

### CAPITULO III

## INVESTIGACIONES PERSONALES. — PROCEDIMIENTOS EMPLEADOS

### *Soluciones utilizadas*

Al iniciar este trabajo, nos informamos que la reacción de Mester se hacía con una solución de ácido salicílico al 1 %.

Este dato debieron sacarlo de un artículo al respecto, publicado en La Presse Medicale, N.º 33 (suplemento 1936, pág. 79), donde dice que la solución empleada por el autor de la reacción es al 1 % de ácido salicílico.

Con el fin de trabajar con mayor seguridad, consultamos el trabajo original de Mester titulado: "Reacción específica inmunobiológica para el reumatismo", donde nos informamos de que la concentración de la solución, en ácido salicílico, es al uno por mil.

Según los tratados de Química, el ácido salicílico tiene una solubilidad de 1 en 500 de agua fría. Al preparar la solución, hemos comprobado que no lo es, ni al 1 en 1.000.

Hemos colocado 0.10 gramos de ácido salicílico, perfectamente pesados en balanza de precisión, en un matraz aforado de 100 centímetros cúbicos, añadiendo agua destilada sin llegar al enrase. Hemos dejado dos días, agitando continuamente, y no se obtuvo la solubilidad de las agujas de ácido salicílico, en vista de lo cual fué necesario colocar el matraz con su contenido, en baño-maría, durante 15 ó 20 minutos, sin dejar de agitar el matraz, con lo cual se obtuvo la solubilización completa de toda la cantidad del ácido salicílico utilizado .

Se ha trabajado con soluciones de p.H conocido (por motivos que más adelante explicaremos), habiendo elegido para tal determinación el método electrométrico por ser uno de los más exactos.

El aparato empleado fué el citoionímetro de F. y M. Lautenschläger según Kordatzki con electrodo de calomel, haciendo la determinación frente a la quinhidrona.

Han sido hechas las determinaciones tomando todas las precauciones del caso: observación de la temperatura, corrección correspondiente; contralor del aparato, con la solución tipo que se toma para tal efecto, siendo ésta una solución aceto-acética de p.H = 4.62 a 18 grados C.

Se han hecho tres determinaciones para cada solución, a fin de que el dato fuera lo más preciso posible. El promedio obtenido de estas tres lecturas fué de 2.84, vale decir, que la solución de ácido salicílico al uno por mil con que se ha trabajado, tenía un p.H = 2.84.

Esta solución fué luego filtrada por papel de buena calidad y envasado en ampollas de un centímetro cúbico, esterilizando luego en autoclave a 120 grados, durante 20 minutos.

*Solución de salicilato de sodio.* — El autor explica la acción del ácido salicílico en su reacción, por una probable sensibilización del organismo reumático a la constitución química del ácido salicílico.

El salicilato de sodio, como sal que es del ácido salicílico, tiene su mismo anión (radical salicílico), por tanto, constituciones químicas muy semejantes. Además, es el salicilato de sodio el que se administra en el tratamiento de las enfermedades reumáticas.

Por las razones enumeradas, lo hemos elegido para preparar una solución equivalente a la empleada en la reacción de Mester, pues de acuerdo a lo expuesto, podría sustituirse uno por otro: ácido salicílico, por salicilato de sodio, y los resultados deberían ser los mismos.

De acuerdo a los cálculos efectuados, una solución de salicilato de sodio al 0.128 gramos por mil equivale, molecularmente, a una solución de ácido salicílico al 1 por mil.

Se ha tomado 0.128 gramos de salicilato de sodio pesado en

balanza de precisión, y colocado en matraz aforado de 100 centímetros cúbicos, añadiendo agua destilada hasta el enrase, y agitando algunos minutos se obtuvo la solubiliazación completa del salicilato de sodio empleado. Se filtró por buen papel, y con esta solución se llenaron ampollitas de un centímetro cúbico, de vidrio color caramelo, pues el salicilato de sodio se altera por acción de la luz. Se cerraron las ampollas y esterilizáronse en autoclave a 120 grados durante 20 minutos.

También se ha preparado una solución de salicilato de sodio, de doble concentración que la anterior. Para ello se ha disuelto 0.256 gramos de salicilato de sodio en 100 centímetros cúbicos de agua destilada, procediendo igual que anteriormente, hasta la obtención de ampollas inyectables.

El motivo que nos indujo a preparar tal solución, fué la protesta de los enfermos ante el número de inyecciones (cinco intradérmicas) que hay que efectuar.

Braghin soluciona este problema, haciendo dos o tres inyecciones, con lo cual inyecta menor cantidad de ácido salicílico, que la propuesta por Mester.

En lugar de hacer ésta, se pensó, que duplicando la concentración de la solución, podría reducirse a la mitad el número de inyecciones, sin correr el riesgo de disminuir la cantidad de ácido salicílico a inyectar, propuesta por el autor para su reacción.

*Solución de ácido acético.* — Podría deberse el resultado obtenido en la reacción de Mester, a la naturaleza ácida de la sustancia inyectada, y no al radical salicílico. En tal caso debería obtenerse idénticos resultados con cualquier otra solución de igual acidez. Se ha empleado para investigarlo, el ácido acético, por tratarse de un ácido orgánico débil, de constitución completamente distinta al ácido salicílico (ácido acético: cadena abierta; ácido salicílico: cadena cerrada) para alejar la posibilidad de que sea la constitución química de la sustancia, semejante a la del ácido salicílico, la que está actuando.

Para investigar si la solución actúa por su acidez en el mecanismo de la reacción, hemos determinado el p.H de la solución de

ácido salicílico empleada, para poder preparar, así también, la solución de ácido acético, de igual p.H. Se ha buscado cuál era la concentración de ácido acético en agua, que daba un p.H. aproximado a 2.84, y se encontró que correspondía a una solución de 0.316 gramos de ácido acético por ciento.

Hecha la solución, y determinado su p.H (siempre electrométricamente) resultó ser menor, en vista de lo cual fuimos haciendo diluciones sucesivas y nuevas determinaciones de la acidez de cada solución, hasta que al diluir 75 centímetros cúbicos de la solución de ácido acético al 0.316 gramos por ciento, en 25 centímetros cúbicos de agua destilada, se obtuvo el p.H deseado (2.84).

Con la solución obtenida se prepararon las ampollas inyectables, observando los mismos detalles que para las anteriores.

*Jeringa y agujas empleadas.* — Para inyectar la solución hemos usado una jeringa de 1 centímetro cúbico graduada al centésimo, por la ventaja que ofrece, de medir con exactitud, fracciones de 1 centímetro cúbico, pues hay que tener en cuenta que deben hacerse cinco inyecciones intradérmicas de 0.20 centímetros cúbicos cada una.

La aguja empleada puede ser la especial para inyecciones intradérmicas, pero también puede usarse cualquier aguja fina, de bisel corto. Esta última nos resultó más cómoda.

*Técnica de la reacción.* — El paciente debe estar en ayunas, si es posible, hasta privarle beber, para eliminar la posibilidad de un error fisiológico. Acostado, por igual motivo que anteriormente y con el brazo extendido sobre una almohada, para manipular con mayor facilidad.

Cuando no se pudo hacer la reacción estando el paciente acostado, se tomó la precaución de hacerlo sentar cómodamente, dejándolo descansar durante 15 ó 20 minutos, descartando la fatiga que hubiera podido ocasionarle el movimiento. Demás está hacer constar que el enfermo debe estar en esa posición: acostado, o cómodamente sentado, durante todo el tiempo que dure la ejecución de la reacción.

En estas condiciones se procede a extraer la gota de sangre del pulpejo del dedo, preferentemente por medio de la aguja de Francke, pues según el autor es conveniente efectuar, tanto la punción previa, como las dos sucesivas, con la misma longitud de aguja. Esto tiene por objeto, el obtener la sangre, siempre, de más o menos la misma profundidad. Con una simple aguja de inyección o una pluma de acero, que suelen utilizar para estas funciones, no podría obtenerse ese resultado.

La sangre utilizada para efectuar los tres contagos que integran la reacción, hemos procurado que fuera siempre, del mismo dedo.

Se ha hecho la punción, tomando el dedo en su extremidad, efectuando una presión para que se ingurgite de sangre, desinfectando con alcohol-éter, y esperando que se seque completamente, para hacer recién la punción.

Esperando a que la sangre fluya espontáneamente y desechando la primera y segunda gota, para utilizar las obtenidas a partir de la tercera.

Nunca se ha utilizado sangre obtenida ejerciendo presión sobre la punción practicada, pues de este modo se provoca la salida de sangre estasiada, con gran cantidad de glóbulos rojos y hemoglobina, variando por lo tanto, la concentración normal de sus elementos.

Las pipetas mezcladoras (para glóbulos blancos) empleadas para la dilución de la sangre, se ha tenido siempre la precaución de que no tuvieran astillada su extremidad, pues se despuntan con gran facilidad, saltándoseles pequeñas astillitas de vidrio, lo cual hace variar su capacidad. Ello puede ser motivo de error, máxime teniendo en cuenta la ínfima cantidad de sangre que se toma para hacer la dilución para el contagio globular.

Otra precaución importante, es que estuvieran completamente limpias, bien secas y que nunca estuviera adherida a las paredes, la perlita de vidrio que lleva en su interior la parte dilatada de la pipeta.

La sangre ha sido aspirada hasta enrasar perfectamente la división 0.5 del capilar, evitando siempre la penetración de burbujas

de aire. La dilución se ha hecho con líquido Türk, aspirando hasta la división 11 de la pipeta, y removiendo continuamente en el transcurso de la penetración del líquido para obtener la mezcla de éste con la sangre.

Para hacer el recuento globular se ha usado la cámara de doble retículo de Thoma-Zeiss, adhiriendo el cubre-objetos a la cámara hasta ver aparecer y persistir en los dos bordes laterales de éste, los anillos coloreados de Newton.

Antes de llenar la cámara hemos agitado enérgicamente la pipeta mezcladora con su contenido, durante dos o tres minutos, a fin de obtener la mezcla perfecta de la sangre y el líquido de dilución.

Deshechando las primeras gotas de la sangre así obtenida, hemos colocado una pequeña gota entre uno de los bordes libres del cubre-objetos y la cámara, llenándose así, por capilaridad.

El contage y cálculos correspondientes se efectuaron siguiendo la técnica del autor (Thoma) y tomando como resultado el promedio de cuatro contages para cada determinación.

Una vez obtenido el material para el primer recuento globular, se procede a inyectar el líquido reactivo.

Las inyecciones se hacen en el antebrazo, en su cara palmar, aproximadamente a un centímetro una de otra. Se inyecta un centímetro cúbico de solución acuosa de ácido salicílico al uno por mil, repartido en cinco inyecciones intradérmicas, resultando de 0.20 centímetro cúbico cada una.

A la media hora, y luego a la hora de haber inyectado el líquido, se hacen nuevos recuentos globulares, siguiendo la misma técnica y observando los mismos detalles que para el primero.

En un número reducido de enfermos se ha seguido una pequeña variación de la técnica del autor, realizada por Tapella, quien sólo hace dos recuentos leucocitarios: uno previo a la inyección del líquido, y el otro a los 45 minutos de verificada ésta. Este autor introduce tal variación porque dice que le parece un tiempo medio (entre 30 y 60 minutos) que descubrirá muy bien las variaciones normales y tardías.

Para experimentar con las distintas soluciones inyectables cuya preparación mencionamos antes, se ha ido tomando distintos grupos de enfermos.

Un grupo de reumáticos (niños en su casi totalidad) en los cuales se siguió estrictamente la técnica del autor (Mester), inyectando la solución de ácido salicílico al 1 por mil.

Otro grupo de enfermos de distintas enfermedades (también casi todos niños), en que la reacción fué hecha siguiendo a Mester. Esto fué hecho como contralor.

Un tercer grupo de reumáticos en los que la reacción se hizo inyectando la solución de salicilato de sodio, de concentración equivalente a la de ácido salicílico empleada por Mester, siguiendo, por lo demás, la misma técnica.

Un cuarto grupo de enfermos de distintas enfermedades, en que la reacción se hizo exactamente igual que en el tercer grupo; ésto se hizo como contralor.

En un cierto número de enfermos reumáticos y no reumáticos se ha inyectado la solución de salicilato de sodio de concentración equivalente al doble de la de ácido salicílico empleada por Mester.

Se hicieron dos inyecciones intradérmicas de 0.25 centímetros cúbicos cada una, que corresponde a la cantidad (en ácido salicílico) propuesta por Mester.

En el quinto grupo formado por enfermos reumáticos y uno no reumáticos, se hizo la reacción inyectando la solución de ácido acético de p.H igual a la de ácido salicílico al uno por mil y también repartiendo el centímetro cúbico en cinco inyecciones intradérmicas, de 0.20 centímetro cúbico cada una.

### *Investigaciones adicionales*

El autor encontró que hay variaciones en el número de leucocitos, debido a la introducción de ácido salicílico en el organismo reumático. Cabría preguntarse si hay también variaciones en el resto del cuadro hemático: hemoglobina, glóbulos rojos, fórmulas leucocitarias, relativa y absoluta, eritrosedimentación y valor globular; tal es lo que hemos tratado de indagar.

Estos valores se han determinado en los enfermos en que se hizo la reacción de Mester, aprovechando para ello, la misma inyección salicélica. En unos, se hicieron los análisis antes y a la media hora, y antes y a la hora de la inyección en otros.

*Hemoglobina.* — Su determinación se hizo por el método colorimétrico, usando el aparato más generalizado que es el de Sahli-Leits. Aspirando sangre del pulpejo del dedo hasta la señal de la pipeta que trae el aparato, introduciéndolos (una vez limpiada la punta) en el tubo graduado que tiene solución décimonormal de ácido clorhídrico hasta la división 10, y enjuagándola dos o tres veces con la solución sobrenadante de ácido clorhídrico, a fin de que la pipeta quede sin los menores rastros de hemoglobina. Agitando luego muy bien el tubo, pues de lo contrario se forman grumos oscuros y ésto no puede emplearse para la determinación. Después de por lo menos un minuto de ésto, añadiendo agua destilada gota a gota, hasta que la coloración sea igual a la de las varillas testigos, se lee en el tubo graduado la división que corresponde a la parte inferior del menisco, dando esta cifra el tanto por ciento de hemoglobina.

*Recuento de glóbulos rojos.* — Se siguió la misma técnica que para el recuento de glóbulos blancos, pero usando la pipeta mezcladora para glóbulos rojos. El líquido de dilución empleado en este caso, fué solución fisiológica al 8.5 por mil (solución de cloruro de sodio al 8.5 por mil).

*Fórmula leucocitaria relativa.* — La determinación de la hemoglobina, glóbulos rojos y eritrosedimentación se ha hecho sólo en un cierto número de enfermos. Lo que se hizo conjuntamente con la casi totalidad de las reacciones de que consta el trabajo, fué la fórmula leucocitaria relativa, obteniendo también la fórmula leucocitaria absoluta al tener los dos datos que se necesitan para ello: el número de leucocitos por milímetro cúbico y la fórmula leucocitaria relativa.

Para hacer los extendidos de sangre se ha empezado por desengrasar perfectamente los porta-objetos, pues de lo contrario, la extensión de la sangre no se hace con la uniformidad necesaria.



El borde del porta-objetos que se usó para hacer la extensión se cuidó de que fuera bien pulido y biselado a fin de que la sangre no se expandiera de uno a otro extremo del porta-objetos sobre el cual se extendía.

El extendido se hizo con la técnica común. Tomando una gota de sangre no muy grande, con el borde pulido y biselado del porta-objetos, aplicándolo sobre otro porta-objetos, dejando que la gota se extienda por capilaridad, y haciendo la extensión rápidamente. Siempre cuidando de que en el deslizamiento, la gota fuera adherida por detrás del borde del porta-objetos que se deslizaba, pues de este modo se evita en lo posible el aplazamiento y ruptura de los elementos celulares. Se utilizó para la determinación de las fórmulas, sólo los extendidos que reunían las mejores condiciones, pues se hicieron tres o cuatro para cada determinación.

Para evitar confusiones se ha marcado, en la misma sangre extendida, las iniciales del nombre del enfermo a quien perteneciera y además una letra *a* cuando eran los extendidos previos a la inyección,  $\frac{1}{2} h$  los de la media hora de la inyección, y *1 h*, los obtenidos a la hora de la inyección intradérmica.

*Método de coloración* empleado, el de *May-Grünwald Giemsa*. Cubriendo el extendido completamente, con la solución de *May-Grünwald*, vertida por gotas y dejando actuar dicha solución durante tres minutos. Agregando, al cabo de ese tiempo, un número de gotas de agua destilada, igual al de la solución empleada, tratando de distribuirlas bien a fin de que se mezclaran ambos líquidos. Dejando en esas condiciones durante un minuto, escurriendo luego, sin lavar y cubriendo el mismo, con solución diluída de *Giemsa*: una gota de solución por cada centímetro cúbico de agua destilada. Dejando actuar una solución durante quince minutos y lavando luego a fuerte chorro de agua corriente para eliminar los precipitados del colorante; dejando secar la preparación en posición vertical.

Según la mayoría de los autores, de este modo se subsanan los posibles errores, pues se ha demostrado que los linfocitos se distri-

buyen preferentemente en el centro de la preparación, mientras que los polimorfonucleares lo hacen en los bordes.

Se ha contado cien elementos en cada extremo y cieno cincuenta cuando las circunstancias lo requerían, sacando el promedio correspondiente para obtener el porcentaje.

El estudio de la fórmula se ha hecho de acuerdo al hemograma de Schilling. Este autor divide los neutrófilos en dos grupos fundamentales: neutrófilos no lobulados e incompletamente lobulados y neutrófilos completamente lobulados (sean éstos dos, tres, o más lobulaciones).

Distribuye los elementos en este orden:

Meilocitos . . . . . (células con núcleo redondo u oval).  
Metamielocitos jóvenes . . . . . (células con núcleo escotado).  
Metamielocitos adultos . . . . . (células con núcleo en cayado pero  
no segmentado).  
Núcleo segmentado . . . . . (células con núcleo de 2, 3 o más lo-  
bulaciones).

Eosinófilos.

Basófilos.

Linfocitos y

Monocitos.

*Eritrosedimentación.* — Estando influenciado el tiempo de sedimentación de los hematíes por distintos factores, era conveniente hacer su determinación antes y después de la inyección salicilica para investigar si variaba dicho tiempo, y el sentido en que se hacía esta variación.

Nos ha sido imposible obtener un número de casos que permitiera realizar el cálculo estadístico. El inconveniente con que hemos tropezado, radica en el número de punciones que era necesario efectuar, lo que era mal recibido por los pacientes.

Para determinar la eritrosedimentación se ha seguido la técnica usada en todos los laboratorios: La sangre, obtenida por punción venosa y con la jeringa especial para este caso. Esta es de dos centímetros cúbicos de capacidad, con los extremos metálicos, el

émbolo, también metálico, lleva una varita del mismo metal, que, por un mecanismo especial, indica cuando se han introducido los 0.4 c.c. al aspirar la solución de citrato de sodio al 4 %, y que se usa para impedir la coagulación de la sangre. Lo mismo que anteriormente, ocurre al llegar a dos centímetros hasta los que se aspira la sangre.

Agitando bien la mezcla de sangre citratada, se vierte en un tubo bien limpio, se sigue agitando otro momento, aspirando luego la sangre citratada por medio de las pipetas especiales que trae el aparato de Westergreen que se usa para esta determinación.

A la hora, y a las dos horas de haber puesto las pipetas con su contenido sedimentar, se lee en ellas la cifra correspondiente a la división en que la parte plasmática se separa de la parte globular.

Hemos hecho sólo dos lecturas: la de la primera hora y la de las dos horas, pues según todos los autores, las otras carecen de valor.

Con esas dos lecturas se ha calculado el índice de Katz, con la siguiente fórmula:

$$1^{\text{a}} \text{ h.} + \frac{2^{\text{a}} \text{ h.}}{2}$$

$\frac{\quad}{2}$ , es decir, la lectura hecha en la primera hora, más

la mitad de la lectura efectuada a las dos horas, dividido por dos.

*Valor globular.* — Este fué obtenido dividiendo la cantidad encontrada de hemoglobina, por el doble de las dos primeras cifras que expresan el número de hematíes hallado por milímetro cúbico.

---

#### *Influencia del tratamiento antirreumático sobre el Cuadro Hemático completo de reumáticos*

Una inyección intradérmica de ínfimas cantidades de ácido salicílico produce una notable disminución del número de leucocitos

en el organismo reumático y se mantiene igual, o aumenta en el no reumático, según Mester.

Cabe pensar: ¿Qué variaciones tendrán lugar en el cuadro hemático de los reumáticos, y por comparación, en los no reumáticos, bajo la acción del tratamiento salicilado?

Hemos juzgado conveniente hacer esta investigación por dos motivos: 1°. Por si ella pudiera aclarar la acción del salicílico en la reacción de Mester; 2°. Para ver cómo actúa el salicilato sobre en cuadro hemático, así como ha sido hecho este estudio para otras drogas, máxime teniendo en cuenta lo discutida que es la toxicología de los salicílicos.

Con este fin se ha tomado un grupo de enfermos, preferentemente enfermos de Hospital (Hospital de niños), para poder seguir más cerca las alternativas, sin correr el riesgo de interrumpir el curso de las investigaciones, como pudiera ocurrir fácilmente con enfermos del consultorio externo.

Las dosis administradas fueron las aconsejadas por el médico a los efectos curativos de la enfermedad, siendo la dosis media de 0.50 gramos de salicilato de sodio por año de edad, repartida en varias dosis diarias a fin de favorecer la tolerancia de los enfermos para dicho medicamento.

Además de determinar el número de glóbulos rojos y blancos, la eritrosedimentación, valor globular y fórmulas leucocitarias en este nuevo grupo de individuos, se ha investigado también, el tiempo de hemorragia, tiempo de coagulación y número de reticulocitos.

Los análisis efectuados se han distribuido del modo siguiente: análisis previo a la iniciación del tratamiento salicilado de: hemoglobina, glóbulos rojos y blancos, reticulocitos, fórmulas leucocitarias relativa y absoluta, eritrosedimentación, tiempo de hemorragia y de coagulación, y finalmente cálculo del valor globular con los datos suministrados por el valor de la hemoglobina y número de glóbulos rojos por milímetro cúbico.

A los cinco, diez y quince días de iniciado el tratamiento salicilado volvieron a hacerse los análisis respectivos.

*Reticulocitos.* — Para ponerlos de manifiesto es necesario el

uso de las llamadas *coloraciones vitales*, pues la sustancia gránulo-filamentosa toma bien dicho coloración.

De las diversas materias colorantes que se usan para tal fin, hemos adoptado el azul cresil brillante (brillant Kresylblan), en solución alcohólica al dos por ciento.

*Técnica.* — Se extiende con el borde de un porta-objetos bisechado, una gota de la solución anteriormente mencionada, sobre otro porta-objetos bien limpio y desengrasado, tratando de obtener una capa bien delgada. Esta se seca rápidamente por tratarse de una solución alcohólica. Dejando caer sobre ella un cubre-objetos que lleva una pequeña gota de la sangre en examen, la cual se extiende por capilaridad entre ambos vidrios.

Dejando transecurrir media hora por lo menos, se observa al microscopio con lente de inmersión.

El recuento se hizo anotando el número de reticulocitos y el de glóbulos rojos que hay por campo,, recorriendo la preparación hasta obtener el número de reticulocitos correspondientes a 3.000 glóbulos rojos. Se ha hecho el cálculo correspondiente para obtener el porcentaje.

De acuerdo a la distribución de la sustancia gránulo-filamentosa se ha hecho una división de los reticulocitos, en cuatro categorías que pueden reducirse a dos: *Formas en retículo*, en que la sustancia gránulo-filamentosa se distribuye formando un delicado retículo que cubre todo el hematíe, o sólo porciones de él.

*Formas punteadas o granulosas:* en que la sustancia gránulo-filamentosa se distribuye en gránulos que ocupan la periferia (preferentemente) o cualquier punto del hematíe. Oportunamente daremos los valores encontrados para ambas formas.

*Tiempo de coagulación.* — Ha sido determinado por el método corriente: *Método de Milian*. Una gruesa gota de sangre obtenida del pulpejo del dedo, se la recibe en un porta-objetos bien limpio y nuevo para evitar que su superficie esté rayada. Se lo coloca rápidamente en una cápsula de Petri, la que previamente se ha cubierto en su interior con un papel de filtro húmedo.

Se tapa y se lleva a la estufa a 37 grados.

Midiendo el tiempo transcurrido entre este momento y aquel en que empiezan a formarse los filamentos característicos de fibrina lo cual se comprueba mediante una fina varillita de vidrio, se ha obtenido el tiempo de coagulación.

*Tiempo de sangría.* — Método empleado, el de Duke: Punciando el lóbulo de la oreja después de haber realizado la asepsia con un algodón impregnado en alcohol-éter. Absorbiendo la gota de sangre que fluye cada medio minuto, por medio de una tira de papel de filtro, tratando siempre, de no tocar los bordes de la incisión.

Anotando la hora en que se obtuvo la primera gota, y el momento en que el papel de filtro no nos indica señal alguna de sangre.

---

#### *Influencia del tratamiento salicilado sobre el Cuadro Hemático del hombre sano*

Para investigar la acción que tiene en el cuadro hemático del hombre sano la administración continuada de salicilato de sodio, se ha tomado un grupo de diez conscriptos. Esto permitiría la obtención de resultados más uniformes, por el hecho de ser todos más o menos de la misma edad (20 a 21 años), de llevar una misma alimentación, de estar sometidos a los mismos trabajos y ejercicios físicos. Además, debemos hacer constar que guardaron cama durante todo el tiempo que duró la experimentación.

La cantidad de salicilato de sodio administrada, fué la dosis curativa correspondiente a un reumático de su misma edad. Según la dosis media aceptada por los terapeutas, se les dió nueve gramos diarios, fraccionados en ocho dosis parciales. La vía de administración fué la bucal.

En ningún caso durante todo el tiempo que duró la experimentación, se obseró fenómenos de intolerancia.

El orden en que se efectuaron los análisis, fué el mismo seguido en la experimentación sobre los reumáticos, es decir: determi-

nación de los valores de hemoglobina: glóbulos rojos y blancos por milímetro cúbico, reticulocitos, fórmulas leucocitarias relativa y absoluta, eritrosedimentación, tiempo de sangría, tiempo de coagulación, y valor globular.

Todo esto se determinó previamente a la iniciación del tratamiento salicilado, y luego a los cinco, diez y quince días respectivamente de haber sido aquel iniciado.

Los resultados obtenidos en las experimentaciones se han estudiado aplicando el siguiente:

*Método estadístico.* — Con el objeto de hacer un estudio más minucioso hemos hecho el cálculo estadístico con los resultados obtenidos en cada análisis, del modo siguiente: Búscase el *término medio*, dividiendo la suma de los resultados por el número de casos.

La desviación standard, o desviación cuadrática media ( $\sigma$ ) se obtiene con la fórmula siguiente:  $\sigma = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n-1}}$

$\sum d^2$  = suma de los cuadrados de las diferencias entre el término medio y cada uno de los parciales.  $n - 1$  número de casos estudiados menos uno.

*Error probable.* — Su fórmula es:

E.P. =  $0.6745 \times \sigma$ ; 0.6745 es una constante y  $\sigma$  la desviación standard.

Si en una serie, alguno de los parciales tiene una diferencia con el término medio, mayor que tres veces el error probable, ese parcial debe considerarse erróneo.

Error probable del término medio E.P.T.M. =

$$= \text{E.P.T.M.} = 0.6745 \times \frac{\sigma}{\sqrt{n-1}}. \text{ Es decir que}$$

es igual al producto de la constante 0.6745 por el cociente de la

desviación standard, dividida por la raíz cuadrada del número de casos menos uno.

$$\text{Error probable de la diferencia} = \sqrt{\text{E.P.T.M}_1^2 + \text{E.P.T.M}_2^2}$$

Cuando se quiere comparar dos series en las cuales los términos medios son diferentes, se busca primero la diferencia de estos términos medios; para saber si esta diferencia es significativa se calcula el error probable de la diferencia

En la fórmula dada para el error probable de la diferencia,  $\text{E.P.T.M}_1$  es el error probable del término medio de una de las series elevado al cuadrado, y  $\text{E.P.T.M}_2$  es el error probable del término medio de la otra serie que se compara, también al cuadrado.

La diferencia será significativa cuando la diferencia entre los términos medios de las series sea superior, por lo menos el triple del error probable de la diferencia.

---

Para mayores datos sobre métodos estadísticos, consultar los artículos de Biraud (1) o Dunn (2), o el libro de Bowley (3).

1. — Biraud Y. — Cour d'Hygiénne de León Bernard y Robert Debré. — París, 1927. Vol. II, pág. 204.
2. — Bowley A. L. — Elementos de Statistique. — París, 1929.
3. — Dunn H. L. — Physiol. Rev. 1929. — IX — 275.