

169315



169315

MEMORIA DESCRIPTIVA

---

Correspondiente a la solicitud de registro de una patente de invención que, por veinte años, se solicita para España y sus Colonias, a favor de Don Gregorio BAQUERO GIL, de nacionalidad española, residente en Madrid, calle de Viriato número 60,-----

p o r

" PROCEDIMIENTO SIMPLIFICADO DEL METODO SERO-DIAGNOSTICO "

---

5 Uno de los métodos de mayor aplicación en el diagnóstico de ciertas enfermedades infecciosas, especialmente la fiebre tifoidea, las enfermedades paratíficas, la fiebre ondulante y el tifus exantemático es la reacción sero-diagnóstica de aglutinación, llamada así porque se realiza con el suero del enfermo con un fin diagnóstico y porque el resultado de la reacción se percibe precisamente por la aglutinación más o menos ostensible de las bacterias enfrentadas con el suero.

10 El fundamento de éste método diagnóstico fué descubierto en el año 1896 por GRUBER Y DURHAM, quienes observaron el hecho de que cuando mezclaban suero de enfermo de fiebre tifoidea con una fina suspensión de las bacterias juntamente productoras de ésta enfermedad se producía en la mezcla y después de un cierto tiempo de



169315

15 contacto la aglomeración de grumos de dichas bacterias, grumos que  
por efecto de su peso iban sedimentando lentamente. Al observar --  
que cuando enfrentaban la misma suspensión de bacterias con sueros  
de sujetos sanos o de enfermos de otros procesos no se producía --  
tal aglutinación dieron en la hipótesis de que en el curso de aque-  
llas enfermedades se producirían unas sustancias llamadas anti-  
20 cueros, aglutininas, cuyo descubrimiento podría utilizarse en ca-  
da caso para sentar el diagnóstico del proceso.

Y así, desde entonces, viene utilizándose en la práctica éste  
método con el fundamento técnico siguiente: en una serie de tubos  
de ensayo se hace una serie de diluciones del suero en el que se --  
25 quieren investigar las aglutininas añadiendo después a cada uno --  
una cierta cantidad de la suspensión bacteriana que interese en ca-  
da caso. En los positivos, es decir, en aquellos que el suero tiene  
aglutininas correspondientes, se produce la aglutinación de las bac-  
terias, pero, además, se produce a tanto más alta dilución del sue-  
30 ro cuanto mayor sea el contenido en aglutininas de éste.

Para la práctica de la reacción se necesitan las suspensiones  
de bacterias apropiadas para cada caso. Estas suspensiones se ob-  
tienen a partir de medios de cultivo donde hayan prosperado las --  
bacterias en cuestión hasta encontrarse en cantidad suficiente pa-  
35 ra ser incorporadas a un medio líquido como el suero fisiológico  
donde luego de una más o menos intensa agitación resultan incorpora-  
das y suspendidas.

El método ideal de obtención de estas suspensiones es el de --  
practicar cultivos de la sangre de individuos afectados por la bac-  
40 teria que se interesa captar. Una vez aislada conseguir cultivos --  
prósperos para obtener material microbiano suficiente. En estas --  
condiciones es preciso probar la sensibilidad de la suspensión --  
frente a sueros positivos y negativos porque no todas las cepas mi-  
crobianas aisladas reaccionan del mismo modo. Y, en último término,  
45 es preciso comprobar la especificidad reaccional de la suspensión,



169315

es decir, que no sea aglutinada más que por los sueros que tengan las aglutininas correspondientes no siéndolo ni por los sueros -- normales ni por los de sujetos que padezcan otros procesos.

50 Este método ideal de obtención y comprobación de las suspensiones adecuadas para estas reacciones no puede llevarse a cabo -- más que en determinados centros hospitalarios donde se disponga -- de enfermos en condiciones apropiadas para la captación de las -- bacterias en cuestión y todo el material preciso de un buen departamento de bacteriología.

55 En la práctica ordinaria los médicos que practican estas reacciones se sirven de unas suspensiones expandidas por la industria de productos biológicos. Estas suspensiones no suelen reunir las -- condiciones mínimas apetecidas por varias razones: en primer término, por no partir para su preparación de cepas microbianas recientemente aisladas de enfermos sino de cepas mantenidas en el --  
60 laboratorio a través de cultivos y subcultivos; en segundo lugar, porque las suspensiones no conservan indefinidamente sus prísti-- nas características sino que, por el contrario, las van perdiendo gradualmente con el envejecimiento hasta hacerse o totalmente inservibles o totalmente inespecíficas.

65 Se considera actualmente como un hecho científico incontrovertible que las cepas microbianas vivas mantenidas a través del cultivo en medios artificiales luego de mayor o menor tiempo en -- relación con la cepa y con las condiciones del cultivo verifican una mutación que las hace totalmente inservibles a los efectos de su capacidad reaccional tanto "in vivo" como "in vitro".

70 Esta es la razón de que todo médico de experiencia compruebe en la práctica la gran frecuencia de resultados positivos en enfermos que no tienen el proceso correspondiente o, por el contrario, la no menor de resultados negativos en enfermos efectivos -- del proceso que se buscaba.

La observación de GRUBER y DURHAM es totalmente cierta pero



169315

siempre que se utilicen suspensiones microbianas realizadas a ex-  
pensas de cepas en condiciones de sensibilidad y especificidad -  
perfectas; condiciones que no pueden poseer más que las practica-  
das con cepas recientemente aisladas y debidamente controladas.

La experiencia en la bacteriología clínica de los procesos  
para los que se utiliza corrientemente la reacción de aglutina-  
ción registra el hecho de que la desecación de suspensiones muy  
concentradas de bacterias recientemente aisladas no solo no modi-  
fica las condiciones de sensibilidad y especificidad de la sus-  
pensión para reaccionar frente a los sueros correspondientes si-  
no que, por el contrario, las conserva inalteradas durante tiem-  
po indefinido. La desecación de la suspensión microbiana evita -  
a la vez la contingencia de la cepa viva de sufrir la mutación -  
que la hace inservible a los efectos serodiagnosticos y la alte-  
ración de las suspensiones muertas y conservadas que las conduce  
al mismo resultado.

Esta observación permite en la práctica desecar suspensiones  
bacterianas para obtener un polvo microbiano apto para la prepa-  
ración de nuevas suspensiones en el momento que interese utili-  
zarlas. Es claro que si la desecación se efectuó luego de un rigu-  
roso control de la cepa microbiana recientemente aislada las re-  
suspensiones efectuadas a base del polvo bacteriano, sea cual-  
quiera el tiempo transcurrido, gozarán de las mismas calidades -  
que la suspensión primitiva. Pero la observación no se limita a  
éste hecho. En los laboratorios de bacteriología se conoce con -  
el nombre de aglutinación de orientación a la que se realiza so-  
bre la superficie de un porta-objetos mezclando con el asa de --  
platino una gota de la suspensión microbiana, bien partiendo de  
una suspensión ya preparada o bien preparándola sobre el mismo -  
porta-objetos, con una gota del suero en el que se quieran inves-  
tigar las aglutininas. El proceder es válido tanto para identifi-  
car un suero partiendo de una cepa microbiana conocida como para  
identificar una cepa microbiana con un suero de aglutininas cono-



69315

- 5 -

115 cidas. Ampliando la observación de que la desecación de la suspensión microbiana conservas inalteradas las condiciones reaccionales de la misma se han hecho distintos ensayos encaminados a obtener gotas de suspensión desecada sobre el porta-objetos capaces de reaccionar sensible y, específicamente luego de pasado el tiempo de preparados. Y así, luego de obviar un buen número de dificultades, partiendo de cepas microbianas recientemente aisladas y perfectamente controladas en cuanto a su funcionamiento, se cultiva en determinados medios hasta obtener concentraciones muy ricas en bacterias, suspensiones que, por centrifugación, permiten obtener una pasta microbiana que es la que se deseca en forma de gotas sobre la superficie del porta-objetos. La desecación se efectua a temperatura de 37°.

125 El porta-objetos con gotas de la suspensión microbiana desecada conserva sus condiciones de reaccionabilidad frente a sueros positivos y negativos del mismo modo que el polvo bacteriano resultante de la desecación de las suspensiones antedichas.

130 Este procedimiento reúne las ventajas de permitir la conservación indefinida de la suspensión microbiana y la de poder realizar una aglutinación de orientación practicamente a la cabecera del enfermo.

135 La práctica de la reacción queda limitada a la extracción de una pequeña cantidad de sangre del enfermo en el que queremos investigar las aglutininas, a tomar una simple gota del suero con el asa de platino enfrentándola con la resuspensión practicada sobre la gota desecada del porta-objetos con otra gota de agua corriente; mezclando íntimamente a favor de los movimientos circulares del asa si el suero contiene las aglutininas correspondientes aparecerán los flóculos de la aglutinación perfectamente visibles a simple vista; si el suero no contuviere tales aglutininas la suspensión queda perfectamente intacta.

140 El procedimiento consiente una investigación de técnica sencillísima de tipo serodiagnóstico, manejando antígenos que reúnen



169315

145

las condiciones adecuadas para este tipo de reacciones y sin riesgo alguno para el médico investigador. La vitalidad de las bacterias desecadas sobre el porta-objetos se pierde antes de las veinticuatro horas de su preparación.

150

Habiendo descrito y detallado con toda amplitud la naturaleza del invento, debe hacerse constar que las expresiones escritas anteriormente son susceptibles de modificación de detalle sin que por ello se altere el principio fundamental del invento.

N O T A

155

EN RESUMEN: La patente de invención que, por veinte años se solicita, para España y sus Colonias, ha de recaer sobre las siguientes reivindicaciones:

160

1ª:- PROCEDIMIENTO SIMPLIFICADO DEL METODO SERO-DIAGNOSTICO que se caracteriza por emplear en lugar de suspensiones bacterianas ordinarias, que por el tiempo pierden su capacidad reactiva, suspensiones muy concentradas y desecadas de bacterias recientemente aisladas, que conservan indefinidamente sus propiedades frente a los correspondientes sueros sanguíneos, con lo que se evita, al mismo tiempo, que la cepa viva sufra la mutación que la hace inservible.

165

2ª:- PROCEDIMIENTO SIMPLIFICADO DEL METODO SERO-DIAGNOSTICO según reivindicación anterior, que se caracteriza porque para obtener las suspensiones bacterianas desecadas, se cultivan bacterias controladas en cuanto a sus características, en determinados medios apropiados, hasta obtener concentraciones muy ricas en bacterias, obteniéndose de ellas por centrifugación una pasta microbiana que se deseca, en forma de gotas sobre la superficie del porta-objetos a la temperatura de 37° C.

170

175

3ª:- PROCEDIMIENTO SIMPLIFICADO DEL METODO SERO-DIAGNOSTICO según reivindicaciones anteriores, que se caracteriza porque para su utilización se mezcla la gota microbiana desecada, que se coloca en el porta-objetos, con otra gota de agua corriente para



169315

180 practicar una resuspensión y después se toma con el asa de plati  
 no una simple gota de suero de la sangre extraída al enfermo, --  
 agitando el conjunto con el asa para que sus movimientos circula  
 res produzca una mezcla íntima, con lo que si el suero contiene  
 los anticuerpos correspondientes a las bacterias, aparecerán los  
 flóculos de aglutinación, apreciables a simple vista, o si el --  
 suero no los contiene permanecerá intacta la mezcla, lo que per  
 mite el diagnóstico con mayor seguridad y sin peligro alguno pa  
 ra el médico.

185 4º:- Por último, se reivindica como objeto sobre el que ha  
 de recaer la patente de invención que se solicita, por veinte --  
 años, para España y sus Colonias,-----

P O R

" PROCEDIMIENTO SIMPLIFICADO DEL METODO SERO-DIAGNOSTICO "

190 Todo conforme queda expresado en la presente Memoria descrip  
 tiva que consta de siete páginas escritas a máquina por una sola  
 cara.

Madrid, 22 de Marzo de 1.945.

P. A,

PEDRO FELIU MANA  
P. P.