales y su Clinica	»	Domingo Cabred.
Enfermedades Génito urinarias	»	Federico Texo
Enfermedades venéreas y dérmatologia	»	Baldomero Sommer
Clinica Quirúrgica	»	Julian Aguilar. Antonio C. Gandolfo. Alejandro Castro Gregorio N. Chaves
Clínica Médica	»	Abel Ayerza Luis Güemes. Francisco Sicardi.
Laringologia, otologia rinologia	»	Eduardo Obejero
Obstetricia y Clinica respectiva	»	Samuel A. Molina.
Medicina legal	»	Francisco de Veyga
Toxicologia	»	Juan B. Señorans.
Química aplicada á la Medicina	»	Pedro N. Arata.
Fisica médica	»	Jaime R. Costa.
Zoologia médica	»	Eliseo Canton.
Botánica médica	»	Martin Spuch
Botánica farmacéutica	»	Adolfo Mujica.
Quimica analitica	»	Atanasio Quiroga
Farmacia teórica	»	Juan A. Boeri.
Farmacia práctica	»	J. Manuel Irizar.
Obstetricia para alumnas parteras	»	Juan R. Fernandez.
Odontologia	»	Nicasio Etchepareborda
Dentisteria operatoria	»	León Pereiro

ESCUELA DE MEDICINA

Asignaturas		Catedráticos Sustitutos
Anatomia descriptiva	Doctor	(Juan D. Piñero (Joaquin López Figueroa
Anatomia topográfica	»	Avelino Gutierrez
Histologia teorico-práctica.	»	Samuel De Madrid
Fisiologia general y humana	»	Horacio G. Piñero
Patalogia general y ejercicios clinicos.	»	Gregorio Araoz Alfaro
Materia Médica y Terapéutica	»	Enrique E. del Arca Angel M. Centeno
Higiene pública y privada	»	Enrique Revilla Ricardo Schatz
Patologia externa.	»	(Pascual Palma (Daniel J. Cranwell
Patologia interna	»	Marcial V. Quiroga
Anatomia patológica	»	José Badia
Medicina operatoria.	»	(Nicolás Repetto (Alfonso Masi
Enfermedades de mujeres y su Clinica	»	(Alfredo Lagarde (José F. Molinari, en ejercicio
Enfermedades de niños y su clinica . .	«	(Antonio F. Piñero (Facundo Larguia
Enfermedades de los ojos y su Clinica	»	Francisco Barraza Teófilo A. Moret
Enfermedades nerviosas y su Clinica. .	»	(José A Esteves (José R. Semprum
Enfermedades mentales y su Clínica . .	»	Benjamin T. Solari
Enfermedades génito-urinarias	»	Pedro Benedit
Enfermedades venéreas y dermatologia	»	Maximiliano Aberastury, en ejercício
Clinica Quirúrgica	»	Juan B. Justo Diógenes Decoud Alejandro Posadas en ejercicio
Clínica médica.	»	Julio Mendez Ignacio Allende Patricio Fleming Ricardo Colón
Laringología, ontología, rinología. . . .	»	(Wenceslao Tello (Eliseo V. Segura
Obstetricia y Clínica respectiva	»	(Luis F. Vila (Fanor Velarde
Medicina legal.	»	(Domingo S. Cavia (.....
Toxicologia.	»	Juan A. Carreras, en ejercicio
Química aplicada á la Medicina	»	Francisco P. Lavalle
Fisica médica	»	Juan J. Galiano
Zoologia médica.	»	Vacante
Botánica médica	»	Lucio Durañona, en ejercicio
Botánica farmacéutica.	»	Roberto S. Kolbe
Quimica analitica	»	Francisco B. Reyes
Farmacia teórica	Señor	Juan A. Dominguez, en ejercicio
Farmacia práctica	»	Miguel Puiggari
Obstetricia para alumnas parteras. . . .	»	Vacante
Odontología.	»	Vacante
Dentisteria operatoria..	»	Vacante

Á LA MEMORIA DE MI PADRE.

Á MI MADRE.

Á LOS MIOS.

PADRINO DE TESIS

Dr. Roberto Wernicke

Señores Académicos:

Señores Profesores:

Los estudios hematológicos han sido incorporados á la clínica en estos últimos tiempos, y están destinados á ser un auxiliar muy eficaz para el diagnóstico y pronóstico de muchas enfermedades, desde que no es aventurado afirmar que todo estado morboso se acompaña de una alteración de los elementos de la sangre.

Las dificultades con que se tropieza para evidenciar esas alteraciones derivan del imperfecto conocimiento que aún tenemos de la naturaleza íntima de esos elementos; de tal modo que mientras su histogénesis, composición química, función, etc., nos sea como hasta aquí, parcialmente conocida, será imposible proceder con el rigor científico que fuera de desear para estudios tan importantes.

Las observaciones hechas hasta ahora son numerosas, pero no por eso más concluyentes. Quizás debido á la falta de unidad en los métodos, poco apropiados algunos, y á defectos de técnica, asoman á cada paso las contradicciones.

Esta razón me ha decidido á reducir el trabajo que tengo el honor de presentar, dentro de los lí-

mites de una recopilación de los métodos más empleados para investigar la Densidad, Reacción, Glóbulos rojos, Hemoglobina y Leucocitos, teniendo en cuenta para su elección, la facilidad de la técnica y su mayor exactitud. He completado estos datos con algunas observaciones que me ha sugerido el estudio, agregando, al final de cada procedimiento, consideraciones referentes á la cantidad normal de los elementos dosados, y sobre algunas alteraciones patológicas cuyo conocimiento presenta utilidad.

Al dar cima á este trabajo, en el que pretendo condensar una parte de la enseñanza que me ha sido trasmitida, únicamente me ha guiado como móvil la idea de ser útil á los que no dedicados especialmente entre nosotros á estos estudios, tropiezan con serias dificultades por la diversidad de fuentes á que deben recurrir en la ausencia de una guía que facilite su tarea.

I

DENSIDAD — ***Métodos para determinarla:*** *Roy-Devoto, Landois, Hammerschlag—Densidad normal y algunas variaciones patológicas.*

REACCIÓN—***Métodos para dosar la alcalinidad:*** *Landois-Jaksch-Löwy-Zuntz, B. S. Engel.—Valor práctico de las determinaciones alcalimétricas en la sangre.*

Densidad—Método Roy-Devoto.

Se prepara en varias probetas de 50 cm^3 de capacidad, soluciones de densidades progresivamente ascendentes desde 1040 á 1070, que se obtienen mezclando, por ejemplo, 30 cm^3 de agua destilada con cantidades distintas de glicerina, y tomando la densidad con un areómetro. Sobre cada una de estas soluciones, se echa con un tubo capilar encorvado en ángulo recto, una gota de sangre obtenida por punción de un dedo. La densidad de la sangre será la misma que aquella de la probeta, en la cual la gota se mantiene inmóvil á

cierta altura del líquido, mientras que se irá al fondo ó á la superficie según que su densidad sea mayor ó menor respectivamente.

Método de Landois—Se opera como en el método anterior, pero las soluciones son de aceite en cloroformo.

Método de Hammerschlag.—En este procedimiento se suprimen las soluciones prévias; por consiguiente se simplifica aún más la técnica, y, por otra parte, los resultados como en los anteriores, si bien no son del todo exactos, dan cifras útiles para la clínica. La determinación se hace del modo siguiente: se mezcla en una probeta, cloroformo y benzol, y se deja caer sobre ella con una pipeta, una gota de sangre. Según que ésta tenga tendencia á subir á la superficie del líquido, ó á irse al fondo, se agregará cloroformo ó benzol, hasta conseguir que quede en equilibrio. La densidad de la mezcla tomada con un densímetro, dará la de la sangre en exámen.

Como se vé, todos estos métodos están basados en el principio físico sencillo, de que un cuerpo suspendido en un líquido, se mantiene en equilibrio á cierta distancia de la superficie cuando su peso específico es igual al del líquido.

Los métodos descritos son los que se usan en las clínicas, y no insisto sobre los llamados picnométricos, los cuales aunque muy exactos, se reservan generalmente para investigaciones de laboratorio, porque requieren un aparato muy delicado

(picnómetro capilar), de no fácil manejo, y además una balanza de precisión.

El método de elección es el de Hammerschlag.

Densidad normal. — En condiciones normales la densidad de la sangre varía con la edad: es de 1050 á 1066 en el niño, en los primeros días de la vida; y oscila despues al rededor de 1052, yendo en aumento lentamente, para alcanzar en la pubertad á 1055, y á 1058 y 59 en el adulto. Decrece luego en la vejez.

En la pubertad la densidad es menor en la mujer, y esta disminución se acentúa temporariamente durante la menstruación.

La densidad de la sangre tambien varía en los distintos órganos y partes del cuerpo, pero es la misma para los puntos simétricos.

Variaciones patológicas.—La densidad disminuye en la diabetes, en las enfermedades que pueden producir el estado de caquexia (tísis, sífilis, cáncer, saturnismo, cirrosis, diarreas crónicas, etc.)—En la nefritis parenquimatosa, la densidad baja, pero si hay lesiones del miocardio con cianosis, se eleva. (Devoto). En las afecciones cardiacas con sub-asfixia, es elevada, debido quizá á la hiperglobulia que se observa en estos casos (Fano), y tambien á la dificil reabsorción intersticial é intestinal del agua, por efecto de la hipertensión venosa (Lépine).

En la clorosis, según Lloyd Jones, la densidad disminuye, y en los 86 casos estudiados por él, ha encontrado cantidades variables desde 1032 á la

normal. Cree además que las disminuciones sean debidas principalmente á la cantidad de hemoglobina, y sostiene que la densidad es un signo de la mayor importancia para determinar la gravedad de la clorosis. El mismo significado tendría en la anemia perniciosa, en la cual se ha observado, según Copeman, hasta 1021.

Scholkoff, Schmaltz, Hammerschlag y muchos otros, creen tambien que hay una relación estrecha entre el peso específico y el contenido de hemoglobina; pero investigaciones posteriores tienden á probar que dicha relación no existe (Braibanti), pues se ha encontrado densidades normales en casos en que la hemoglobina estaba reducida á la mitad. Además, la cantidad de fierro contenida en la sangre, es tan pequeña (0.42°/$_{o}$), que se comprende fácilmente, cómo su disminución, por grande que sea en la clorosis, poco ó nada pueda influir sobre la densidad.

Los últimos análisis de Quinquad, de los cuales se deduce que el suero de la sangre clorótica contiene la misma cantidad de materiales sólidos que en la sangre normal, contribuyen á demostrar que la determinación de la densidad en la clorosis, tiene escaso valor diagnóstico y pronóstico.

Reacción. — La reacción alcalina de la sangre en circulación se debe principalmente al carbonato y fosfato sódicos que desempeñan el papel tan importante para el organismo, de fijar el anhidrido

carbónico producido por los tejidos y facilitar después su eliminación. Si la reacción de la sangre cambiara, si se volviera ácida, la vida no sería posible.

Métodos para dosar la alcalinidad de la sangre.—*Landois-Jaksch.*—Se necesitan dos soluciones: una concentrada de sulfato de soda, y otra décimo-normal de ácido tártrico, que se prepara disolviendo 7gr.50 de ácido muy puro en un litro de agua destilada. El dosaje de la alcalinidad por este método, se basa en la neutralización de soluciones conocidas de ácido tártrico. Para ello se vierten en 18 vidrios de reloj, con un pipeta graduada, cantidades distintas de ácido y de sulfato de soda, de manera que se obtienen 18 soluciones con diferente acidez. Así por ejemplo, en el primer vidrio se pone 0cm^{3}9 de solución $^1/_{100}$ normal de ácido (1) y 0.1 de sulfato sódico; en el segundo 0.8 y 0.2; en el tercero 0 7 y 0.3 etc., hasta 0.1 de solución $^1/_{1000}$ normal de ácido y 0.9 de sal. Concluida esta primera operación, se agrega á cada vidrio 0.1 cm^3 de sangre, y se agita con una varilla; luego, con un papel de tornasol muy sensible, se ensaya la reacción, y aquél en el cual ésta sea perfectamente neutra, servirá para calcular la alcalinidad.

Sabiendo que 1cm.^{3} de solucion normal de ácido

---

(1) La solución 1[100 normal se prepara mezclando 10 cm^3 de solución 1[10 normal con agua destilada hasta completar 100 cm^3.

tártrico corresponde á 0.0004 de hidrato sódico, Na(HO), por un simple cálculo se obtendrá el grado alcalimétrico buscado. Por ejemplo, la reacción neutra se encuentra en el vidrio que contiene 0.6 cm.^{3} de ácido tártrico $^1/_{100}$ normal; luego esta cantidad de ácido ha neutralizado los álcalis de 0.1 cm.^{3} de sangre, que se determinan por la proporción: 1: 0.0004:: 0.6: x x=0.00024; por consiguiente — 0.00024×1000=0.24 espresará la cantidad de álcalis calculada en Na(0H) por 100 cm^3 de sangre.

Metodo Löwy-Zuntz — Se mezcla en un frasco de cuello largo y angosto, 5 cm.^{3} de sangre y 45 cc de solución 0.2 $^0/_0$ de oxalato neutro de amonio. Se titulán luego 5 cm.^{3} de esta mezcla con una solución $^1/_{25}$ normal de ácido tártrico; se emplea como indicador el papel de tornasol. Se calcula luego la alcalinidad teniendo en cuenta que 1 cc. de solucion $^1/_{25}$ normal de ácido tártrico, corresponde á 0.0016 de Na(0H).

Este método señala un progreso sobre los anteriores porque permite dosar al mismo tiempo la alcalinidad del plasma y de los corpúsculos rojos, desde que el oxalato de amonio que se emplea, extrae la hemoglobina; y si bien es práctico para investigaciones de fisiología, no lo es tanto para la clínica, porque no es siempre fácil obtener los 5 cm.^{3} necesarios para el dosaje.

Método de B. S. Engel—Este autor, para obviar los inconvenientes del método de Löwy-Zuntz, propone modificarlo, reduciendo la cantidad de san-

gre, á emplearse á sólo 0.05 cm.^{3} Para este objeto, ha hecho construir una pipeta capilar semejante á la que se emplea para la numeración de los glóbulos rojos, cuya dilatación piriforme contiene una capacidad 99 veces mayor que la del tubo capilar, que es de 0.05 cm.^{3} Con ella se aspiran 0.05 cc. de sangre, obtenida por punción de un dedo, y luego oxalato de amonio hasta la división correspondiente, marcada por encima de la dilatación piriforme; se tienen de este modo 0.05 cm.^{3} de solución al $^1/_{100}$ de sangre. En ella, colocada en un vaso de precipitar, se dosa la alcalinidad con una solución de ácido tártrico, no ya $^1/_{25}$ normal sino $^1/_{75}$ normal (es decir 1 gr. de ácido en un litro de agua destilada) que está contenida en una bureta graduada, y de la cual sale gota á gota. La operación habrá terminado, cuando el papel de tornasol dé ligera reacción ácida. El cálculo de la alcalinidad deberá hacerse teniendo en cuenta que 1 cm.^{3} de la solución corresponde á 0.000533 de Na(0H.)—En la sangre de personas sanas se emplean de 8 á 10 gotas.

Los métodos descritos son los que considero de más fácil aplicación, pero como se verá más adelante, su valor práctico está muy lejos de responder á las necesidades de la clínica.

Valor práctico de las determinaciones alcalimétricas en la sangre. — El grado alcalimétrico normal es según Devoto de 0.28 á 0.32 % — Flora y

Silvestrini de 0.20 á 0.30 %— Lambranzi de 0.48 % — Beaunis de 0.20 á 0.40 % — Löwy de 0.44 á 0.50 % — Engel de 0.48 á 0.53 % — Limbech de 0.48 á 0.50 % en Na(OH)—.

Estas diferencias responden á los distintos métodos, y no afectarían mayormente el valor de la determinación de la alcalinidad, si empleando siempre el mismo procedimiento, se obtuvieran cifras que, aunque relativas, pudíeran darnos la noción exacta del aumento ó disminución de los álcalis hemáticos. Si bien son muy numerosos los estudios sobre este punto, puede decirse que lo que se sabe respecto de la intoxicación ácida en la fiebre y en las infecciones, en la diabetes grave y en los envenenamientos por los ácidos minerales etc., ha sido determinado por otros medios, como ser: el dosaje del anhidrido carbónico y de los ácidos grasos en la sangre, de la acidéz de las orinas febriles etc.

Los procedimientos alcalimétricos, que se basan en la neutralización de los alcalis hemáticos por los ácidos, empleando sustancias indicadoras como tornasol, fenolftaleina, metil-orange, congo etc., tienen el defecto común de no permitir la apreciación exacta del término de la reacción, y los errores, aunque pequeños en su origen, son de la mayor importancia desde que se trabaja con cantidades mínimas.

Los indicadores empleados, muy sensibles en el análisis volumétrico de sustancias minerales, pier-

den mucho de su eficacia en la determinación de la alcalinidad de la sangre, porque se opera sobre un líquido orgánico, coloreado, de composición muy compleja y variable.

Estas y otras razones de índole puramente química, esplican incongruencias, como las anotadas por Löwy, que ha encontrado 0.885, 1.008, 1.011 como grados alcalimétricos en casos de endocarditis séptica, y 0.384, 0.826, 0.486 en otros de neumonia; y las conclusiones de Limbech, que los sueros de individuos sanos y de enfermos con ó sin fiebre, tienen un grado alcalimétrico que oscila entre límites casi iguales, y que la alcalinidad total de la sangre, si bien baja mucho en algunos estados febriles, ello no se verifica en la mayor parte de los casos en que la cifra se mantiene próxima ó superior á la normal.

Puede decirse entónces que actualmente, el dosaje de la alcalinidad de la sangre, tiene escaso valor práctico.

II

GLÓBULOS ROJOS—*Numeración: Distintos procedimientos.*

Cantidad normal y variaciónes patológicas—Alteraciones de los glóbulos: forma, dimensiones, coloración, resistencia (isotonia.)

Numeración de los glóbulos rojos—

Procedimiento de Vierordt.—Se mide con ayuda del microscopio la longitud de una columna de sangre de título conocido, y contenida en un tubo capilar perfectamente calibrado y de diámetro también conocido. Con estos datos se calcula el volúmen de la sangre que se examina. Se estiende ésta sobre un porta-objeto con una solución de goma, que al secarse retiene á los glóbulos rojos, los que se cuentan después con un micrómetro cuadriculado.

Procedimiento de Malassez.—Difiere del anterior, en que la numeración no se hace sobre una superficie sino en un volúmen determinado de so-

lución. Para ello se introduce la mezcla titulada de sangre y suero artificial (5 á 6 % de sulfato de soda) en un tubo capilar de cubicación ya calculada, y se cuentan los glóbulos con un micrómetro cuadriculado.

Procedimiento de Hayem y Nachet.—Se deposita una gota de la mezcla de 1 cm^3 de sangre en 99 de suero, en una célula que tiene $^1/_5$ de $mm.^3$ de altura; se recubre el porta-objeto con una laminilla, y se cuentan los glóbulos con ayuda de un micrómetro ocular que tiene cuadrados de $^1/_5$ de $mm.^3$ de lado. Como esta fracción representa también la altura de la célula, el ojo del observador percibe la proyección de un cubo de $^1/_5$ de mml. de lado. La cantidad de glóbulos contenidos en dicho cubo multiplicada por 225, dará el contenido por $mm.^3$ de mezcla, y este producto multiplicado por el título de la mezcla, dará la cantidad por $mm.^3$ de sangre.

Hematocitómetro de Gowers.—Difiere del precedente en que el cuadriculado ocular es reemplazado por uno objetivo, y en la mezcla para hacer las diluciones. Gowers emplea la mezcla de sulfato de soda gr. 6.3, ácido acético gr. 3.6, agua destilada gr. 117; ó bien una solución acuosa de sulfato sódico de 1025 de densidad.

Cuenta-glóbulos Alferow. — Emplea células que tienen hasta 1 mm. de profundidad, y recibe la imágen microscópica sobre el vidrio despulido de una cámara micro-fotográfica.

Procedimiento Hayem modificado por Malassez.— La principal modificación consiste en haber agregado una cámara húmeda y un compresor porta laminilla.

Globulímetro de Mantegazza.—El principio de este aparato se basa en la transparencia de una mezcla de sangre y una solución de carbonato sódico.

Procedimiento de Thoma-Zeiss.—Este es el procedimiento que generalmente se emplea en las investigaciones clínicas, lo que justifica su minuciosa descripción.

El aparato Thoma-Zeiss consta de una pipeta graduada con una ampolla que contiene un pequeño cubo de vidrio, y de una célula Abbé-Zeiss. La célula está formada por un porta-objeto que tiene en su medio una laminilla circular exactamente cuadriculada, y rodeada por otra de mayor espesor, cuadrada, á la que le falta en la parte central un círculo de diámetro mayor que aquel de la laminilla cuadriculada. Del diferente espesor de las dos láminas resulta que el cubre-objeto, colocado dista $^1/_{10}$ de mm. de la laminilla central; por consiguiente, se forman paralelepípedos de $^1/_{20}$ de mm. de lado en la base, y de $^1/_{10}$ de mm. de altura, lo que dá un volumen para cada uno de ellos de $^1/_{4000}$ de mm^3.

Cuando se hace la numeración, se emplean soluciones distintas para evitar la coagulación de la sangre: Thoma-Zeiss usan una solución acuosa de

cloruro de sodio al 3 %—Pacini emplea la fórmula: agua destilada gr. 200—cloruro sódico gr. 1—sulfato sódico gr. 5—bicloruro mercurio gr. 0.50—Malassez prepara un liquido de la manera siguiente:

Sol. núm. 1—Goma muy blanca gr. 8—agua destilada 100 gr.

Sol. núm. 2—Cloruro sódico gr.6—sulfato sódico gr.10—agua destilada gr.400.

Se mezclan 265 gr. de la solución núm. 2 con 75 gr. de la núm. 1.

Hayem emplea una mezcla de $^2/_3$ de líquido de Malassez y $^1/_3$ de líquido de Pacini. Este autor aconseja últimamente tambien la fórmula: agua destilada 200 gr., cloruro sódico 7 gr., sulfato sódico 5 gr., solución iodo-iodurada 3 cm^3.—La solución iodo-iodurada la prepara del modo siguiente: Iodu-ro potásico 25 gr., iodo metálico en exceso C. S., agua destilada 500 gr.

Mayet usa: agua destilada 100—sulfato sódico 3—azucar de caña C. S. para obtener un liquido de 1080 de densidad.

El líquido de Potain es una mezcla de tres soluciones de goma arábiga, sulfato sódico y cloruro sódico que tiene 1020 de densidad.

Mosso emplea una solución de ácido ósmico en agua destilada al 1%.

Para proceder á la numeración, se hace una pequeña punción en la extremidad de un dedo, preferiblemente del lado dorsal cerca de la base de la uña, se deja perder la primera gota de sangre y

se aspira de la siguiente 1 cm^3. La pipeta ha sido préviamente lavada con agua destilada y despues con la solución conservadora. Para diluir esa sangre al $^1/_{100}$ es necesario introducir la pipeta en la solución conservadora y aspirar hasta la graduación 101. Se agita despues para que el pequeño cubo contenido en la ampolla mezcle bien ambos líquidos. Hecho esto, se sopla en la pipeta para eliminar el líquido contenido en la porción capilar, se deja caer despues una gota en la célula, y se recubre.

Para mayor facilidad en la numeración, en el cuadriculado de la célula hay líneas mas gruesas que limitan grupos de 16 cuadraditos.

Se cuentan los glóbulos contenidos en 10 ó 20 distintos grupos, y se hace el término medio. Obtenido esto, se divide por 16 para conocer el contenido de cada cuadradito. El volumen de estos, nos es conocido, lo mismo que el título de la solución: tenemos pues, los datos para calcular la cantidad de glóbulos por 1 mm^3 de sangre. Supongamos que el contenido de cada cuadradito sea 8, el volumen es $^1/_{4000}$ mm^3 y el título $^1/_{100}$, luego $8 \times 4000 \times 100 = 3.200.000$ que representan la cantidad de glóbulos rojos por 1 mm^3 de sangre.

Este método de contar los glóbulos, es el que generalmente se emplea; pero es susceptible de simplificación al punto de hacer innecesario todo cálculo. En efecto, cada cuadradito contiene $^1/_{4000}$ de mm^3de solución $^1/_{100}$, luego esto representa $^1/_{400000}$ de mm^3 de sangre. Ahora bien, si conta-

mos el contenido de glóbulos en 40 cuadraditos, ó sea dos y medio cuadrados grandes, tendremos el contenido en $^{40}/_{400000}$ ó $^{1}/_{10000}$ de mm^3 de sangre. Para saber pues, la cantidad por mm^3 bastará agregar cuatro ceros à la suma de glóbulos de dos y medio cuadrados grandes. Así, por ejemplo, supongamos que hemos contado 320 glóbulos rojos en 40 cuadraditos; agregándoles simplemente cuatro ceros tendremos la cantidad por 1 mm^3 de sangre ó sea, 3.200.000.

Si la solución fuera de $^{1}/_{2}$ $^{0}/_{0}$, sería necesario hallar el contenido de 80 cuadraditos (5 cuadrados grandes) y agregarle cuatro ceros.

Si se tratara de investigaciones clínicas rigurosas, puede contarse un número 10 veces mayor de cuadraditos y agregar á esa suma tres ceros.

Como se vé esta simplificación se basa en el sistema métrico decimal.

Cantidad normal y variaciones fisiológicas. — La sangre normal contiene próximamente 5.000.000 de glóbulos rojos por mm^3 en el hombre adulto y $4^{1}/_{2}$ en la mujer. No todos los observadores están de acuerdo respecto à la cifra normal, y quizá sea debido á los distintos procedimientos empleados para determinarla y à los instrumentos. Es bueno pues, acostumbrarse á numerar siempre con un método de elección, porque de este modo insensiblemente se dominan los pequeños detalles de procedimiento,—y tener la precaución de haber determinado por repetidas numeraciones, la cantidad

media que el instrumento que empleamos, dá para la sangre normal.

Además, debe tenerse presente que la alteración de la cantidad de glóbulos, solo puede afirmarse con relativa seguridad, despues de repetidas numeraciones á distintas horas, y aún en distintos dias, porque hay otras causas de error que dependen de las cualidades individuales de la sangre que se examina, de la modificación del tono de los capilares en algunos individuos nerviosos en el momento de la extracción, de las presiones que se ejercen para esta operación etc.

Variaciones fisiológicas. — La cantidad de glóbulos varía con la edad, y la curva gráfica es paralela á la que se observa para la densidad; elevada en los primeros dias de la vida, baja luego en los primeros años, va creciendo lentamente hasta la pubertad, llega al máximun en el adulto y decrece luego hasta la vejez. La influencia del sexo se hace notar, y en los 15 primeros años, la mujer tiene mayor cantidad de glóbulos (Stierlin) que el hombre.

La alimentación ejerce tambien su influencia. Observaciones de Vierordt, Daneri, Limbech, demuestran que la cantidad de glóbulos rojos disminuye despues de las comidas.

El estado de nutrición del organismo, segun Leichtensten, tiene su importancia, y la cantidad de glóbulos rojos sería mayor en las personas delgadas y musculosas que en las obesas.

En la preñéz, contrariamente á lo que se creía antes, el número de eritrocitos está disminuido; y lo mismo sucede por efecto de la menstruación.

Variaciones patológicas.—En patología se observan también aumentos y disminuciones del número de eritrocitos, pero los primeros con menos frecuencia que las segundas.

Aumento de los glóbulos rojos.—La permanencia en lugares muy elevados sobre el nivel del mar, trae también para las personas acostumbradas á las llanuras, un aumeuto considerable que puede llegar según Viault, Montz, Sellier y otros, á 7.000.000 y aún más, creando así la hiperglobulia de las altitudes, ó, como Mercier la denomina, la policitemia esencial.

También se produce aumento (plétora globular, policitemia) á consecuencia de grandes pérdidas de líquido por la piel ó por los intestinos; por ejemplo, las profusas evacuaciones serosas en el cólera, aumentan el número á 6 y 7.000.000 por 1 mm^3.

También se observa aumento, según Penzoldt, Forlanini, Testi, en individuos con vicios cardíácos congenitos.

Disminución de la cantidad de los glóbulos rojos.—La disminución (oligocitemia, oligoemia) de los glóbulos rojos se observa en las anemias agudas y crónicas, en las infecciones, intoxicaciones, envenamiento crónico por el mercurio y plomo etc.

En las anemias agudas hay que tener muy en cuenta la manera como se ha producido la dismi-

nución de los eritrocitos. Si ella llega á la cifra de 1.000.000 por mm.^{3} á consecuencia de una hemorragia muy abundante, puede decirse que hay serio peligro de la vida; mientras que, si se ha establecido gradualmente, producida por pequeñas hemorragias pero repetidas, la cantidad puede ser mucho menor (300.000 según Bizzozzero), sin producir la muerte en algunos casos.

La esplicación se encuentra en la adaptabilidad del organismo, que soporta tanto más fácilmente la escasez de glóbulos rojos, cuanto mas lenta ha sido la disminución.

Hayem establece la cantidad de 500.000 por 1 mm.^{3} como límite estremo en las anemias, susceptibles todavía de curación.

Alteraciones de los glóbulos rojos—De forma.—El estudio de la forma de los glóbulos rojos se hace con ayuda del microscopio en preparaciones de sangre fresca ó previamente fijada.

Las primeras se obtienen cubriendo una gota de sangre sobre un porta-objeto. Este debe ser bien lavado, primero con una solución diluida de ácido sulfúrico, después con agua destilada, secado con un paño y pasado luego por la llama de una làmpara de alcohol. También pueden emplearse los porta objetos especiales, muy conocidos, que Hayem llama *cellules à rigole.*

Las preparaciones secas, se obtienen distendiendo una gota de sangre sobre un porta, con una varilla de vidrio, ó bién aplastándola con el mismo cubre'

que se saca después por deslizamiento. Estendida la pequeña capa de sangre se deja secar al aire y se fija despues por los distintos métodos que describiremos al tratar de las preparaciones de los leucocitos.

Para este estudio deben preferirse las preparaciones de sangre fresca.

Los glóbulos rojos normales, tienen, según la mayoría de los autores, la forma de un disco bicóncavo. Ella puede alterarse, artificialmente, es decir, por defecto de la preparación, ó á consecuencia de enfermedades.

Las *alteraciones artificiales*, reconocen diversas causas entre las cuales se citan, la humedad de la atmósfera, de las laminillas, la violencia traumática que sufre la delgada capa de sangre al hacerse la preparación, la presencia de cuerpos estraños etc.

Describiremos las que pueden encontrarse con más frecuencia, porque su imperfecto conocimiento suele dar lugar á muchos errores.

La primera alteración, se conoce con el nombre de *estado vesiculoso* ó de *transformación esférica*, y presenta dos variedades: 1ª glóbulos más pequeños que los normales, de coloración rojo-bruno, con un círculo negruzco en la periferia; corresponden á los elementos que Masius y Vanlair, clasificaron de *micrócitos*. 2ª elementos esféricos pálidos, clasificados por Hayem de clorocitos cuando son apenas coloreados, y de acromatocitos cuando son completamente incoloros.

La segunda alteración es llamada *espinosa* porque ese aspecto presentan los glóbulos rojos; se observan cloro y microcitos espinosos.

La tercera es llamada *fragmentación*, y se produce cuando se comprime fuertemente el preparado; los glóbulos se dividen, y cada pequeño fragmento toma la forma esférica.

Alteraciones patológicas.—Los glóbulos rojos que presentan su forma alterada probablemente á consecuencia de procesos necrobioticos del protoplasma, fueron denominados poikìlocitos por Quincke. Ellos toman el aspecto de cuñas, clavas, media luna etc. pero no pierden su conformación biconcava. Se los encuentra constantemente en la anemia perniciosa progresiva, y según Quincke sería esto un signo patognomónico; pero investigaciones posteriores demostraron su presencia en las anemias graves, septicemia, tuberculosis pulmonar, caquexia cancerosa y nefritis parenquimatosa. También se encuentran en las formas no muy intensas de clorosis, y en aquellas graves en tratamiento curativo y ya mejoradas, siendo en estos casos de valor pronóstico favorable para el enfermo.

En general el pronóstico de las enfermedades en que se encuentran los poikilocitos, es grave.

Alteraciones de diámetro.—Los glóbulos rojos normales presentan dimensiones variables: los glóbulos grandes tienen de 8,5 á 7,5 φ de diámetro—

los medianos 7,5 y los pequeños de 6 á 6,5 φ. Según Hayem, sobre 100 glóbulos se encuentran 75 medianos y 25 grandes y pequeños.

Respecto á las dimensiones, hay diferencias individuales muy marcadas, que deben tenerse en cuenta, y en general puede decirse con Welcher que el diámetro medio del glóbulo rojo, es de 7,7 φ

El diámetro se mide con ayuda del microscopio y en preparaciones de sangre fresca.

En condiciones patológicas se pueden encontrar glóbulos de diámetro menor de 6 φ, que Hayem llama enanos, y otros mayores de 9 φ, que pueden llegar hasta 16 φ, que llama *gigantes ó megalocitos*.

Los primeros se encuentran generalmente en las anemias ligeras ó de mediana intensidad, mientras que los segundos predominan, hasta llegar al 30 % del total de glóbulos, en las anemias graves y en la anemia perniciosa. También se les encuentra en la clorosis, leucocitemia, cirrosis hepática, enfermedad de Addison etc.

Coloración. — Los glóbulos rojos normales, son monocromatofilos, y en las preparaciones frescas fijadas, se colorean con las sustancias ácidas, especialmente con la eosina. Según Ehlrich esta importante propiedad estaría íntimamente ligada al funcionamiento del estroma globular ó discoplasma, generador según él de la hemoglobina. Dicho autor había observado que en la anemia grave, escarlatina, viruela, tifus etc., algunos glóbulos perdían

esa propiedad, y en cambio se coloreaban con sustancias bâsicas; atribuía este fenómeno á procesos de degeneración del glóbulo próximo á la muerte, y, por haberlo encontrado con mayor frecuencia en las anemias graves, los denominó de degeneración anémica.

Para Poggi y otros, en cambio, este elemento sería un glóbulo no llegado á la maduréz; su presencia en las anemias graves sería de pronóstico favorable, y su desaparición en el curso de la anemia indicaría que el enfermo está próximo á la curación.

El Prof. Riva en investigaciones recientes, ha llegado á estas conclusiones: 1.° es un elemento que se encuentra en las anemias primarias y secundarias y por escepción en el hombre sano; 2.° que no es elemento jóven; 3.° que es resistente; 4.° su ingreso á la circulación no se relaciona con el estado de la anemia; 5.° en las distintas horas del día, y aún en las preparaciones del momento, los resultados no son iguales; 6.° que algún proceso químico desarrollado en el liquido colorante, no conocido todavía, puede favorecer ó dificultar la absorción de la sustancia colorante.

Las observaciones contradictorias que existen sobre este punto, no permiten establecer todavía el valor diagnóstico y pronóstico de los hematíes que se colorean por el azul de metileno.

Resistencia de los glóbulos rojos (isotonia).— La palabra *isotonia* fué introducida en el lenguaje científico por el botànico De Vries y aplicada á la sangre por Hamburger. Sirve para designar el poder de resistencia de los glóbulos, á la acción disolvente de las soluciones salinas de título menor que la fisiológica de cloruro sódico (7 gr. 5‰). El método preferido para determinar la isotonia es el de Hamburger modificado por Mosso, que consiste en las operaciones siguientes: se vierte en distintas probetas, 3.4, 3.6, 3.8 hasta 7 mm^3 de una solución 1% de cloruro sódico y se completa hasta 10 mm^3 con agua destilada; despues en cada una de ellas se dejan caer dos gotas de sangre y se mezcla. Al cabo de 24 horas, se encuentra que en algunas probetas la solución es incolora, pero contienen un precipitado rojo, formado por los hematies, muy abundante; mientras en las otras, el líquido va coloreándose gradualmente por la hemoglobina disuelta, á medida que desaparece el precipitado.

El título de la solución que precede á la que apenas comienza á colorearse, dá lo que se llama *resistencia mínima*, y el de aquella muy coloreada, pero que todavía tiene un poco de precipitado, dá la *resistencia media*.

En condiciones normales la resistencia mínima es de 0.48 y la media de 0.40.

Nada definitivo puede decirse todavía del valor diagnóstico y pronóstico de esta determinación. Pero si se tiene en cuenta que probablemente ella evi-

dencia alteraciones químicas del protoplasma globular, se comprenderá cómo el estudio de la isotonia puede llegar á ser un auxiliar muy eficaz, para el conocimiento de aquellas emfermedades en las cuales la alteración de la sangre constituye el elemento principal.

III

HEMOGLOBINA—*Dosaje por los métodos de Gowers, Fleisch, Malassez, Bizzozzero y Henocque.*

Cantidad en la sangre normal—Variaciones fisiológicas y patológicas.

La cantidad de hemoglobina, es determinada en la sangre, ya sea comparando su intensidad de coloración en soluciones diluidas, con otras de diversas sustancias y de intensidad conocida, ó basándose en su transparencia ó por fin en su exámen espectroscópico. Seguiremos este órden al describir los distintos métodos que se emplean.

Hemoglobinómetro de Gowers. — Consta de un tubo que contiene glicerina coloreada con picrocarmin y cuya intensidad corresponde exactamente á la de una solución 1% de sangre; y de otro tubo graduado de 10 á 130, del mismo diámetro, en el cual se hacen las soluciones. Con una pipeta graduada, se vierten 0.2 cm^3 de sangre en el tubo, al que se ha agregado ya un poco de

agua destilada para evitar la coagulación, y sin retirarla se lava un poco; se agita bien y se sigue diluyendo hasta obtener la igualdad de coloración con el tubo tipo. Una vez conseguido este resultado, se lee la cantidad de centímetros cúbicos de agua empleados, y por ellos se deduce la cantidad de hemoglobina, teniendo en cuenta que la graduación 100 corresponde á la sangre normal. Así por ejemplo, sí se han necesitado 70 cm^3, la sangre examinada tiene 70% de la cantidad normal, etc. Este valor relativo puede transformarse en absoluto, por un simple cálculo. En efecto la sangre normal contiene 14 gr. % de hemoglobina, luego esta cantidad corresponde á la graduación 100 del aparato, y por consiguiente en el ejemplo citado tendríamos: 100:14::70:x x=9.80 contenido en gramos, de hemoglobina por ciento.

Hemómetro de Fleischl.—Este aparato de fácil manejo se emplea con mucha frecuencia. Se basa en la comparación del color de la sangre diluida, en una proporción constante, con el de un prisma teñido de rojo con púrpura de casio.

El prisma tiene la forma de una cuña y la intensidad de su coloración va disminuyendo gradualmente con su espesor. Está colocado en un marco metálico de forma cuadrangular que lleva además una escala graduada y movible, debajo de una especie de platina de microscopio. La platina tiene en su parte central, un agujero en el que se ajusta un cilindro metálico con una base de vidrio y divi-

dido por un tabique en dos mitades, una de las cuales viene á estar colocada sobre la cara anterior del prisma. Un pié metálico que lleva un espejo reflector, sirve de soporte.

Agregadas al aparato van varias probetas cuya capacidad ha sido determinada de modo que esa cantidad normal de sangre diluida tiene una intensidad de color, que corresponde á la graduada con el número 100 en la escala.

Para el dosaje se procede del modo siguiente: se llena completamente con agua destilada la mitad del cilindro que corresponde à la cara anterior del prísma y en la otra mitad, se vierte agua hasta el $^1/_3$ de su altura, luego la sangre aspirada con la pipeta, y se termina de llenar otra vez con agua destilada; se mezcla todo con cuidado, y se procede à la observación. Esta se hace en un sitio oscuro, proyectando con el espejo reflector un haz de luz de vela, lámpara ó gas, sobre el fondo del cilindro. Por medio de un tornillo se mueve el prisma hasta obtener la igualdad de coloración en las dos mitades del cilindro, y, conseguido este resultado, se lee en la escala la graduación.

El número 100 de la escala corresponde al contenido de hemoglobina en la sangre normal; por consiguiente si la cifra es 60, por ejemplo, se dirá que la sangre examinada tiene 60% de la cantidad normal de hemoglobina.

Este valor relativo puede transformarse en abso-

luto aplicando la misma fórmula que aconsejábamos en el método anteriormente descrito.

Los aparatos llevan todos una tabla de correcciones.

Cromo-citómetro de Bizzozzero.—Este ingenioso aparatito, que he empleado siempre en mis análisis, es como el anterior, de muy fácil manejo, y tiene sobre él algunas ventajas. El Dr. Tarchetti que ha hecho un estudio comparativo de ambos, se pronuncia decididamente por el cromocitómetro que, segun afirma, puede emplearse por su exactitud no solo en los análisis clínicos, sino tambien en las investigaciones científicas.

El aparato consta de un cilindro metálico hueco con una base de vidrio, en el cual se introduce á tornillo otro graduado, con base también de vidrio que llega á adosarse con la primera. Destornillando, las bases se separan y dejan un espacio cilíndrico que se varía á voluntad, y en el cual entra por un agujero, colocado en la parte superior, la sangre contenida en un pequeño embudo. El aparato se completa con un disco de vidrio rojizo cuando se hacen determinaciones cromométricas.

Tiene además dos probetas y pipetas para efectuar las soluciones.

El dosaje de la hemoglobina, puede hacerse usando el aparato como cromómetro ó como citómetro.

Citómetro. — Para utilizar el aparato como citómetro se miden con la pipeta, á la que se ha agregado un tubo de goma que se aplica á la boca para absorver con más comodidad, 10mm^3 de sangre obtenida mediante la punción de un dedo, y se mezcla con $^1/_2$ cm^3 de solución de cloruro sódico (0gr 70 $^0/_0$). Con el objeto de lavar bien la pipeta es conveniente absorver repetidas veces un poco de la solución; luego se mezcla con una varilla, para que ella sea bien homogénea, y se introduce en el embudo del aparato.

Al comenzar el exámen, el aparato está dispuesto de manera que las bases de vidrio se encuentran en contacto; destornillando un poco, ellas se separan y el espacio cilíndrico se llena de sangre.

El operador se coloca en una cámara obscura y tomando el instrumento con la mano izquierda, observa por el interior de los cilíndros la llama de una vela á la distancia de un metro y medio. Haciendo girar á derecha ó izquierda se aumenta ó disminuye el espesor de la capa liquida hasta que los contornos de la llama se dibujen apenas nitidos, y de manera que al menor movimiento del tornillo en uno ú otro sentido, desaparezcan ó se hagan más evidentes.

Este es el momento más dificil de la operación, y es conveniente repetirlo varias veces.

Se lée después en la escala el espesor en mm de la capa líquida que fué necesaria para este resultado.

La escala de 0 á 25 est grabada sobre el cilindro interno con rayas paralelas à su eje, y representa el paso del tornillo que es de 0,5 mm, luégo cada división corresponde à un espesor de $\frac{0.50}{25}$ =0.02 mm; el tubo interno lleva además, circunferencias trazadas à 1 mm de distancia.

Conocida la escala, veámos ahora como se utiliza.

Supongamos que el espesor necesario para la observación, hàya sido obtenido mediante dos vueltas completas del tornillo; él será entónces de 1 mm y estará marcado por una de las circunferencias; pero si fueran dos vueltas y fracción, el valor de ésta sería dado por la división que coincidiera con el 0 del cilíndro externo, multiplicada por 0.02.

Así por ejemplo: 2 vueltas y 10 divisiones, representarían un total de 1mm 20 es decir $1+10\times0.02=120$.

Una vez hallado el espesor, sabiendo que 110 es el grado citométrico encontrado por Bizzozzero para el contenido normal de hemoglobina, por una simple proporción hallaremos el de la sangre en exámen. En efecto, siendo 100 la cifra convencional que representa la hemoglobina en la sangre normal tendremos:

110 : 100 : : grado citométrico : x; es claro que x representa un valor relativo que puede transformarse en absoluto, procediendo del mismo modo que en los métodos anteriores.

Para evitar los cálculos en cada caso, reproduzco la tabla publicada por Tarchetti. Las decenas

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
330	33.3	33.2	33.1	33.	32.9	32.8	32.7	32.6	32.5	32.4
320	34.4	34.3	34.2	34.1	34.	33.8	33.7	33.6	33.5	33.4
310	35.5	35.4	35.3	35.1	35.	34.9	34.8	34.7	34.6	34.5
300	36.7	36.6	36.4	36.3	36.2	36.1	35.9	35.8	35.7	35.6
290	37.9	37.8	37.7	37.5	37.4	37.3	37.2	37.1	36.9	36.8
280	39.3	39.1	39.	38.9	38.7	38.6	38.5	38.3	38.2	38.1
270	40.8	40.6	40.4	40.3	40.1	40.	39.9	39.7	39.6	39.4
260	42.3	42.1	42.	41.8	41.7	41.5	41.4	41.2	41.	40.9
250	44.	43.8	43.7	43.5	43.3	43.1	43.	42.8	42.6	42.5
240	45.8	45.6	45.4	45.3	45.1	44.9	44.7	44.5	44.	44.1
230	47.8	47.6	47.4	47.2	47.	46.8	46.6	46.4	46.2	46.
220	50.	49,8	49.6	49.3	49.1	48.9	48.7	48.5	48.2	48.1
210	52.4	52.1	51.9	51.7	51.4	51.2	50.9	50.7	50.5	50.2
200	55.	54.7	54.5	54.2	53.9	53.7	53.4	53.	52.9	52.6
190	57.9	57.6	57.3	57.	56.7	56.4	56.1	55.8	55.6	55.3
180	61.1	60.8	60.4	60.1	59.8	59.5	59.1	58.8	58.5	58.2
170	64.7	64.3	63.9	63.3	63.2	62.9	62.5	62.2	61.8	61.5
160	68.8	68.3	67.9	67.5	67.1	66.7	66.3	65.9	65.5	65.1
150	73.3	72.9	72.4	71.9	71.4	71.	70.5	70.	69.6	69.2
140	78.6	78.	77.5	76.9	76.4	75.9	75.4	74.8	74.3	73.8
130	84.6	84.	83.3	82.7	82.1	81.5	80.9	80.3	79.7	79.1
120	91.6	90.9	90.1	89.4	88.7	88.	87.3	86.6	85.9	85.3
110	100.	99.1	98.2	97.3	96.4	95.6	94.8	94.4	93.2	92.4
100	110.	108.9	107.8	106.8	105.7	104.7	103.7	102.8	101,8	100.9
90	122.2	120.9	119.6	118.3	117.	115.8	114.6	113.4	112.4	111.1
80	137.5	135.8	134.1	132.5	131.	129.4	127.9	126.4	125.	123.6

de grados citométrico están representadas en la columna vertical de la izquierda y las unidades en la horizontal superior. Ahora bien, si hemos encontrado por ejemplo 132 grados citométricos, el dato deseado estará en el punto en que se reunen la horizontal de 130 y la vertical de 2 y será 83.3; lo mismo puede decirse en los demás casos.

Cromómetro.—Para el exámen cromométrico se aspiran 10mm^3 de sangre como en el citométrico, y se diluyen en $^1/_2$ cm^3 de agua destilada. La observación no se hace yá en la cámara oscura sinó á la luz del día, y se busca, variando del mismo modo el espesor de la capa líquida, la igualdad de color con el vidrio rojizo que se ha agregado al aparato, y que sirve como término de comparación· La lectutura de la escala se hace como en el exámen anterior, pero, para hallar la cantidad de hemoglobina, es necesario haber determinado previamente el valor cromométrico del vidrio.

Para esto, se hace el exámen cromo y citométrico de una sangre cualquiera; supongamos que hemos encontrado 160 grados en el primero y 120 en el segundo. Sabemos ya que 110 del citómetro corresponde á la normal de hemoglobina, luego $120 : 160 : : 110 : x$ $x = 146.6$ que es el valor buscado; ó en otros terminos: la sangre normal marcaría con nuestro aparato 146 grados cromométricos.

Supongamos ahora, que en un exámen hayamos encontrado 130 grados cromométricos: conocemos ya el valor del vidrio tipo, luego la cantidad de hemoglobina será dada por la proporción siguiente: 146 : 100 : : 130 : x $x = 88\,\%$ de la normal.

Hemoglobinómetro de Malassez.—Los dos aparatos de este autor se basan también en la comparación de soluciones diluidas de sangre con otras de glicerina coloreada. El nuevo modelo que es el de más fácil aplicación, está formado por un aparato estereoscópico en combinación con dos tubos que contienen: uno, la solución de glicerina, y el otro la sangre diluída. La observación se hace á la luz del día, y la igualdad de color se obtiene modificando el espesor del líquido sanguineo, merced á un tornillo que hace subir ó bajar uno de los tubos. Este movimiento es comunicado á una aguja que indica directamente la cantidad por ciento de hemoglobina.

Hematoscopio de Henocque.—Este aparato se basa en el principio, que la sangre debe ser examinada tal como sale de los vasos sin las soluciones prévias indispensables en los démás procedimientos. El exámen se hace sobre una delgada capa de líquido cuyo espesor aumenta progresivamente y que puede apreciarse en valores métricos. El aparato

está formado por dos láminas de vidrio, de las cuales la inferior es màs ancha que la superior; están superpuestas, pero sólo en contacto por una extremidad mientras que en la otra se separan 300 φ [1] y limitan así un espacio prismático capilar. Dos correderas de nickel las mantienen en esta posición, permitiendo al mismo tiempo el deslizamiento de la lámina superior. Una escala de 0 á 60 milímetros, está grabada en la lámina inferior y sirve para apreciar el espesor de la capa de sangre. En efecto la inclinación de la lámina superior, es de 5 φ por milímetro de longitud, luego para calcular el espesor bastará multiplcar la cifra de la escala por 5.

La sangre en este aparato entra por capilaridad, y para conseguirlo, se deja caer una gota cerca del borde inferior y se inclinan las láminas. Cargado el hematoscopio, está listo para la observación.

Esta se hace con un espectoscopio y por la apreciación del fenómeno de las «dos bandas iguales de Henocque» que se producen á espesores distintos según el contenido de oxihemoglobina; siendo ellos mayores cuanto más pobre sea la sangre.

Colocado el hematoscopio verticalmente de modo que el 0 de la escala se encuentre á la izquierda, se observa con el espectroscopio aplicado á la lámina y desde 0 á 60, á medida que movemos el aparato, empiezan á aparecer las bandas caracterís-

---

(1) Este signo quiere indicar milésimos de milimetros.

ticas de la oxihemoglobina y llegan á ser casi igualmente oscuras y de la misma amplitud de onda á 14 milímetros para la sangre normal. Es menester tener en cuentá que la banda de la derecha, es un poco menos oscura hácia los bordes, y que el fenómeno característico se producirá, pués, en el punto en que las dos bandas alcanzan el máximun de oscuridad, mientras que el espacio verde que las separa sea perfectamente distinto.

Para saber el espesor con que se ha producido este resultado, hay que leer en la escala la división á que corresponde la hendidura del espectroscopio.

Para ello se anotan las divisiones que coinciden con dos planos tangentes desde los bordes izquierdo y derecho del disco que tiene la hendidura, y tomar el término medio; ó bien puede hacerse agregando á la división de la escala que corresponde al borde izquierdo, la distancia de este borde á la hendidura. Por ejemplo, supongamos que el borde izquierdo corresponde á la división 14 y el derecho á la 22, la hendidura estará entónces á 18 milímetros, luego el fenómeno se ha producido con un espesor de $18 \times 5 = 90$ ♀.

Para saber el tanto por ciento de oxihemoglobina se consulta la escala siguiente:

DISTANCIA à que se observa el fenómeno de las dos bandas		CANTIDAD de oxihemoglobina por cien partes de sangre
13	milímetros	15 %
14	„	14 „
15	„	13 „
16	„	12 „
17	„	11.5 „
18	„	11.0 „
19	„	10.0 „
20	„	9.5 „
21	„	9.3 „
22	„	9.0 „
23	„	8.5 „
24	„	8.0 „
26	„	7.5 „
28	„	7.0 „
30	„	6.5 „
32	„	6.0 „
35	„	5.5 „
39	„	5.0 „
44	„	4.5 „
49	„	4.0 „
54	„	3.5 „
60	„	3.2 „

Cantidad normal.—En condiciones normales la cantidad de oxihemoglobina en el hombre de 20 á 50 años es de 13 á 14gr. %, y 12 á 13gr. % en la mujer.

En los niños de 5 á 10 años la normal es de 11 á 12 gr. por %, y de 10 á 15 años, sobretodo en las niñas, es de 13 gr. %.

Estas cifras experimentan variaciones, y se observa por ejemplo que son más bajas, 11 ½ á 12 %, en los habitantes de las ciudades, y especialmente

en aquellos, cuyas profesiones les obligan á llevar un régimen de poco ejercicio físico. Sucede lo contrario para los que viven en el campo, ó los que hacen frecuentes ejercicio al aire libre.

Los ejercicios aumentan la cantidad de oxihemoglobina, cuando son repetidos y moderados, y de la hemoglobina reducida cuando producen fatiga ó sofocación.

En la mujer, durante el periodo de la menstruación se producen disminuciones que pueden llegar á 1 %, pero la cifra vuelve á la normal al cabo de 2 ó 3 días.

En la inanición, la oxihemoglobina disminuye pero en cantidades muy pequeñas.

En condiciones fisiológicas, pués, las oscilaciones están comprendidas entre 11 ½ á 14 gr. %.

En condiciones patológicas: Clorosis, anemias agudas y secundarias, perniciosa progresiva, en la fiebre tifoidea, tuberculosis, leucemia, etc., se observan grandes disminuciones, y, en tesis general, puede decirse que el pronóstico es serio cuando la cantidad sea menor de 4%.

Del punto de vista puramente clínico, teniendo en cuenta tan solo la cantidad de oxihemoglobina, puede decirse que hay principios de anemia con 11, 5 á 11 gr. %; cofirmada de 10, 5 á 9 gr. %; intensa de 8.5 á 7 gr. %; grave de 6.5 á 4.5 gr.; y estrema ó caquéctica de 4 á 3 gr. %.

Las pérdidas de oxihemoglobina producidas por una hemorragia, están en relación con su abundan-

cia y frecuencia, y se observa que cuando no son muy grandes, el organismo las repone en pocos dias.

En 11 casos de *fiebre tifoidea* observados por Baudoin y Henocque, la cantidad de oxihemoglobina disminuye desde el 8° y aun del 4° dia hasta 7% y se mantiene con oscilaciones de 1% y excepcionalmente 2% hasta el período de convalecencia. Esta se anuncia generalmente, por un aumento que llega á 9 y 10% y va acentuándose con rapidez; pero la menor complicación trae inmediatamente un descenso.

En la *tuberculosis* las oscilaciones están en relación con la marcha de la enfermedad y la localización (Henocque).

En la *tuberculosis pulmonar*, la cantidad de oxihemoglobina varía entre 11 y 5%, según la gravedad de las lesiones y la frecuencia de las hemoptisis.

En las tuberculosis óseas las disminuciones son mas acentuadas, y Henocque cita el caso de una niña de 4 años con una coxalgia supurada, en la cual ha observado de 3.2 hasta 4.3 gr. %, como máximum, durante 2 años.

En las lesiones del *testículo*, *epididimo* y de los *ganglios* se encuentran según Henocque de 8 á 11 gr. %.

En las *tuberculosis cutáneas*, la cantidad de oxihemoglobina es muy próxima á la normal.

IV

LEUCOCITOS — ***Generalidades*** — *Granulaciones: su división — Clasificación de los leucocitos.*

Numeración — *Cantidad normal — Variaciones fisiológicas y patológicas — Valor diagnóstico y pronóstico de la leucocitosis.*

Preparaciones microscópicas — *Métodos de fijación y coloración — Técnica.*

Generalidades.—Los leucocitos tienen dimensiones variables, y están formados por protoplasma sin membrana de envoltura, con núcleos diferentes en las distintas especies: vesiculares, reniformes, lobulados, etc. Contienen además nucleolos y granulaciones sobre las que nos detendremos, dada la importancia que su estudio ha adquirido, despues de los trabajos de Ehrlich.

Estas granulaciones de tamaño y formas diversas, muy refrangentes, se diferencian entre sí por sus afinidades con las sustancias colorantes.

Ehrlich, que descubrió esta propiedad de las granulaciones, con sus discípulos Westphal, Schawrze y Spilling, las distingue en 5 grupos: granulaciones α osifilas ó eosinófilas—se colorean únicamente con los colores ácidos de anilina, eosina, fucsina ácida, orange, ponceau, etc., y, especialmente con eosina;—granulaciones β ó anfófilas, se colorean indistintamente con los colores ácidos y básicos;—γ y δ ó basófilas que se colorean únicamente con los colores básicos: azul de metileno, fucsina, violeta de genciana, de metilo, vesuvina, bruno de Bismarck, safranina, violeta de Dalhia etc.—y por fin las ε ó neutrófilas que se tiñen con los colores neutros.

Las α y δ son gruesas y brillantes y fueron confundidas con gotas de grasa; las ε son pálidas y muy finas y hay que observarlas con lentes de inmersión. Las granulaciones que contiene un leucocito, son todas de la misma especie, y parecen estar íntimamente ligadas á su función.

Ranvier, Maragliano, Ehrlich y muchos otros consideran á las granulaciones α como producto de transformacion de las demás, y Kinschensky sostiene que las neutrófilas pueden convertirse en eosinófilas.

Kanthach y Hardy y otros, forman un solo grupo con las α β y ε y las denominan *osifilas*.

Las eosinófilas han sido objeto de numerosas investigaciones para determinar su composición. De ellas resultan que según Siawcillo, Renaut y Weiss

dan la reacción de las sustancias albuminoides; y Przewoscki ha demostrado que además de esta sustancia contienen fierro, creyendo con Marwedel que se trata de una combinación preparatoria de la hemoglobina. Semmer, Ponchet y otros la identifican con esta última, pero esta opinión es combatida por Sappert, Ehrlich y Schwarze. En cuanto á su orígen y significado funcional, no es posible formular todavía conclusiones por la discrepancia de pareceres que existe entre la mayoría de los autores.

Clasificaciones de los leucocitos.—Se han propuesto numerosísimas clasificaciones de los leucocitos. Todas ellas se basan, ó en el orígen de estos elementos, ó en el aspecto del protoplasma, ó en sus reacciones microquímicas con las diversas sustancias colorantes. Metchnikoff de acuerdo con su teoría, ha propuesto una clasificación en que tiene en cuenta las propiedades fagocitarias.

No reproducimos aquí todas las clasificaciones histológicas, porque no tienen importancia consideradas del punto de vista clínico, en que solamente interesan estos elementos por sus propiedades funcionales.

Sin embargo, como es necesario conocerlos y poderlos distinguir entre sí, consideraremos con Ehrlich, 4 variedades principales: polinucleares neutrófilos, polínucleares eosinofilos, mastzellen y mononucleares de protoplasma claro.

Polinucleares neutrófilos.—Se caracterizan por el núcleo polimorfo y la presencia de las granulaciones ε en el protoplasma.

Estas granulaciones se tiñen de color violeta con la mezcla triácida de Ehrlich.

Polinucleares eosinófilos.—Tienen núcleo polimorfo. Las granulaciones del protoplasma son más gruesas que las ε y se tiñen de color rojo ladrillo por la mezcla de Ehrlich, y de rosa por la eosina. Son pues, granulaciones α ó eosinófilas.

Mastzellen.—Tienen núcleo tambien polimorfo, pero su protoplasma es vacuolar y con granulaciones que se colorean en violeta por los colores azules básicos. Estas granulaciones son las basófilas clasificadas con la letra γ.

Mononucleares de protoplasma claro.—Se caracterizan por la forma redondeada del núcleo y porque el protoplasma es homogeneo y claro; se colorea apenas con los colores ácidos ó básicos. En este grupo se observan grandes y pequeños elementos.

Numeración de los leucocitos.—Esta numeración se hace con soluciones distintas de las que se emplean para los glóbulos rojos, y que tienen además la propiedad de disolver á estos últimos, dejando intactos á los leucocitos. La solución 1 gr. de ácido acético en 300 de agua destilada, llena bien este objeto.

La pipeta que se emplea dá diluciones al $^1/_{10}$ ó $^1/_{20}$, y la cantidad de sangre que se utiliza,

es de 1cm³— La numeración se hace de la misma manera que para los glóbulos rojos, pero como la cantidad de leucocitos es mucho menor, en vez de sacar el término medio de cada cuadradito, se calcula el de los cuadrados grandes, después de haber contado diez ó veinte de ellos. Conocido su volúmen se obtiene fácilmente la cantidad por 1mm³.

Ejemplo: la suma del contenido de 10 cuadrados grandes es 40, luego 40: 10 = 4 glóbulos por cuadrado; el volúmen de cada uno de ellos es $^1/_{250}$ de milimetro cúbico, la solución tiene entónces 4×250 = 1000 leucocitos por milímetro cúbico; pero como ella está diluida al $^1/_{10}$, 1.000×10 = 10.000 espresa la cantidad por mm³ de sangre.

Para diferenciar las distintas clases de leucocitos, al contarlos, conviene colorear los núcleos. Para ello se hace la dilución de la sangre y se agrega pocas gotas de la solución de Plehn (azul de metileno con eosina), ó bien se agregan algunas gotas de azul de metileno ó violeta de genciana á la solución de ácido acético.

Cantidad normal.—En condiciones normales, la cantidad de leucocitos en el hombre es de próximamente 8.000 por mm³. La proporción en que se encuentran las distintas clases es de:

	Ehrlich.	Jolly.	Leredde y Besançon
Leucocitos pequeños mononucleares	23 %	2 %	32 á 33 %
Leucocitos grandes mononuclaeres		36 %	
Leucocitos de núcleo polimorfo	75 %	60 %	66 %
Leucocitos eosinófilos .	2 á 4 %	1 á 2 %	1 á 2 %

En un trabajo reciente el Dr. Jakob dá:

Lecocitos polinucleares sin granulaciones gruesas . . . . . 60 á 70 %

Leucocitos mononucleares con granulaciones gruesas. . . . . 5 á 15 %

Leucocitos mononucleares grandes .) 16 á 35 %
» » pequeños .)

Las cifras en que se expresa el número de las diferentes especies de leucocitos pueden ser absolutas ó relativas, es decir, indican el contenido por mm^3 cúbico de sangre ó por mil de elementos.

Supongamos, por ejemplo, que el total de elementos contados por mm^3 ascienda á 8.400, de los cuales 5.292 sean de leucocitos polinucleares, 588 de polinucleares eosinófilos y 2.520 de mononucleares; estas son cifras absolutas por mm^3 de sangre, y si quisieramos deducir las relativas, es decir, el tanto por mil de cada una de ellas, habría que establecer las fórmulas siguientes:

$$8.400 : 5.292 : : 1.000 : x \; . \; x = 630$$
$$8.400 : \; 588 : : 1.000 : x \; . \; x = \; 70$$
$$8.400 : 2.520 : : 1.000 - x \; . \; x = 390$$

Cuando la cantidad de leucocitos se mantiene próxima á la normal se dice que hay leucocitosis; pero si esa cifra es inferior á la normal, dicha disminución lleva el nombre de hipoleucocitosis; y

cuando, por el contrario, es mayor de 10.000 por mm^3, hiperleucocitosis. Cuando la cantidad es superior de 70.000 por mm^3 y de una manera persistente, puede considerarse ya como síntoma de un proceso morboso de naturaleza no bien conocida, que se denomina leucocitemia.

Variaciónes fisiológicas y patológicas—Hiperleucocitosis.

El número de leucocitos puede variar de una manera transitoria ó permanente, debido á causas fisiológicas ó á procesos morbosos.

Entre las hiperleucocitosis fisiológicas transitorias, se cuentan las de la preñez, la dijestiva, y de los recien nacidos; y entre las patológicas, la post-hemorrágica, caquéctica, agónica, y la que se produce en la mayoría de los procesos infecciosos.

Las hiperleucocitosis permanentes se observan en los individuos con neoplasias cancerosas y carcinomatosas, y no es raro, según Gilbert, que en estos procesos las cifras oscilen entre 10 y 20,000 por mm^3.

Hayem ha observado 50.000 leucocitos por mm^3 en un caso de sarcoma, y 70.000 en otro de cáncer del cuerpo tiroideo.

Hipoleucocitosis. No se observan con mucha frecuencia; se las encuentra en las anemias profundas, en la anemia perniciosa progresiva, en la fiebre tifoidea de larga duración, en la cual la cifra des-

ciende á veces á 2000 por mm^3 (Hayem). En el sarampion, Ehrlich, Baginscki y otros, han observado hipoleucocitosis en el período eruptivo; pero según Renaud ella sería precedida por una marcada hiperleucocitosis en los primeros dias del período de invasión. En un trabajo reciente, el Dr. Caccia publica las observaciones de 23 casos de sarampión, de los cuales 9 con complicaciones diversas y 14 sin ellas.

Dicho autor llega á las conclusiones que la hipoleucocitosis es constante en esa enfermedad, siempre que no hayan complicaciones con otras que produzcan leucocitosis.

Estudiando las leucocitosis de algunas enfermedades infecciosas, el Dr. Jakob llega á las conclusiones, que ellas podrían agruparse en tres categorías:

1°. Hiperleucocitosis acentuada: enfermedades infecciosas con exudado inflamatorio, neumonia, meningitis cerebro-espinal y piohemia.

2°. Con hiperleucocitosis menos intensa: erisipela, escarlatina, difteria, reumatismo poliarticular agudo.

3°. Leucocitosis normal ó inferior á la normal (hipoleucocitosis): sarampion, fiebre tifoidea, tuberculosis miliar, y septicemia según algunos autores.

Por lo que se refiere à las variaciones en número de los leucocitos de los distintos grupos, se observa que el aumento generalmente se hace á espensas de las células polinucleares y neutrófilas (Rieder, Jakob), que son los mas numerosas en el

estado normal. Á veces ellas disminuyen en algunos casos de bronquitis crónica y gonorrea aguda (Jakob), paludismo crónico, asmá bronquial, afecciones del hígado y riñon, y, á consecuencia de ¡nyecciones de tuberculina (Rieder). Con mayor frecuencia se comprueba la disminución de estos elementos, y aún su desaparición en el grupo de enfermedades con hiperleucocitosis estudiadas por el Dr. Jakob, á escepción de la escarlatina, y en los casos de hipoleucocitosis sin complicaciones.

Los mononucleares grandes aumentan con alguna regularidad en la fiebre tifoidea (Jakob).

Los mononucleares pequeños (linfócitos) aumentan en la fiebre tifoidea, difteria, herpes zoster, escarlatina, fiebres puerperales, y en la convalescencia del reumatismo poliarticular agudo (Jakob), en la tos convulsa (Meunier, Amicis), sarampion (Caccia).

Las distintas especies de leucocitos no son igualmente aptas para las funciones fagocitarias ni esperimentan la quemotaxis con igual intensidad.

Ambas reacciones son bien manifiestas en los polinucleares, pero en los eosinófilos se manifiestan con muy poco intensidad (Mesnil).

En los linfocitos los fenómenos de quemotaxis no se manifiestan y parecen muy poco aptos para la fagocitosis.

Valor pronóstico. — Puede afirmarse ya que el valor pronóstico que se deduce del estudio de la

leucocitosis de las diversas enfermedades tiene su importancia, desde que permite, siguiendo la marcha de ellas, descubrir las complicaciones que se produzcan. Si en el curso del sarampion, por ejemplo, observamos una hiperleucocitosis, ella seria índice casi seguro de una complicación.

Besredka, en un trabajo sobre la leucocitosis en la difteria, sostiene que en esta enfermedad, cuando no existen complicaciones, el pronóstico que se deduce del estudio hemo-leucocitario tiene mas importancia, que el pulso, temperatura y estado general. Dicho autor formula así su hemo-pronóstico: si al dia siguiente ó subsiguiente de la inyeccion de suero, el 60% de los leucocitos del niño son polinucleares, pronóstico favorable, sea cual fuese la temperatura, pulso y estado general.

Si en un niño de tres años, se encuentra que á pesar de la inyeccion de suero, los leucocitos polinucleares están representados por el 50%, el pronóstico es malo; si esa cifra es aún inferior, y la temperatura permanece elevada, y se encuentran en la sangre formas intermediarias, pronóstico fatal, aunque parezca que el estado general mejore.

Valor diagnóstico.—Reproduciremos aquí las conclusiones á que llega el Dr. Jakob en el trabajo anteriormente citado: "La constancia de estas reacciones de leucocitosis nos permiten disponer de un nuevo elemento de gran importancia para el diagnóstico diferencial entre neumonia y meningitis, por un lado, y tuberculosis miliar y fiebre tifoidea por

otro, en los primeros dias de la afección, cuando los signos diferenciales faltan casi por completo.

Igual cosa pasa con el diagnóstico diferencial entre escarlatina y sarampión en el comienzo de una epidemia. La misma importancia tiene el estudio de la leucocitosis para el diagnóstico diferencial entre la piohemia y la septicemia."

Fáltanos agregar que el estudio de la leucocitosis típica de cada enfermedad debe hacerse cuando no existen complicaciones.

Preparaciones microscópicas — *Métodos de fijación y de coloración — Técnica.*

Los leucocitos pueden observarse al microscopio en preparaciones frescas de sangre recientemente extraida; pero cuando se desee conservarlas durante algún tiempo y diferenciar en ellas las distintas granulaciones, será necesario fijarlas.

Como ya se ha indicado al tratar de los glóbulos rojos, las preparaciones frescas se obtienen depositando una gota de sangre sobre un porta objeto ó una célula á rigole y recubriéndola. Al hacer estas preparaciones puede agregarse á la sangre, una gota de la solución 0.25 % de cloruro sódico, apenas coloreada con violeta de metilo; de este modo, se tiñen los núcleos de los leucocitos, lo que permite apreciar mejor su forma, el protoplasma se hincha y las granulaciones se hacen más evidentes.

Las preparaciones secas se obtienen del modo siguiente: se deposita una pequeña gota de sangre

sobre un cubre objeto y se comprime con otro, se separan despues por deslizamiento, y se dejan al aire. Al cabo de 5 ó 10 minutos, cuando la capa de líquido se ha secado perfectamente, se fijan. Para ello, puede emplearse el procedimiento de Ehrlich que consiste en colocarlos en una estufa á 120.° C. durante 10 á 12 horas; ó bien dejar las preparaciones espuestas de diez ó veinte segundos á los vapores de una solución 1 % de ácido ósmico ó sumerjirlas durante $^1/_4$ á $^1/_2$ hora en el líquido de Nikiforow (mezcla de partes iguales de alcohol y eter) ó bien, dejandolos durante 5 á 10 minutos en una solución alcoholica de formol al $^1/_{10}$ (Engel.)

Fijadas las preparaciones, se colorean después con soluciones de composiciones distintas según las granulaciones que se deseen evidenciar.

Para colorear los eosinófilos, se dejan los cubres 2 ó 3 horas en una solución concentrada de eosina en glicerina, se sacan, se lavan con agua destilada, se dejan secar y se examinan en bálsamo del Canadá.

Los eosinófilos y los glóbulos rojos aparecen con coloración rojo viva, mientras que el protoplasma de los leucocitos, es apenas ligeramente rosado.

Puede emplearse también los líquidos de Ehrlich cuyas composiciones son:

Solución glicérica saturada de aurancia 10 gr.
Glicerina pura . . . . . 2 »

Negro de anilina y eosina hasta saturación—Debe filtrarse antes de usarla.

Aurancia . . .	a a 2 grs.
Indulina. . . .	
Eosina	
Glicerina . . .	30 grs.

Para colorear las granulaciones basófilas, se dejan las cubres $^1/_4$ de hora en una solución acuosa concentrada de azul de metileno, se lava, seca y se monta en balsamo del Canadá.

Los núcleos de los leucocitos y las granulaciones basófilas, se tiñen de color azulado.

Si se deseara colorear solamente las granulaciones basofilas γ de las mastzellen, se puede emplear la solucion recomendada por Ehrlich:

Solucion saturada de Dalhia en alcohol absoluto.	50 gr.
Agua destilada	100 gr.
Acido acético glacial	10 á 12.5 cm^3

El cubre se deja 2 á 3 horas en esta solucion, se lava después con agua destilada, alcohol, se seca y se monta.

Si se quieren poner de relieve todos los variados elementos de una preparacion, es necesario emplear líquidos que den coloraciones múltiples.

Con este objeto, Canon recomienda el líquido de Chenzinscky:

Solucion acuosa concentrada de azul metileno 40 gr
Solucion $^1/_2$ % de eosina en alcohol . . . . 20 gr
Agua destilada . . . . . 40 gr

o bien:

Eosina soluble . . . . . 0.50. gr.
Solucion acuosa concentrada azul
de metileno. . . . . 100 gr.
Alcohol absoluto. . . . . pocas gotas
—Fíltrese antes de usar.—

Los cubres se dejan 3 á 6 horas en estas soluciones, se lava etc.—Los glóbulos rojos y los eosinofilos, se colorean de rojo vivo, los basofilos y los núcleos de azul.

El mismo resultado se consigue si se dejan los cubres dos minutos en una solucion alcoholica de $^1/_2$ gr % de eosina, lavarlos, y después 5 á 10 minutos en otra solucion acuosa concentrada de azul de metileno—se lava, seca y monta.

Para colorear además de estos elementos, también las granulaciones neutrofilas, se emplea la mezcla triácida de Ehrlich:

Solucion acuosa saturada de Orange . . 120 gr.
Solucion acuosa de fucsina . . . . . 80 gr.
id. acuosa de verde de metilo . 100 gr.
Agua destilada. . . . . 300 gr.
Alcohol absoluto . . . . . 180 gr.
Glicerina . . . . . 50 gr.

No debe agitarse la mezcla—y toda vez que se haga uso de ella, debe sacarse el líquido con una pipeta de las capas más superficiales.

El líquido Ehrlich—Biondi que es una modificacion del anterior se prepara del modo siguiente:

Se hacen previamente tres soluciones acuosas saturadas de verde de metilo, fuchsina S y Orange; se agitan, se dejan depositar algunos días, y de ellas se toman.

Orange. . . . . 100 gr.
Fuchsina. . . . 20 gr.
Verde metilo. . 50 gr.

Se dejan los cubres en estas soluciones de 3 á 5 minutos, se lava etc.

Los glóbulos rojos aparecen amarillos; los eosinofilos, rojos; los neutrófilos, violetas y los núcleos de color azul verdoso.

Para las investigaciones clínicas se emplea generalmente el líquido de Nikiforow, para fijar las preparaciones y se colorea con la mezcla de Chensinscky.

Octubre 12, 1900.

JULIO R. GARINO.

Índice de los trabajos consultados

Ascoli G.—Studi emoalcalimetrici (Cl. Med. Ital. nº. 4 1899)

Amicis P y D. Pacchioni—(Cl Med. Ital. nº. 1-1899).

Braibauti—Il peso específico del sangue nella clorosi (Cl. Med. Ital. n.º 5—1899.)

Bezredka—Leucocytose dans la difterie (An. Institut Pasteur —1898.)

Brouardel—Traité de medicine—1899.

Bizzózzero—Microscopia Clínica.

Bolletino delle sedute della Accademia Gioenia di Scienze naturali—Catania—1895—96—97—98—99—900.

Caccia G.— Sulla diminuzione dei leucociti nel sangue dei morbillosi—(Cl. Med. Ital. n.º 5—1900.)

Devoto L.—Manuale di Tecnica Medica.

Dominici—(La presse Medicale 1900.)

Gazzetta degli Ospedali e delle Cliniche (1896—97—98 —99 1900.

Hénocque A.—Spetroscopie Biologique,

Hugouneng L.—Precis de Chimie Physiologique et Pathologique—1897.

Jakob C.—Estudio sobre el estado de la leucocitosis en las enfermedades infecciosas—(Revista de la Sociedad Médica Argentina—Julío—1900.)

Jaksch R. —Diagnostic des Maladies Iuternes.

Lambranzi R.—Ricerche fisiologiche sull' alcalinitá del sangue. (Cl.—Med. Ital. n.º 6—1899.)

Labadie—Lagrave—Traité des Maladies du Sang. 1893.

Laboratoire D' Histologíe du Collége de France. 1898 y 99·)

Marchesini. R.—Sulla Natura del sangue clorótico e sulla causa che lo determina (Cl. Med. Ital. n.º 10—1899.)
Meunier.—De la leucocytose dans la coqueluche—(Arch. de Med. des Enfants n.4—1898.)
Riva A.—Sulla capacitá hemoglobínica dei glóbuli rossi colorabili col bleu di metilene—Cl. Med. Ital. n.º5190.)
Silvestrini R.—Flora U.—Ricerche chimiche, microscopiche batteriologiche utili nella practica medica. 1898.
Tarchetti—Per l' esame del sangue coll apparechio di Bizzozero (Cl. Med. Ital n.1—1898.)
id—Contributo allo studio dalla sostanza iodofila dei globuli bianchi (Cl. Med. Ital. n.ºe10—1899.)
Trambusti A.—Leucociti, leucocitosi e leucocitemie.
Valenti A.--Elemeti di Ematologia Patológica Generale--1899.
Vincent—La Leucocytose dans la Malaria (An. de l' Institut Pasteur. 1899.)

PROPOSICIONES ACCESORIAS

Los procedimientos hemo-alcalimétricos actuales tienen escaso valor en su aplicación clínica.

El examen espectroscópico de la sangre tiene mucha importancia en los casos de muerte aparente.

En todo trabajo de micrografia, las únicas láminas que pueden servir para juzgarlos, son las microfotográficas.

Buenos Aires, Octubre 18 de 1900.

Nómbrase á los señores Académico Dr. Eliseo Canton, Profesor titular Dr. Rodolfo de Gainza y Profesor suplente Dr. José Badía, para que constituidos en comisión, se sirvan dictaminar respecto de la admisibilidad de esta tésis.

ENRIQUE DEL ARCA.
Luis M. Acuña.

Buenos Aires, Octubre 30 de 1900.

SEÑOR DECANO:

Transcribo á continuación el acta labrada con motivo de la tésis del Sr. Julio R. Garino.

«En el local de la Facultad á de «1900, reunida la comisión que subscribe, encargada «de dictaminar respecto de la admisibilidad de la «tésis del ex-alumno Sr. Julio R. Garino que versa «sobre *Técnica de Investigaciones sobre la Sangre*, «resolvieron admitirla. Con lo que terminó el acto.— «Fdos.: Eliseo Canton, Rodolfo de Gainza, José Badía—Zenón Aguilar, *Prosecretario*.

Luis M. Acuña.

Buenos Aires, Octubre 30 de 1900.

Entréguese esta tésis al interesado para su impresión, fijándose el día en que haya de ser sostenida.

ENRIQUE DEL ARCA.
Luis M. Acuña.