

HOSPITAL INFANTIL "PEDRO BORRAS ASTORGA"

XV aniversario de la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías. Revisión de la literatura mundial

Por el Dr: ANTONIO SELLEK

XV aniversario de la prueba Sellek-Frade del acetato (de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías. Revisión de la literatura mundial. Rev. Cub. Med. 10: 2, 1971.

La prueba del acetato de cobre es simple y práctica. Ella usa un solo reactivo: estable, fácil de preparar y adquirir y de costo ínfimo. La prueba puede desarrollarse como reacción: estándar, cuantitativa y ultramicrométodo. En conclusión, la prueba del acetato de cobre de Sellek-Frade es por su conjunto de cualidades, un procedimiento de interés creciente internacional, que refleja el estado clínico del paciente con mayor exactitud y sensibilidad que las otras pruebas de función hepática y para la cual investigadores de: Albania, Argentina, Cuba, Colombia, Estados Unidos, España, Francia, Honduras, Hungría, Italia, México, Perú y URSS, recomiendan su uso universal en las enfermedades del hígado y de las vías biliares.

En diciembre 15 del año 1970 se cumplió el XV aniversario de haber sido propuesta la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre. Ello que durante la celebración en la ciudad de la Habana de la X Convención Bional de la Sociedad Cubana de Médicos Laboratoristas Clínicos en 1955.

En consecuencia, deseamos aprovechar esta oportunidad, para revisar los trabajos internacionales sobre la misma, aparecidos en revistas médicas de países de América, Europa y Asia: Albania, Argentina, Brasil, Cuba, Chile, Estados Unidos, España, Francia, Honduras, Hungría, Italia, México, Perú, Rumania, Thailandia y URSS.

Estamos agradecidos a los esfuerzos, cooperación y comentarios de todos los que nos han brindado su experiencia, ayuda y estímulo a través de trabajos científicos, editoriales en prestigiosas revistas médicas, comunicaciones personales, universidades comentarios y citas en

admiradas obras.^{94,97} Además de los nombrados en esta comunicación, también deseamos hacerlo a los investigadores anónimos que a diario usan la misma en sus respectivos servicios, sin haber dado a conocer en trabajos sus resultados.

Sin pretender substituir a las pruebas de floculación hepática más usuales (Hanger y timol de *Maclagan*), sí aspiramos a través de esta relación objetiva y descriptiva destacar la aceptación universal que la misma ha tenido.

I^o I Patólogo clínico. Asesor Científico Honorario y exdirector fundador del Departamento de Laboratorio Clínico Central del Hospital Infantil "Pedro Borrás Astorga".

Al revisar dicha literatura, hemos encontrado que los puntos de vista de la casi totalidad de los autores, coinciden con los expuestos en el trabajo original, siendo los criterios divergentes muy pocos y en realidad nada importantes para ser tomados en consideración.

La importancia de las pruebas de turbidez y floculación hepáticas y el valor de las más usuales, así como el criterio sobre las mismas en general, expuestas por un grupo de las más renombradas personalidades científicas en la materia, creemos de interés exponerlas aquí, antes de hacer la relación bibliográfica internacional, acerca de la prueba del acetato de cobre.

Según *Lemaire*,⁹ profesor de la Cátedra de Terapéutica Clínica de la Facultad de Medicina de París, ellas son suficientemente precisas y la interpretación de sus resultados tomados en conjunto, no se presta ni a confusiones ni a conclusiones equívocas.

*Popper*⁴⁸ profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Columbia de New York, señala que estas pruebas demuestran alteraciones complejas tales como: degeneración hepatocelular, colestasis y la inflamación. En el diagnóstico diferencial de las ictericias es prácticamente su aplicación más importante. Ellas, a pesar de su naturaleza inespecífica, son útiles para el diagnóstico, aplicándose dentro de un sistema en el cual unos resultados sirven de complemento a otros.

Maclagan,¹⁰⁷ profesor de Química Patológica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Londres, expresa que estas pruebas han probado ser de considerable valor en la investigación de las enfermedades hepáticas. En ellas las variaciones pueden ser considerables en cuanto a sensibilidad y especificidad. Las mismas no son parecidas en su mecanismo. La elección de una prueba para aplicación

rutinaria, es un asunto difícil y más que todo personal.

Para *León Schiff*¹⁰⁷ profesor de Medicina de la Universidad de Cincinnati, las pruebas de turbidez y de floculación hepáticas son usualmente positivas en el íctero hepatocelular y negativas en los ícteros obstructivos. La existencia de reacciones positivas en los ícteros obstructivos, es el reflejo de la incidencia de colangiítis con hepatitis secundaria. Las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica, no son de valor para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

Con respecto a estas pruebas *Sheila-Sterlock*,¹⁰⁸ profesor de Medicina de la Universidad de Londres, expresa que los resultados de las mismas son usualmente positivos en hepatitis agudas, cirrosis activa y negativas en los ícteros colostáticos; menos si están asociados con daño hepático. La prueba seleccionada debe ser simple, sus reactivos baratos y estables y debe dar resultados reproducibles en diferentes laboratorios.

Según *Zimmerman*,¹⁰⁹ profesor de Medicina de la Escuela de Medicina de la Universidad de Chicago, estas pruebas son muy útiles en clínica y tienen en común, la tendencia de resultar anormales en pacientes con afecciones hepáticas: hepatitis y cirrosis y ser normales en los afectos de ictericia obstructiva. Se observan índices elevados de positividad con ellas en un 90% de los enfermos con hepatitis víricas agudas y en un 70% de las cirrosis según fase y tipo. Son de máxima aplicación e interés en Estados Unidos de Norteamérica, las pruebas de floculación de la cefalinacolesterol y la de enturbiamiento del timol. En la bibliografía europea, son más las referencias al empleo de otras pruebas de floculación.

Sellek y Frade en 1955¹ y posteriormente (1956-57)^{3,4} encontraron la prueba del acetato de cobre, más sensible que la de *Takata-Ara* y paralela a las de *Hanger* y timol de *Mar la pan*. Se estudió la reacción originalmente en 100 normales, 1000 (mil) enfermos no hepáticos y en numerosas hepatopatías, hallando la misma negativa en los dos primeros grupos y con un 100% de positividad en las cirrosis y hepatitis virales. También se encontró positiva en el 75% de los casos de agenesia de las vías biliares.

Aparte de los informes se han hecho sobre ella, tesis de grado en las Universidades de México^{13,14} y San Marcos de Lima^{9,10,23} y figurado en editoriales de la revista británica "The Lancet" de Londres¹⁸ o específicamente dedicados a ella como el de la "Semana Médica" de Buenos Aires.⁶¹

A continuación, transcribimos los hechos más destacados de las publicaciones mundiales consagradas a ella, siguiendo un orden cronológico de aparición.

Sanford,[®] profesor de Patología Clínica de la Universidad de Minnesota y Consultante de la División de Laboratorio Clínico de la "Mayo Clinic", expresa que el laboratorio químico del cuerpo lo es el hígado y que si bien nuevas pruebas de función hepática han sido propuestas, las cuales pueden añadir o no, alguna información respecto a la función hepática, sin embargo si esta prueba es barata y simple de realizar, ella resulta valiosa y en este sentido *Sellek y Frade*, han desarrollado una prueba de función hepática, la cual es similar a la de turbidez del timol de *Maclagan* e indica un aumento de las globulinas o una inversión del cociente serina-globulinas en el suero sanguíneo. *Sanford* describe luego los detalles técnicos de la prueba del acetato de

cobre, reiterando ser valiosa y digna de probarse.

WoUenweber' en la revista "Current Medical Digest", señala que la prueba es de valor por su simplicidad y por requerir sólo el uso de un reactivo. El expresa haberla usado encontrando que es particularmente útil, para seguir los casos de hepatitis infecciosas. En la cirrosis portal, los resultados corren paralelos con los de la prueba de *Hanger*.

Fraga,² profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de México, efectúa 1000 (mil) pruebas, las cuales compara con las reacciones de *Van Den Bergh*, *Takata-Ara*, *Hanger*, *timol* y *zinc*, así como con las modificaciones en el suero sanguíneo de las proteínas totales, serina y globulinas, encontrando concordancia paralela con las pruebas anteriores, aun cuando en su concepto la prueba *Seilek-Frade*, le parece más sensible que las citadas. Expresa además haber encontrado una línea casi superpuesta, con las dosificaciones de las globulinas, correspondiendo casi siempre la positividad de la prueba con un aumento de la gammaglobulina. Ella es negativa en todos los casos tomados como control, así como en los de abscesos hepáticos, nefríticos y estados reumáticos sin ataque hepático; en tanto que se encontró positiva en todos aquellos en los que estaba comprometido el daño hepático. Dice *Fraga* que la prueba es no sólo de utilidad, sino indispensable al clínico en el estudio de las enfermedades hepáticas.

Castillo y López Fernández,¹¹ profesores de la Cátedra de Clínica Médica de la Universidad de La Habana, publicaron en 1957 un trabajo sobre la prueba *Sellek-Frade* en casos de cirrosis hepática, comprobados por estudios his

tológicos, bien por laparoscopia, por la intervención quirúrgica o la necropsia.

En casos de cirrosis portal la prueba resultó positiva intensa en cinco minutos. En cuatro casos de cirrosis posnecrótica se comportó como en la portal, dando precipitados a los cinco minutos. Solamente en un caso de cirrosis biliar, consecutiva a una obstrucción fiel colédoco, la prueba resultó negativa al igual que las otras reacciones. En un estudio posterior sobre 20 casos bien definidos de cirrosis portal, se obtuvo una positividad inmediata antes de los cinco minutos.

En casos de enfermedades diversas: nefrosis, abscesos hepáticos y pulmonares, hipertensión esencial, etc. la prueba se comportó como negativa. En dos casos de sangramientos profusos (hematemesis) se hizo la prueba inmediatamente con resultados intensamente positivos a los cinco minutos. En un caso la intervención y en otro la necropsia, confirmaron la existencia de una cirrosis portal avanzada con várices esofágicas y la ausencia de lesiones ulcerosas del tubo digestivo.

Crean los profesores *Castilla y López Fernández*, que la prueba de *Sellek-Frade* por su sencillez de ejecución y los resultados que ofrece, tiene grandes ventajas en la práctica, como son la rapidez de sus resultados y que está al alcance del médico práctico, en lugares apartados de centros científicos u hospitalarios.

El profesor *Maclagan*⁵ en su trabajo "Los tests de floculación en la función hepática" hace referencia a la misma y en un editorial de la prestigiosa revista británica "The Lancet"¹¹ dedicado al estudio de la función hepática se expresa que "*Sellek y Frade* han desarrollado una prueba rápida y simple de turbidez

\ floculación, con resultados que parecen ser muy satisfactorios y los cuales son comparables a los encontrados con la prueba del timol de *Maclagan*.

En un informe presentado ante la XII Convención de la Asociación Italiana de Médicos Analistas y Patólogos, celebrada en Palermo, *Faberi y Polini*¹¹ de los hospitales Riuniti y S. Camilo de Lellis de Roma, sustentan haber practicado la prueba en 102 casos (30 normales I y 72' pacientes con enfermedades hepáticas. Ellos encontraron una muy buena correlación con las pruebas de *Takata-Ara*, *Hanger* y *Maclagan* y recomiendan su uso en Italia.

*Delgado*¹⁷ realiza la reacción en Santiago de Chile en 114 pacientes; de los cuales 74 tenían lesiones hepáticas. Ellos pertenecían a distintos servicios del Hospital de Niños "Manuel Arriarán" y a casos proporcionados por el servicio de Maternidad del Hospital San Borja. Sus conclusiones son las de que la prueba ha demostrado: a) Para el estudio de las hepatopatías es una reacción sensible, precisa y de fácil manejo, b) Se necesita escasa cantidad de suero, c.) Los casos positivos están en relación con la lesión hepática, modificándose la intensidad de la misma con la mejoría clínica del paciente, f) En las ictericias hepáticas es positiva y está en relación con las pruebas de *Hanger* y *timol*. g) En las ictericias hemolíticas es negativa.

En 1959 *Sellek y Frade*¹¹ realizaron un estudio comparativo de la prueba del acetato de cobre y el de la actividad de las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica en el suero de pacientes con hepatopatías, llegando a las siguientes conclusiones: es evidente que aunque los resultados de la prueba *Sellek-Frade* y los de la transaminasa glutámica oxalacética y glutámica pirúvica, coinciden en las

hepatopatías virales, ícteros obstructivos, esteatosis hepáticas, etc., la actividad en el suero de las referidas transaminasas no puede sustituir a la prueba del acetato de cobre en el diagnóstico de las hepatopatías, por su fracaso en el diagnóstico de las cirrosis hepáticas, y no tener las características de simplicidad, estabilidad de los reactivos, costo insignificante, preparación rápida y fácil de los reactivos, corto espacio de tiempo para su ejecución y preciso control clínico en segundos. Además de que la determinación de las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica «léi suero, son afectadas por daños en otros órganos y por contener la bilis normal, según *Chinsky Schmagranoff y Sherry*,¹¹² grandes cantidades de transaminasa glutámica oxalacética, lo cual enmascara frente a la clínica los verdaderos resultados

En resumen, *Seilek y Frade* estiman que la dosificación de la transaminasa glutámica oxalacética del suero, debe excluirse del estudio de las afecciones hepatobiliares, pues ofrece un elevado porcentaje de positivos en cuadros clínicos diversos, ajenos al estado funcional de las células hepáticas. La medida de la transaminasa glutámica pirúvica es más segura y específica y su empleo debe combinarse en los períodos tempranos de las hepatitis infecciosas a los de las pruebas de *Hanger*, timol y acetato de cobre.

Nguyen-The-Minh^{2r, in in} en la Cátedra de Terapéutica Clínica Médica de la Facultad de Medicina de París, en el Hospital "Saint Antoine", servicio del profesor André Lemaire, estudia el mecanismo de la prueba y encuentra que en el 92% de 1 os casos que una prueba positiva traduce hiperglobulinemia y más precisamente una hipergammaglobulinemia. En su estudio de 14 casos de cirrosis hepáticas, 13 veces la

reacción era fuertemente positiva y la intensidad de la floculación parecía corresponder a la gravedad de la evolución clínica. El hecho de más interés, según *Nguyen-The-Minh* es el de que la reacción se muestra positiva en un estadio en que la cirrosis se manifiesta por un hígado grueso, siendo monosintomática, entre tanto la laparoscopia muestra su naturaleza cirrótica.

Los resultados de la reacción *Sellek-Frade*, son enteramente comparables a los de las reacciones de *Maclagan*, *Gros y Hanger*. Mas ella parece ser más sensible que las pruebas clásicas; pues la misma se revela como positiva, cuando las pruebas clásicas son negativas.

De 11 casos de etiología imprecisa de cirrosis hepática, se encuentran 8 resultados positivos. En los tres casos negativos se trataba de cirrosis no descompensadas y el hígado no era hipertrófico.

De 8 casos de hepatitis viral; en ocho la prueba resultó positiva. La positividad era franca o débil y se hace negativa una semana después de la desaparición del íctero. En las hepatitis virales como en las cirrosis, la sensibilidad de la prueba es mayor que la de las pruebas clásicas. En dos casos de amebiasis hepática la prueba fue negativa en ambos. En veinte casos de ícteros obstructivos por litiasis la prueba es negativa en 12. Los dos casos estaban complicados con angiocolitis. De seis casos de ícteros neoplásicos, cinco veces la reacción era completamente negativa y una vez, débilmente positiva.

En resumen dice *Nguyen-The-Minh*, la prueba de *Sellek-Frade* es una reacción simple, más sensible que las pruebas clásicas. Ella es más específica de

cirrosis, donde muestra una positividad fuerte o muy fuerte. Francamente positiva en las hepatitis y negativa en el curso de los ícteros obstructivos. Ella representa un elemento de diagnóstico diferencial de gran valor en clínica; por consiguiente, es ella, una prueba meritoria para ser grandemente empleada en las hepatopatías.

Nodarse,^{31*} profesor titular de la Cátedra de Laboratorio Clínico de la Universidad de La Habana, en su obra titulada "Interpretación Semiológica de los Análisis Clínicos" describe la misma con los detalles técnicos de su realización y expresa que la prueba *Sellek-Frade* del acetato de cobre, es concordante con las más empleadas en la exploración de la función hepática y su sensibilidad en la mayoría de los casos es mayor que las de *Takata-Ara*, *Hanger* y *timol*.

Castillo,³² profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad de Lima, realiza en el Laboratorio Clínico del Hospital 2 de Mayo, la reacción, en más de 66 mil casos y dice textualmente: "Desde 1957 en que los doctores Antonio Sellek y Alejandro del Frade, del Hospital Municipal de Infancia de La Habana, me distinguieron con el privilegio de su técnica, la venimos empleando sistemáticamente; primero con la lógica reticencia de una nula experiencia, después comparativamente con las reacciones ya conocidas y últimamente con la certidumbre de que la reacción de *Sellek-Frade* sola es capaz de evidenciar el daño hepático, tanto en extensión como en profundidad, según extensión del mesénquima. En esta reacción se conjugan fidelidad en sus expresiones, bajo costo, fácil ejecución, menor tiempo y finalmente un reactivo que puede guardarse indefinidamente en refrigeración".

El profesor *André Lemaire*²⁹ de la Facultad de Medicina de la Universidad de París y *Nguyen-The-Minh*, en un trabajo titulado "Los tests de floeulation dan les maladies du foie" expresan lo siguiente: Por divergencia de sensibilidad y especificidad de cada una de estas pruebas, debemos escoger las que se complementan y al practicarse simultáneamente permitan la mejor discriminación de los procesos patológicos del hígado, que clínicamente presentan manifestaciones similares. Ellos proponen la asociación de tres reacciones:

La prueba del timol de *Maclagan*.

La reacción al acetato de cobre de *Sellek-Frade*.

La reacción del rojo coloidal de *Ducci*.

En un íctero reciente la positividad pronunciada de las pruebas de *Maclagan* y *Sellek-Frade*, sugiere enseguida una hepatitis infecciosa y la ejecución repetida de estas reacciones, permitirá la observación de su evolución; su negatividad habla en favor de una obstrucción de las vías biliares. Su divergencia especialmente una prueba de timol negativa o subnormal, mientras que la de *Sellek-Frade* es muy positiva, debe hacer pensar en la eventualidad de un brote icterico en el curso de una cirrosis. Igualmente, una reacción de *Sellek-Frade*, siendo fuertemente positiva, con una prueba de *Maclagan* débil o negativa sugiere cirrosis.

En un trabajo de la Cátedra de Enfermedades Nerviosas y Mentales de la Universidad de Bari, *Cazzato* estudia el comportamiento de la reacción *Sellek-Frade* en 30 pacientes esquizofrénicos, encontrando una positividad de varios

grados en el 66% de los casos. El discute las conclusiones de los resultados a la luz de las relaciones entre variaciones hemato proteicas, reacciones de eueolodia sérica y estados de disliepatismo.

Celsi y *Trevisán*?^{1*} en un trabajo realizado en la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Universidad de Buenos Aires (Prof. Egidio S. *Mazzei*), titulado "Valor diagnóstico de la reacción de *Sellek-Frade* en las enfermedades hepato biliares", examinan la prueba en un total de 259 casos, entre pacientes internados en las Salas V y VII del Hospital de Clínicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires y del consultorio de liepatología anexo.

Ellos obtuvieron una reacción positiva en el 97.2% de 36 casos de hepatitis y en el 98% de 49 casos de cirrosis. En casos de ícteros obstructivos no complicados se hallaron cifras normales en el 100%; mientras que en los ícteros complicados la prueba era positiva en el 87.5%. Es la prueba de mayor valor, dicen *Celsi* y *Trevisán* para el diagnóstico diferencial de los ícteros.

La prueba de *Sellek-Frade* concluyen *Celsi* y *Trevisán*: por su sencillez y corto espacio de tiempo para su ejecución, por la estabilidad y larga conservación de los reactivos, sensibilidad para señalar daño hepatocelular o alteraciones del equilibrio coloidal en afecciones diversas no hepato biliares, reúne las condiciones necesarias, para ser empleada con ventaja en la batería de pruebas que componen el hepatograma.

Solari y *Botara*³⁹ del Hospital Galliera de Génova, servicio de la II Cátedra de Clínica Médica (Prof. G. *Michetti*), realizaron un estudio de la prueba de *Sellek-Frade* en 100 enfermos. Ellos practicaron conjuntamente las reacciones de *Takata-Dohmato*, *Maclagan*, *Kunkel* y *Wunderly-Wuhman* y en la mayoría de los casos

estudian mediante electroforesis los distintos factores glohulínicos. Ellos encuentran que la prueba del acetato de cobre es constantemente positiva en las cirrosis y hepatitis crónicas, en las cuales hay mayor destrucción de la arquitectura del lóbulo hepático y manifestaciones imponentes del sistema, retículoendotelial, con hipoproteinemia consiguiente. En cuanto al comportamiento de la reacción con las otras pruebas de inestabilidad coloidal, se nota concordancia de los resultados. Destacan dichos autores cómo en las hepatitis crónicas de evolución fibrótica, la reacción es especialmente sensible, sien do constantemente positiva en todos los caños, en que las otras pruebas de euco- lodia no se han precisado todavía.

Los autores concluyen su trabajo con las siguientes palabras: Podemos afirmar la validez de la reacción de *Sellek-Frade* como prueba de una alteración del cuadro proteínico y corroboramos su utilidad en el diagnóstico de las enfermedades hepáticas y justificamos ampliamente su inclusión en la constelación de las pruebas de eucolodia.

*Galmarini*⁵⁰ presentó ante la Sociedad Argentina de Gastroenterología en la sesión celebrada en Buenos Aires el día 3 de noviembre de 1961 un trabajo titulado "Valoración de la reacción turbi- dométrica del acetato de cobre". Después de dos años de estudiar cuidadosamente la prueba con aproximadamente 1000 (mil) determinaciones hechas en ese lapso de tiempo en forma personal, habiendo estudiado 120 hepatopatías, 40 enfermos extrahepáticos y 29 normales, confirma la inexistencia de resultados positivos en normales. En las enfermedades hepáticas encuentra la reacción positiva, por ejemplo, en las hepatitis virales en un 100% y en un 77% en las cirrosis.

En cambio, resultados normales encontró en los ícteros obstructivos.

Los resultados de la prueba según *Gulmarini* serían semejantes a los de las reacciones clásicas de *Kunkel* y timol. Su positividad guarda relación con la liposerinemia y la hipergammaglobulinemia. Es para él una prueba de labilidad coloidal del suero, sumamente práctica y recomienda su uso.

*Padolechia, Panaro y Mejorana** en el Instituto de Patología Médica Especial y Metodología Clínica de la Universidad de Bari, realizan un trabajo titulado "Experiencia Clínica e Investigación Fisiopatológica sobre la nueva prueba de labilidad coloidal de *Sellek y Frade*". Ellos llegan a las siguientes conclusiones: 1. La reacción de *Sellek-Frade* como las otras pruebas de labilidad coloidal del suero es una prueba no específica y cuyo resultado positivo es debido en general a un aumento de las globulinas especialmente de la fracción gamma. 2. Ella muestra un notable paralelismo con las reacciones de *IT Underley* y *Takata-Gros*. 3. La reacción es siempre negativa en sujetos sanos. 4. Ella posee un gran valor en el estudio de las hepatopatías. 5. En el íctero obstructivo de tipo calculoso, la reacción es siempre negativa, siendo en consecuencia útil para seguir el curso de diversos estados morbosos. 6. Nos parece que esta nueva prueba es meritoria para ser usada habitualmente en el Laboratorio Clínico.

Duarte, eo en la Clínica de la Maternidad "David Bestrepo" de Bogotá, estudia la prueba *Sellek-Frade* y llega a las siguientes conclusiones: "En embarazadas normales la reacción es negativa, lo mismo que en niños con eritroblastosis o ictericia hemolítica, pacientes luéticos y embarazadas diabéticas.

En las hepatitis virales la reacción es siempre positiva".

*Vio*TM en el Instituto de Clínica y Terapéutica Quirúrgica de la Universidad de Bologna, realiza un estudio sobre el comportamiento de la prueba *Sellek-Frade* del acetato de cobre en 84 pacientes ictericos, con el fin de estudiar su utilidad práctica en el diagnóstico diferencial de los ícteros. El encuentra la reacción de *Sellek-Frade* positiva en el 100% de los ícteros hepatocelulares y negativa en el 100% de los ícteros mecánicos. La prueba de *Jirgl* fue positiva en el 97.8% de los ícteros mecánicos y negativa en el 91.5% de los ícteros hepatocelulares y en el 100% de los hemolíticos.

Los resultados obtenidos según *Vio* demuestran, que la prueba *Sellek-Frade* por sí sola no es suficiente, para el diagnóstico de determinado tipo de íctero, pero que asociada a la prueba de *Jirgl*, se eleva con este fin notablemente su valor.

*Muntoni*ⁱⁱ⁵ en el Instituto de Medicina Preventiva de la Universidad de Cagliari (Cerdeña), efectúa un estudio de la reacción *Sellek-Frade* en el diagnóstico de las afecciones hepáticas en 131 casos, encontrando una positividad constante de la prueba en las cirrosis y en las esclerosis por estasis y negatividad frecuente en los ícteros colostáticos.

Al comienzo de las hepatitis virales la reacción puede ser negativa. En el período de defervescencia de las hepatitis virales, sus resultados constituyen un útil criterio pronóstico.

*Vietoritz*⁵³ de Hungría, estudia la prueba en 105 casos de hepatitis agudas y crónicas, cirrosis hepáticas, intoxicaciones y colangiítis. En 57 casos de ícteros obstructivos y 18 de descompensación cardíaca y en 100 pacientes con

enfermedades diversas. El llega a las siguientes conclusiones: 1. En las hepatitis agudas epidémicas las reacciones de *Sellek-Frade* y *Mullen* muestran una más temprana positividad que la prueba de turbidez del timol. La curación clínica es también más tempranamente indicada. La negatividad puede ser lograda en un tiempo más corto. 2. En casos de hepatitis crónica cirrótica, similarmente a la prueba de *Malien*, la reacción de *Sellek-Frade* da resultados más seguros que la prueba del timol. 3. En casos de lesiones hepáticas por alcoholismo ella muestra una positividad al mismo tiempo que la del timol y más tempranamente que la de *Malien*. 4. En casos de ícteros obstructivos sin complicación las tres pruebas son negativas. Cuando existen complicaciones del parénquima hepático o complicaciones por infección, una positividad de diferente intensidad es observada. 5. En casos de descompensación cardíaca, la prueba da resultados positivos de variable intensidad. Ella muestra un decrecimiento de la intensidad de la positividad, como resultado de una efectiva terapéutica y compensación.

Baldi y Ferrara: de Salerno (Italia) han examinado un grupo de 74 enfermos con diversas afecciones del hígado y un grupo de 20 sujetos normales. En todos los pacientes han practicado las reacciones de Takata-Ara-Ucko, Maclagan, Kunkel y Hanger. En sus investigaciones notan un discreto porcentaje de positividad de la prueba de *Sellek-Frade* en las hepatitis virales, aun cuando las otras pruebas son negativas. En tales casos ha existido concordancia entre la prueba al acetato de cobre y el aumento de las transaminasas especialmente la pirúvica. En las hepatitis crónicas y cirrosis hepáticas, la prueba se ha revelado constantemente positiva. En relación a la electroforesis se encuentra

aumento de la gammaglobulina, que se observa en la cirrosis y hepatitis de evolución fibrótica. Como conclusión de sus investigaciones afirman *Baldi y Ferrara*, la validez de la prueba de *Sellek-Frade* como prueba de labilidad digna de incluirse en la batería de las reacciones clásicas (*Hanger, Maclagan, etc.*) y el paralelismo del comportamiento entre la reacción del acetato de cobre y la de *Hanger*, considerada como la más sensible entre las pruebas de labilidad coloidal del suero. Por otra parte la facilidad de ejecución, la simplicidad de preparación y estabilidad del reactivo, hacen de él una prueba al alcance de todos.

*Viranivatti y otros** estudian en la Universidad de Ciencias Médicas de Bangkok, en Thailandia, la prueba del acetato de cobre y la del lugor en 1104 casos. De sus investigaciones llegan a la conclusión, que ambas pruebas dan resultados similares, aun cuando su mecanismo es distinto.

Ionescu y otros^{5,2} describen su experiencia y los resultados obtenidos con diversas pruebas de disproteinemia, con especial referencia a la reacción *Sellek-Frade*.

*Papadhimitri*³ en un artículo titulado "La prueba de *Sellek-Frade* (al acetato de cobre) en la hepatitis viral y su evaluación clínica" publicado en el Boletín de la Universidad de Tirana (Albania) llega a las siguientes conclusiones, después de realizar 303 determinaciones en 100 casos de hepatitis viral, (29 formas benignas, 52 medianamente graves, 12 graves y 7 prolongadas) : La prueba de *Sellek-Frade* es una reacción inespecífica de labilidad coloidal del suero, que refleja a menudo hipergammaglobulinemia y parcialmente hi-

perbetaglobulinemia. 2. Existe un paralelismo entre la prueba de *Sellek-Frade* y las de *Maclagan* y *WuchumtairWunderly*. 3. Hay una correlación directa entre la frecuencia de la positividad de la reacción al acetato de cobre y el grado de intensidad de la hepatitis viral.¹⁴ El mayor número de positivos se observa en el acmé del proceso en todas las formas y el menor, durante la convalecencia. 5. Tanto por sus ventajas como por la particular simplicidad de su técnica y su valor clínico, la prueba de *Sellek-Frade* puede ser ampliamente usada en la práctica de los hospitales en Albania, usándola entre otras como criterio para determinar el grado de alteración o la restitución funcional del hígado, durante la evolución de la hepatitis viral, así como de otras hepatopatías.

*Peg y Puyol*¹⁷ de la Universidad de Zaragoza (España), en un trabajo presentado ante el V Congreso Internacional de Patología Clínica, celebrado en México en 1963, titulado "Estudio químico-clínico de la reacción *Sellek-Fra- ζ*", practican la prueba en 103 pacientes afectos de enfermedades hepáticas, comparando los resultados paralelamente con las reacciones corrientes utilizadas en la práctica: *Cadmio*, *Weltman*, *Takata-Ara*, *Maclagan*, *Kunkel* y gamma-globulinas. Ellos llegan a la conclusión de que la reacción de *Sellek-Frade*, puede ser admitida con toda garantía, dentro de aquellas de que el médico dispone para el estudio de la labilidad de las proteínas séricas.

Gómez Andino, catedrático de la Universidad Nacional Autónoma de Honduras, estudia la prueba en 703 casos (hepatitis virales, cirrosis hepáticas, ícteros obstructivos y personas normales). Considera a la prueba de *Sellek-Frade* de alto

valor diagnóstico. En las hepatitis virales (205 casos) la reacción del acetato de cobre dio un 97% de positividad y la de *Manger* lo fue en un 93%. En individuos normales la reacción *Sellek-Frade* se comportó siempre como negativa.

El profesor *Shaposnikf*¹⁸ titular de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad de la Plata, en unión de *Milrnan* y *Cacciatore*, realizan un estudio de la prueba del acetato de cobre en 110 pacientes. Se correlacionó la prueba con otras de floculación, las fracciones proteicas por electroforesis, estudio histológico por punción, biopsia o estudio necroscópico en una parte de los enfermos. Además, se realizó la prueba en sujetos normales que tenían otras pruebas de floculación normales; en todos, la reacción del cobre resultó negativa. Ellos llegan a las siguientes conclusiones:

1. La prueba del acetato de cobre es negativa en sujetos normales, es positiva en la mayoría de los casos de cirrosis y en una elevada proporción de casos de hepatitis.
2. En las ictericias obstructivas la reacción del cobre es negativa.
3. La reacción del cobre comparte con las otras pruebas de floculación, el valor diagnóstico indirecto de disfunción hepática, demostrando la existencia de una labilidad proteica sanguínea.
4. Ofrece el valor práctico de su alta sensibilidad del reactivo, simplicidad de ejecución y bajo costo.

*Pittera y otros*¹⁹ en el Instituto de Patología Especial y Metodología Clínica de la Universidad de Catagnia (Sicilia, Italia), realizan un estudio de la prueba de *Sellek-Frade*, en 204 casos de enfermedades hepáticas en fase aguda y en resolución: cirrosis hepática, atrofia amarilla aguda, íctero colostático, etc. Comparada con otras pruebas de labilidad serocoloidal (*Hanger*, *Maclagan*, *Ducci*, *Ciöse*, *Mallen*, etc.).

Ellos llegan a la conclusión de que aun careciendo de elementos para establecer el significado biológico de la misma, han podido observar que la prueba del acetato de cobre es la más sensible de todas y la más estrechamente correlacionada a la función hepática. Ella muestra, asociada a su sensibilidad, una alta especificidad, en la investigación de las enfermedades del hígado. Las otras pruebas tienen una sensibilidad muy limitada y una escasa especificidad en la investigación de la función hepática.

*Fiabana y Targón*⁰⁹ emplean la dosificación de las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica y la prueba del acetato de cobre de *Sellek-Frade* en una comunidad de niños de Belluno (Italia), con propósitos clínicos y epidemiológicos en la investigación de hepatitis viral. Los resultados obtenidos dicen que muestran una buena correlación entre ambas pruebas en casos clínicos y subclínicos de hepatitis viral.

Sellek-Frade y *Perelló*⁶⁸ practican la reacción de *Jirgl* y simultáneamente las reacciones de *Hanger*, *Maclagan* y *Sellek-Frade*, en diez casos de ícteros obstructivos, ocho puros y dos complicados. La reacción de *Jirgl* fue positiva en 100% y las reacciones de *Hanger*, *Maclagan* y *Sellek-Frade* resultaron negativas en el 100% de los casos no complicados; siendo positivas en los que además tenían daño hepatocelular.

Bassi, *Bufardecí*, *D'Alonzo* y *Menei*⁵⁰ al respecto, informan una casuística sobre la reacción de *Sellek-Frade* en casos de disproteinemia en las afecciones hepáticas y estudian el comportamiento de la misma, después de la terapéutica con prednisona.

Furiosi y *Pasquiné*² señalan la utilidad del uso combinado de dos pruebas simples,

para el diagnóstico diferencial de los ícteros. Estos autores encuentran la prueba constantemente positiva en las cirrosis y también en el 100% de la hepatitis viral; aunque con menor intensidad.

Viranuvatti y otros⁷² en Bangkok, (Thailandia), realizan un estudio de las pruebas de función hepática comunmente usadas en 274 casos de amebiasis hepática, de los cuales 200 fueron abscesos amebianos del hígado y 74, de hepatitis amebiana. La prueba de *Hanger* fue positiva en el 43.2% del grupo de absceso hepático y 56.6% en los de hepatitis. La turbidez del timol 39.43% del grupo de absceso hepático y 36.1% de los de hepatitis. La prueba del acetato de cobre de *Sellek* y *Frade* fue positiva en el 71.4%.

*Anvorelli*⁷⁷ en el Instituto de Clínica Laringológica de la Universidad de Nápoles, realiza un estudio sobre el valor de la prueba de *Sellek-Frade* en la amigdalitis focal crónica. En conclusión, dice que se puede afirmar que sin las pruebas de serolabilidad ya conocidas y aplicadas, la prueba de *Sellek* y *Frade* no agrega nada nuevo, sin embargo, dada su simplicidad y mayor especificidad, se puede considerar un elemento útil de pesquisa diagnóstica y pronostica de la enfermedad focal.

Monari y *Pezzoli*⁵¹ investigan el comportamiento de la reacción de *Sellek-Frade* al acetato de cobre en la hepatitis viral infantil, mediante repetidas determinaciones en el curso de la enfermedad. La prueba, de fácil ejecución técnica al decir de los autores, ha resultado positiva en el 89% de los pacientes desde el primer día de la enfermedad, con tendencia a la curación en la fase de negativización.

Goata y *Filetti*⁸⁵ publican en la revista "Riforma Médica" de Nápoles, un trabajo

titulado "Nuestra Experiencia con la reacción de *Sellek-Frade*" en el cual llegan a la siguiente conclusión: La reacción de *Sellek-Frade* según nuestra experiencia, suministra datos importantes en hepatitis y particularmente en su fase aguda, volviéndose negativa apenas se detiene la actividad del proceso morbo y se inicia la mejoría. Es útil en el diagnóstico diferencial de los ícteros. Suministra datos diagnósticos y pronósticos precoces en cirrosis hepáticas y es una prueba muy sensible y de fácil ejecución.

*Giannini y Masseri*¹¹ en un trabajo del Instituto de Clínica de Enfermedades Tropicales e Infecciosas de la Universidad de Roma, estudian la reacción al acetato de cobre de *Sellek-Frade* en 152 casos, comparando los resultados obtenidos con otras pruebas de labilidad coloidal: *Takata - Dohmoto*, *Maclagan*, *Kunkel* y *Gros*, proteinemia y proteinograma electroforético.

En 47 sujetos sin afección hepatobiliar y sin enfermedad disprotidémica, la reacción ha resultado negativa en 44 casos (94%) y levemente positiva en 3 casos.

En 58 casos de cirrosis hepática de *Morgagni-La&ruvec* la reacción fue siempre positiva; mostrándose en algunos casos más sensible que las otras pruebas de labilidad referidas.

En 13 casos de hepatitis crónicas con esplenomegalia y evolución cirrótica y de etiología imprecisa, la reacción ha sido positiva en 11 (85%).

En 12 casos de hepatitis viral, la reacción ha sido siempre positiva y en algunos ha demostrado ser más sensible (que las otras pruebas de labilidad coloidal).

La reacción ha resultado siempre positiva en 14 casos de íctero obstructivo complicado de hepatocolangiitis, siendo, por el contrario, negativa en 6 de 8 casos de íctero obstructivo no complicado.

En lo que respecta al mecanismo de la reacción, la positividad está relacionada a la hipoalbuminemia y sobre todo a la hipergammaglobulinemia.

En definitiva, por su simplicidad, exactitud y sensibilidad, la reacción de *Sellek-Frade* resulta ser muy útil en el diagnóstico de las afecciones hepáticas,

*Frade, Pérez Montes, Behar, Maullóla, Suárez Bustamante y Garirumdía*ST en un trabajo del Departamento Clínico y de Laboratorio de la Clínica Antonetti, de la Habana, titulado "Utilidad de las pruebas funcionales hepáticas en el diagnóstico, evolución y pronóstico de algunas de las hepatopatías más importantes. Experiencias con la prueba de *Sellek-Frade* o del acetato de cobre", efectuado sobre 1468 pruebas de *Sellek-Frade* en el suero de pacientes previamente seleccionados por el servicio de Medicina Interna «le dicha institución, encuentran la prueba positiva intensa en el 100% de las cirrosis y negativa en el 100% de los ícteros obstructivos no complicados. En los casos complicados la positividad se elevó a un 87%. En los casos de hepatitis infecciosa la positividad alcanzó al 100% y frecuentemente se encontró que la prueba de *Sellek-Frade* era positiva, aun cuando todavía la sintomatología clínica no era evidente de hepatitis. De acuerdo con su intensidad, la prueba resultó un buen índice pronóstico en el curso evolutivo del proceso.

*Gutiérrez Agramante, Hierrezuelo y Magriñat*⁹⁰ en su trabajo presentado al XI Congreso Médico Nacional, eneon-

traron en un estudio ejecutado en el Hospital Psiquiátrico de La Habana que de un grupo de 247 enfermos esquizofrénicos crónicos un 49% de ellos mostraron la prueba de *Sellek-Frad#* al acetato de cobre como positiva y que por otra parte en una serie de 50 individuos tomados como control, sólo en un 2% se observó positividad de la reacción, lo cual permite estadísticamente señalar tales resultados, como altamente significativos.

*Nobile*¹ en un trabajo desarrollado en el Instituto de Patología Especial y Clínica Médica Veterinaria de la Universidad de Nápoles, estudia la reacción de *Sellek-Frade* en el diagnóstico funcional del hígado de bovinos y búfalos, llegando a la conclusión de que considerando la negatividad constante de la reacción en bovinos y búfalos sanos y el gran porcentaje de positividad en animales con afecciones hepáticas, se puede deducir que esta prueba es realmente útil en Medicina Veterinaria. La simplicidad de preparación de los reactivos y la constatación de poder contar con un método diagnóstico rápido, aumentan la posibilidad de usar la prueba en la práctica común del laboratorio.

*Dobrovolski y Gorbunov*⁹³ publicaron en la revista "Asuntos de Laboratorio" de Moscú, un trabajo en el que estudian el valor de la prueba del acetato de cobre en 275 individuos. La prueba resultó positiva en la enfermedad típica de *Botkin* (hepatitis infecciosa) en el 86.7% de los pacientes investigados y en las formas dilusas y no ictéricas en el 76%.

En los grupos de control (pacientes afectados de otras enfermedades e individuos sanos) los resultados de la prueba fueron negativos en el 92.4%.

Sus observaciones demuestran, que el resultado de la prueba del acetato de cobre, permanece positivo durante todo el curso de la enfermedad y gradualmente se va tornando negativo a medida que desaparecen todas las manifestaciones clínicas y se normaliza el contenido de bilirrubina de la sangre.

En el período de agudización y recidiva de la enfermedad de *Botkin*, ha-virtualmente se observa de nuevo una reacción positiva. En relación con esto utilizan también la prueba como criterio de curación.

Comparan además sus resultados con la prueba de floculación del timol y la del sublimado y encuentran que en la hepatitis viral, la prueba del acetato de cobre es más sensible y tiene mayor valor diagnóstico que la de floculación del timol y la del sublimado.

En los grupos de control investigados, las pruebas de floculación del timol y la del sublimado, dieron resultados positivos falsos, con mayor frecuencia que la prueba del acetato de cobre.

Ellos llegan a la siguiente conclusión: 1. La prueba del acetato de cobre es un valioso método auxiliar en la enfermedad de *Botkin*. Ella es más sensible que otras de floculación. 2. Los resultados de la prueba pueden ser utilizados además como criterio auxiliar de curación.

Por invitación de la revista *11 Fegato de Roma*, órgano oficial de la Sociedad Italiana de Hepatología, *Sellek y Frade* publican un artículo¹⁰² sobre la prueba del acetato de cobre en las enfermedades hepáticas, destacando la utilidad de la prueba del acetato de cobre en las hepatopatías incluyendo: todos los tipos de cirrosis, hepatitis aguda viral, hepatitis infecciosas, hepatitis en mononucleosis infecciosas, ícteros obstructivos

puros, daño secundario a obstrucción extrahepática, daño hepático secundario a dieta o hepatitis, daño hepático secundario a hemolisis, síndrome de *Banti*, agenesia de las vías biliares, hipertiroidismo, etc.

Olive Bardosa de la Clínica Pediátrica del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo (Director: Prof. *P. Martínez García*), en un trabajo¹⁰⁵ sobre pruebas funcionales hepáticas y datos de laboratorio en hepatitis viral en niños, expresa que cada autor elige según sus preferencias personales las pruebas y que en dicho servicio las preferidas son las del timol de *Maclagan*, *Sellek-Frade* y *Hanger*.

Considerada la prueba del acetato de cobre de *Sellek-Frade*, parecida a la del cadmio; pero agrega que es mucho más fiel, siendo positiva en el 97% de las hepatitis.

En las formas anictéricas recomienda el uso de las pruebas de *Hanger*, timol de *Maclagan* y la de *Sellek-Frade*, unidas a la dosificación de las transaminasas, que por su precocidad están indicadas en las hepatitis anictéricas.

Se establece además que la prueba de *Sellek-Frade* se hace negativa una semana después de la despigmentación, mientras que la del timol, es la última en negativizarse. No obstante, señala casos con timol negativo, siendo la transaminasa y la prueba de *Sellek-Frade*, positivas.

En enfermos con antecedentes más o menos lejanos de hepatitis, la persistencia inmodificada de las pruebas descritas en fase aguda: transaminasa, timol, cadmio y *Sellek-Frade* constituyen datos reveladores de cronicidad.

Olive Bardosa informa también que en las cirrosis, la prueba de *Sellek-Frade* es positiva en el 98%, encontrándose positividad con ella en casos en los cuales las otras pruebas eran negativas.

*Aguirre*⁸⁹ en un artículo titulado "Una investigación útil y eficaz en el diagnóstico de las hepatopatías. La prueba de *Sellek-Frade*. Nuestra experiencia" publicado en el órgano oficial de la Academia de Medicina de Bilbao (España), presenta la experiencia en 2000 (dos mil) casos controlados con otros 100 (cien) que considera sanos.

Considera a la prueba de *Sellek-Frade* de gran valor para el diagnóstico y pronóstico de las hepatopatías. Es una prueba, dice, de fácil ejecución, rápida y de bajo costo, de comprobada eficacia y reactivos de fácil obtención y conservación.

Requiere muy poco suero (0.1 cc) y es factible de aplicar a micrométodo con cantidades de suero y reactivos mínimos.

Encuentra la prueba de tanto valor, como las de *Maclagan* y *Kunkel* en cuanto a su constatación en clínica y la considera de indudable valor en el diagnóstico clínico.

El profesor *Egidio S. Mazzei*, titular de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Facultad de Medicina de Buenos Aires en unión de *Celsi* y *Lasóla* publican un trabajo¹⁰¹ titulado "Hepatitis Viral Aguda. Experiencia durante los últimos diez años", y efectúan el estudio humoral en 298 pacientes afectados de hepatitis viral aguda, internados en las Salas 5 y 7 del Hospital de Clínicas y de la Consulta Externa estudiados en el servicio de Hepatología de la Primera Cátedra de Clínica Médica.

Los hallazgos fueron:

Reacción del timol de Maclagan	94.8%
Reacción del acetato de cobre de <i>Sellek-Frade</i>	89.3%
Reacción del sulfato de zinc de <i>Kunkel</i>	85.2%
Reacción de la gammaglobulina de <i>De la Huerga y Ptopper</i>	83.7%
Reacción del sulfato de cadmio de <i>Wuhnan y Wunderley</i> .	58.0%

En este estudio humoral se destacaron por su valor diagnóstico la actividad de la transaminasa glutámica pirúvica que se elevó precozmente. Tiene valor además porque su intensidad es paralela al daño hepatocelular y porque permite el diagnóstico de las regurgitaciones y de las formas anictéricas.

Entre las reacciones de labilidad sérica adquirieron gran valor la de turbidez del timol (positiva en el 94.8%) y la del acetato de cobre (positiva en el 89.3%).

De Prado, Seoane y Celsi realizaron un estudio comparativo entre la reacción de labilidad sérica de *Sellek-Frade* y los niveles de gammaglobulina determinados por la electroforesis en papel. Se evaluaron 69 sujetos normales y 330 enfermos provenientes de la Primera Cátedra de Clínica Médica de la Universidad Nacional de Buenos Aires.

Ellos llegaron a las siguientes conclusiones:

I) Se observó que en muchas afecciones que cursan con notable hipergammaglobulinemia, la reacción del acetato de cobre muestra un importante aumento paralelo en algunos casos a la importancia de la disproteinemia citada.

II) El aumento de la reacción muestra peculiaridades que hemos demostrado estadísticamente y que indican lo siguiente

en base al estudio de las cifras obtenidas:

a) El ascenso es franco en las cirrosis hepáticas, colagenopatías y hepatitis víricas.

b) Es negativo, en cambio, en las cirrosis biliares, neoplasias hepáticas primitivas o metastásicas, infecciones del árbol biliar y tampoco se altera la reacción en las infecciones agudas o crónicas ni en las neoplasias del resto del organismo.

c) Las cifras de la reacción de *Sellek-Frade* en los casos en que es positiva, no guardan una relación directa con el ascenso de las GG en la electroforesis, por lo tanto, no pueden ser equivalentes o reemplazar una a la otra.

d) A pesar de que el promedio de las cifras de la reacción del acetato de cobre es alto en los casos ya citados, hay una gran dispersión en los datos obtenidos, lo que la hacen estadísticamente poco significativa.

III) Dentro de las reacciones de labilidad serocoloidal que se aplican al estudio del funcionalismo hepático, afirmamos que es una de las reacciones más sencillas y rápidas en su realización. Es fácilmente incorporable al laboratorio clínico y es una de las pocas reacciones que deben seguir realizándose en el moderno hepatograma.

Peris, Mántale, TSicora y Fetta, en un trabajo del Instituto Científico de Medicina Interna de la Universidad de Génova (Cátedra de Clínica Médica. Titular: Prof. *L. Verneti*) titulado "Nuestra experiencia con la prueba de *Sellek-Frade* al acetato de cobre. Su significación en la patología hepatobiliar", establecen en sus conclusiones: haber estudiado el comportamiento de la prueba

de *Sellek-Frade* en 210 pacientes afectos de enfermedades hepatobiliares y extra-hepáticas.

Ellos observan una positividad frecuente en la patología hepatobiliar (74.3%) y en particular en el curso de la cirrosis, hepatitis crónica y hepatitis aguda icterígena o no.

En la patología extrahepática (hipertiroidismo, diabetes mellitus, mieloma tipo gamma, escleroderma, riñón poli-quístico, glomerulonefritis crónica, etc.) el porcentaje de positividad fue de un 28.6%.

La significación de la prueba empleada es básicamente la misma que las de *Takata-Ara*, *Maclagan* y *Kunkel*. pero es más sensible y su positividad con frecuencia, aparece antes que la de las otras pruebas citadas.

La prueba de *Sellek-Frade* puede ser positiva con datos electroforéticos normales. En casos de hipoalbuminemia es positiva en el 80% y en los de hipergammaglobulinemia, en el 100%.

Como conclusión de su trabajo, los autores llaman la atención sobre la simplicidad y rapidez de ejecución de la prueba. Según ellos es la misma una admirable y sensible prueba de labilidad serocoloidal no sólo de importancia prominente, sino exclusiva, en patología hepatobiliar. Larragoiti en un informe previo sobre la reacción del acetato de cobre en las psicosis esquizofrénicas presentada en la "Sociedad Cubana de Psiquiatría", de 76 esquizofrénicos encuentra 29 que han dado 5 unidades o más de *Shark* y *Hoagland*, 18 se han examinado más de una vez (algunos hasta 4 veces) dando sólo positividad mantenida en todos los exámenes, seis de ellos. De estos han permanecido 4 positivos débiles y 2 fuertes, lo que permite presumir que un 20% es la cifra que se mantiene positiva en

dichos exámenes.

TRUERA SELLEK-FRADE DE TURBIDEZ
Y FLOCULACION DEL ACETATO DE COBRE
PARA EL DIAGNOSTICO. PRONOSTICO Y
TRATAMIENTO DE LAS HEPATOPATIAS

METODO STANDARD

Reactivos. 1. Solución stock de acetato de cobre. Se prepara disolviendo 200 miligramos (0.20 grs.) de acetato de cobre químicamente puro, 5H₂O < Merk) en 500 cc. de agua químicamente pura (bidestilada). 2. La solución reactivo de acetato de cobre se prepara tomando 2.5 cc. de la matriz y completar a 100 cc. con agua bidestilada.

La solución matriz guardada en el refrigerador se conserva indefinidamente. La solución reactivo debe prepararse en el momento de usarse.

Proceder. La prueba es extremadamente sencilla. Consiste en colocar en un tubo de ensayo rigurosamente limpio 6 cc. de la solución reactivo. Se añade entonces 0.1 cc. de suero fresco del paciente (reciente extracción). Se agita ligeramente y se observa el resultado a los cinco minutos. Si la reacción es negativa el líquido permanece límpido o muestra una opalescencia libre de floculo- que no sobrepasa la cifra de 4 unidades comparada con los standards de *Kinsburg* usados en la reacción del timol de *Maclagan*. En general las cifras son más bajas en niños normales que en adultos. Con los sueros normales no hay precipitación.

En las determinaciones cuantitativas, pueden también emplearse soluciones turbias de cloruro de bario, haciendo el examen en un foto-colorímetro o espectrofotómetro, de acuerdo con las mismas indicaciones de *Shark* y *Iloa-liliul* para la reacción del timol de *Maclagan*.

El grado de positividad de la reacción es expresado en:

Cruces + .|-f.)-1-|-|-|-|-f

Unidades de turbidez 4 5-7 8-10 12 ó más

La unidad de turbidez del acetato de cobre es arbitraria, como en la prueba del timol.

Cuando la reacción se deja en reposo a la temperatura ambiente unas 18 horas, en los

casos positivos fuertes se observa una completa precipitación, siendo claro el líquido que sobrenada. Si se produce opacidad con pequeño precipitado la reacción es positiva +. Graduaciones intermedias de turbidez y floculación son informadas como -\-(y +f—K

En niños y otros pacientes en los cuales es difícil de obtener suficiente cantidad de sangre para un gran número de reacciones o para análisis repetidos, se usa la prueba del acetato de cobre como ultramicrométodo.

Ultramicrométodo. Técnica: Colocar 06 cc. de la solución reactivo de acetato de cobre en un tubo de 13 x 100 mm. Añadir 0.01 cc. de suero fresco del paciente. Lectura: Se liace en forma similar a la reacción standard.

THE SELLEK-FRADE COPPER ACETATE TEST

Reagents. 1. Copper acétate stock solution is prepared by dissolving 200 miligrams (0.2 g.) of copper acétate, c.p. (Merk) in 500 cc. of bidistilled water. This solution must be kept in the refrigerator. She preserve indefinitely and maintain their sensitivity uniformly, offering accurate results.

1. The working reagent is prepared by diluting 2.5 cc. of the stock solution to 100 cc. bidistilled water. This reagent should always preparing just at the moment it is to be used.

PROCEDURE

The test is very simple and is made delivering into a test tube 6 cc. of the reactive solution to which 0.1 cc. of fresh serum from the patient is added. The mixture is gently rotated and the results observed after five minutes. If the reaction is negative, the mixture remains transparent or a opalescence may appear (free from flocules) that will not be over 4 units as compared with Kinsburg standards used in the thymol test of Maclagan.

In the quantitative determinations, barium chloride turbid Solutions could be employed in the appreciation of results using a photo-colorimeter or spectrophotometer in accordance with the recommendations of Shark and Hoagland in the Maclagan test. With normal sera there is not precipitation. Generally the results are somewhat lower in children than in adults.

The degree of positivity of the reaction are expressed in crosses as follows:

(rosees -f- -|—|—f- —|—
(-
Units of
turbidity 4 5-7 8-10 12 or more

When the mixture is left overnight (18 hours) at the room temperature and the reaction is strong positive there will be a complete precipitation in the bottom and the rest of the fluid will be clear. Intermediate degrees of floculation will be reported as -f-f- and -|—(+.

In children or other patients in which it becomes difficult to obtain sufficient amount of blood or the tests has to be frequently repeated this test can be used as an ultramicro-method. Deliver 0.6 cc. of the copper acetate reactive solution in a 3 x 100 mm. test tube. Add 0.01 cc. of fresh serum from the patient and see the results similarly as in the standard reaction.

The copper acetate test offer no objection to its use by the patient nor by the technician or the physician working on a laboratory, since exempt them to handle or inhale toxic substances used in other tests, such as mercury dichloride, iodine, cadmium, etc. The toxicity of cadmium and its compounds when inhaled or ingested is wellknown, as well as their carcinogenic effects on man.

CONCLUSIONES

En diciembre 15 del presente año 1970, se cumple el XV aniversario de haber sido propuesta la reacción Sellek-Frade del acetato de cobre, para el diagnóstico y pronóstico y tratamiento de las hepatopatías.

En este trabajo los autores revisan las comunicaciones internacionales sobre ella, aparecidas en revistas médicas de Europa, América y Asia.

De acuerdo con la casi totalidad de los investigadores, ella refleja los más diversos aspectos de la patología clínica de las enfermedades hepáticas, siendo su valor innegable.

La prueba *Sellek-Frade* del acetato de cobre es muy útil en la hepatitis

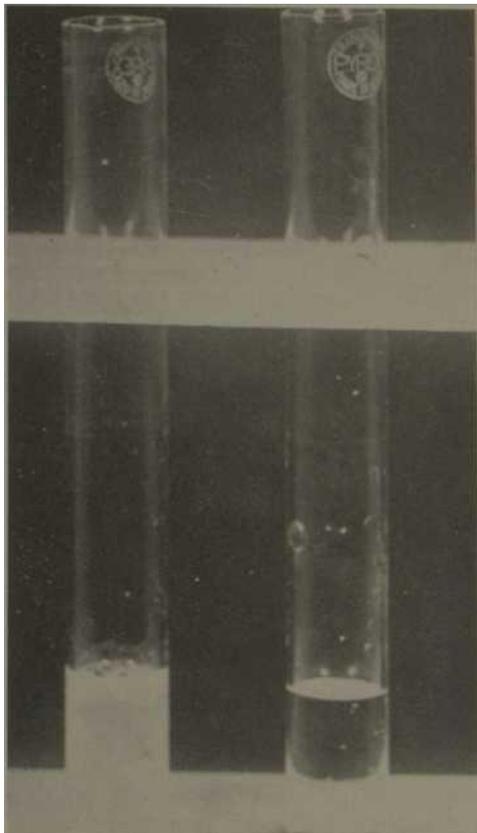


Fig. 1 — Prueba del acetato de cobre de Sellek- Frade para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades hepáticas. Izquierda: un caso fuertemente positivo. Derecha: un caso negativo.

viral, en el diagnóstico diferencial de los ícteros y en las cirrosis hepáticas de todo tipo.

Resultados anormales se observan con su uso en el 90% del comienzo de la hepatitis viral y en un 76% de las formas inictéricas. En el período de estado sería positiva en el 100%, guardando relación su grado de positividad con la gravedad del proceso. Ella es también útil en el tratamiento y pronóstico de la hepatitis viral. Su negatividad en exámenes repetidos asegura la curación del enfermo. La persistencia de su positividad en la convalecencia, indica que nos encontramos frente a una forma prolongada o crónica o a

una hepatitis que evoluciona a la cirrosis (cirrosis poshepatitis).

Ella es positiva de un 98 a un 100% de los casos de cirrosis, siendo fuertemente positiva. La intensidad de la floculación corresponde generalmente a la gravedad de la evolución clínica. La prueba puede ser positiva en un estadio en el que la cirrosis se manifiesta sólo por un hígado grande monosintomático y en el que la laparoscopia muestra su naturaleza cirrótica.

En las cirrosis hepáticas la prueba del acetato de cobre sería más sensible que las reacciones clásicas de *Takata- Ara*, *Hanger*, *Maclagan* y *Wunderley- Wuchman*, debiendo estas pruebas ceder el paso muchas veces en clínica a la del acetato de cobre.

En los casos de ícteros obstructivos puros la prueba del acetato de cobre es negativa en el 100% de los casos. Al prolongarse la obstrucción, cuando la fibrosis o la infección aparecen, la reacción se hace positiva. Una reacción negativa en presencia de un íctero intenso, califica el proceso de obstrucción biliar extrahepática o de colestasis intrahepática.

Para muchos, la reacción del acetato de cobre es la mejor prueba para el diagnóstico diferencial de los ícteros. Su realización simultánea con la prueba de *Jorge* es muy útil en clínica para el diagnóstico de determinado tipo de íctero.

En los ícteros neoplásicos la prueba es negativa y muy rara vez débilmente positiva.

En las hepatitis crónicas a evolución fibrótica la reacción es constantemente positiva y muestra una sensibilidad pre

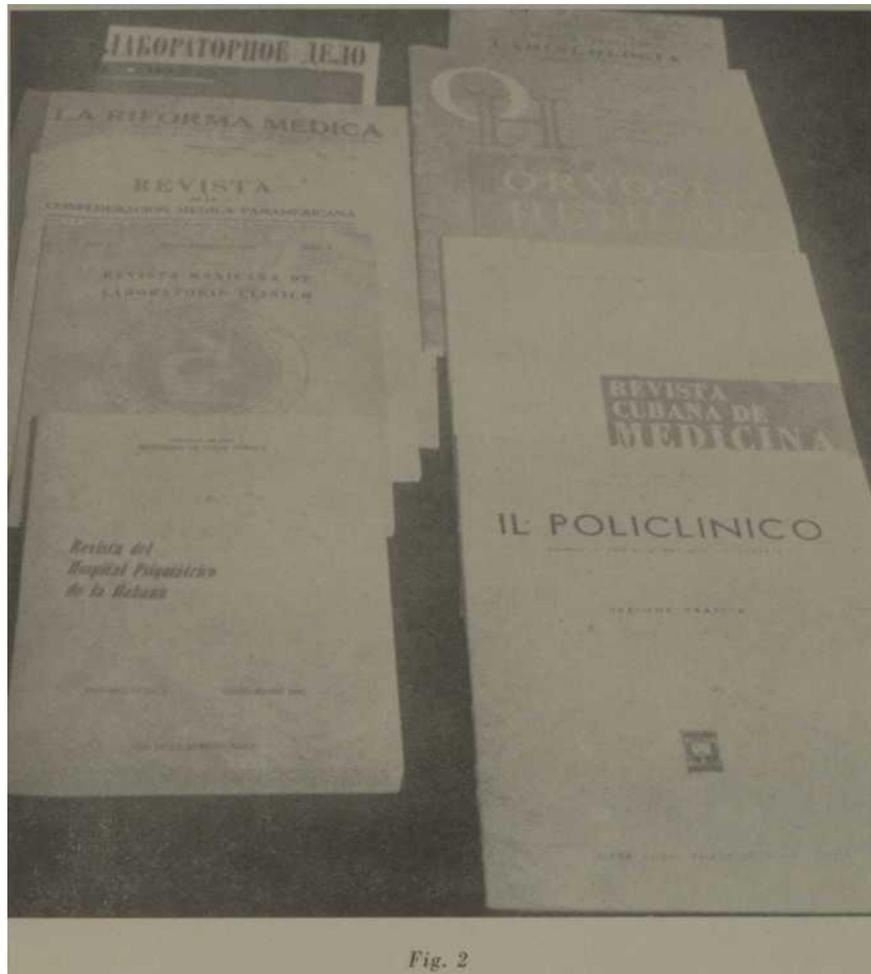


Fig. 2

coz comparada con las reacciones de *Takata-Ara*, *Kunkel* y *Maclagan*.

En los ícteros hemolíticos por conflicto materno-fetal, es negativa en el 100% y en los debidos a sepsis, con producción de gammaglobulina es positiva en un 66%.

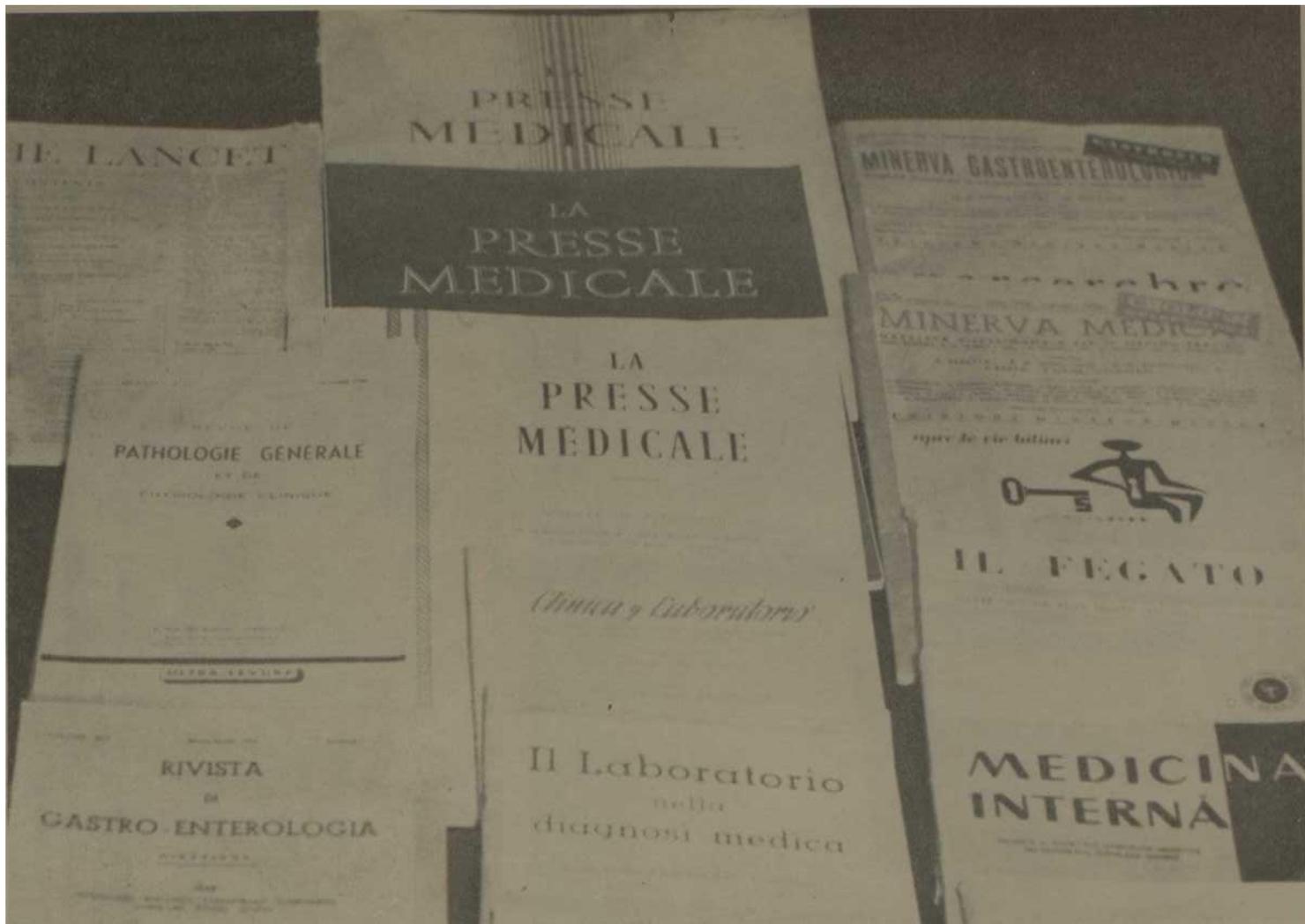
En individuos normales la reacción es negativa en el 100% de los casos.

Realizada simultáneamente la prueba del acetato de cobre y la determinación de las actividades de las transaminasas

glutámica oxalacética y glutámica pirúvica, se encuentra que la transaminasa glutámica oxalacética, es afectada por daños celulares en otros órganos y por contener la bilis normal grandes cantidades de la misma.

En cuanto a la transaminasa glutámica pirúvica, su utilidad reside en el diagnóstico temprano de la hepatitis viral, pues ella luego decrece con el progreso de la enfermedad a niveles normales, aun cuando la enfermedad progresa, no siendo de valor para el pronóstico (*Popper*, *Maclagan*, etc.).

En la atrofia hepática aguda a consecuencia de una hepatitis fulminante, la actividad de las transaminasas suele caer a valores normales. La prueba del





Figs. 2. 3 y 4 — Corresponden a algunas revistas médicas de diversos países en las cuales han aparecido trabajos científicos sobre la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las hepatopatías.

acetato de cobre en tales casos se comporta como fuertemente positiva. En general en las cirrosis e ícteros obstructivos, los resultados de las citadas transaminasas son muy variables (Schiff).

En los pacientes con alguna enfermedad general con complicaciones hepáticas (mononucleosis, anemia sickle cell etc.) caracterizadas por hipergammaglobulinemia, la prueba del acetato de cobre se hace positiva.

En la insuficiencia cardíaca congestiva, la prueba es positiva en un variable, pero elevado porcentaje de casos. La positividad se modifica por acción de la terapéutica, excepción hecha de los hígados cardíacos irreductibles, que evolucionan hacia una cirrosis.

La positividad de la prueba del acetato de cobre depende de alteraciones cualitativas y cuantitativas de las globulinas gamma (100%), siendo este hecho acentuado por modificaciones cuantitativas de otras proteínas del plasma. Por electroforesis se encuentra en los casos positivos un aumento de la gammaglobulina en el 100% y un decrecimiento de la serina en el 66%.

La prueba del acetato de cobre tiene mayor valor en el diagnóstico de las hepatopatías que la electroforesis; pues lo esencial puede ser por ella obtenido, en forma simple, sin necesidad de recurrir a métodos complicados. Por otra parte, al descubrir ella alteraciones, no sólo

cuantitativas, sino también cualitativas, puede ofrecer resultados positivos, siendo la electroforesis normal.

Practicada la prueba del acetato de cobre y la de la bromosulfaleína simultáneamente en personas presumiblemente normales, para identificar lesión hepática, se encuentra una concordancia absoluta entre ambas pruebas; sin embargo ella supera a la prueba de la bromosulfaleína por carecer ésta de valor para el diagnóstico diferencial de los ícteros y por dar falsos resultados positivos, cuando existen trastornos circulatorios. Además, la prueba de la bromosulfaleína ofrece inconvenientes y peligros para la vida de los pacientes. Su valor se reduce para aquellos casos en los cuales no hay ícteros ni trastornos circulatorios.

La bibliografía internacional considera de enorme valor la prueba del acetato de cobre en: Hepatitis viral aguda, cirrosis de todo tipo, ícteros obstructivos puros, lesiones hepáticas por obstrucción biliar extrahepática, lesiones hepáticas causadas por dietas o hepatitis crónicas de evolución fibrótica, lesiones hepáticas por agentes infecciosos (no víricas), lesiones hepáticas metabólicas (hemocromatosis), lesiones hepáticas en casos de hipertiroidismo, lesiones hepáticas en esquizofrénicos, lesiones hepáticas por hemolisis (anemias a células falciformes), hígado de estasis, síndrome de *Banti*, agnesia de las vías biliares, hepatitis hípica, etc.).

SUMMARY

Sellek, A. *XV anniversary of Sellek-Frade copper acetate test for the diagnosis, prognosis and treatment of hepatopathies, review of world literature.* Rev. Cuh. Cir. 10: 2, 1971.

The copper acetate test is simple and practical. It uses only one reagent: stable, easy to prepare and to obtain and of low cost. The test can be developed as reaction: standard, quantitative and ultramicromethod. Concluding, the Sellek-Frade copper acetate test is by its ensemble of qualities a procedure of increasing international interest, which reflects the clinical status of the patient with more accuracy and sensibility than the other hepatic function tests and which is recommended for the diseases of the liver and biliary ways by investigators from Albany, Argentina, Cuba, Colombia, United States of America, Spain, France, Honduras, Hungary, Italy, México, Perú and USSR.

RESUME

Sellek, A. XV aniversario de la prueba de Sellek-Frade a Facétate de cuivre pour le diagnostic, vronostic et traitement des héatopathies. Revue de la littérature. Rev. Cub. Cir. 10: 2, 1971.

La prueba de l'acétate de cuivre est simple et pratique. Elle emploie un seul réactif: stable, facile á préparer et d'acquérir et d'un coût infime. La preuve peut être développée comme reaction: standard quantitative et ultramicrométhode. En conclusion, la preuve de l'acétate de cuivre de Sellek-Frade est un pocédé d'intéret Internationale croissante qui refléte l'état clinique du patient avec une plus grande exactitude et sensibilité que les autres preuves de la fonction hépatique et laquelle est recommandée pour les maladies du foie et des voies biliaires par les rechercherurs d'Albanie, Argentine, Cuba, Colombie, Etats Unis, Espagne, France, Honduras, Hongrie, Italie, Mexique, Pérou et l'URSS.

PE3BKME

CéJii.eK A. xy roflOBumH TecTa Sellek-Frade Mejoro aneTaTa **juia** noctaHO Ruerna jmarH03a z renaTonatañ. IlepecMOTp mjtdoboB jraTeoaTypH.
Rev. Cub. Med., 10: 2, 1971.

TecT MejHoro aneTaTa'HBjHeTCH npocTUM h npaKTHHeCKmi. Oh ynoTpeóJweT O.HHH peaKTHB: ycToñ^HBHñ, Jiéncoro npHxoTOBJiefmH z npzoópeTeHza z hh3 ko8 aera. Moxho pa3BHBaTi> TecT. Kan peaKHHH: cTaanapr, KOjnnecTBeHHiift z yjiBTpaMHKpoMeTOiJ. B KOHne kohiobi TecT Mejoro aneTaTa CeJibeicoro- í>pajie - HBjweTCH, no ero KanecTBaM, MeTOflOM c MejinyHaponHHM pacTymzMH HHTepecOM, OTpasaianHM KjiHHzneckoe cocTOHHze ójiiHoro c Cójame totooc TBB H qyBCTBHTeJIBHOCTBK), *ieM ftypTze TecTH Oe'teHO'IHOI (JiyHKnHZ, JUH KOToporo, zcc.ne.noBaTejiz, CBH3aHHHe c yHHBepe ZTeTaMH 03 AjiOarota, A.p-reHTHHH. KyOn, Kojmaozz, C.III.A., KenaHZZ, \$paHm. rofmyaca, Bearpms HTama, ifeKCZKZ, llepy z C.C.C.P. peKOMestuyM' ero MHpoBoe ynoTpeojieHze b 3a0o^eBaHHax ne^emi z jséJPiHHx nyTeS.

BIBLIOGRAFIA

1. —Sellek, A. y del Frade, A.: La nueva prueba turbidométrica del acetato de cobre como índice de disfunción hepática. Revista Cubana de Laboratorio Clínico, 10: 26, 1956.
2. —Owen, J. A. and Roberts, R. F.: Paper electrophoresis of serum proteins in hepatobiliary disease. Lancet-, 1125: 1128, 1956.
3. —Sellek, A. y del Frade, A.: Serorreacción de turbidez y floculación del acetato de cobre para el diagnóstico de las hepatopatías. Prueba standard, cuantitativa y ultramicrométodo. Significación clínica, 11: 58, 1957.
4. —Sellek, A. y del Frade, A.: Prueba de Sellek-Frade para el diagnóstico de las hepatopatías. Electroforesis. Biopsia. Significación clínica. Revista Cubana de Laboratorio Clínico, 11: 102, 1957.
5. —Sellek, A. y del Frade, A.: Copper acetate turbidity and flocculation test for the diagnosis of disease of the liver. Gradwohl Laboratory Digest, 21: 8, 1957.
6. —Sanlard, A. H.: Liver function test. Post-graduate Medicine, 22: A 68, 1957.
7. —Wollemveber, H. L.: New liver function test: copper acetate turbidity. Current Medical Digest, 24: 64, 1957.
8. —American Journal of Clinical Pathology. Selected titles from foreign Journals, 30: 350, 1957.
9. —Ramírez, A.: Estudio comparativo entre la reacción del acetato de cobre y los tests de cefalina-colesterol, oro coloidal, timol y sulfato de zinc. Tesis profesional. Universidad de San Marcos. Lima. Perú, 1957.
10. —Salgado, S.: Reacción de Sellek-Frade y su comparación cualitativa con otras pruebas. Tesis profesional. Universidad de San Marcos. Lima. Perú, 1957.
11. —Castillo, P. A.; López Fernández, F.; Medina, D.: Nuestra experiencia con la prueba de Sellek-Frade en el diagnóstico de las hepatopatías. Revista Cubana de Laboratorio Clínico 11: 100, 1957 y Revista de la Confederación Médica Panamericana, 5: 279, 1958.
12. —Fraga, S.: La reacción de Sellek-Frade en la investigación del funcionamiento hepático. El médico. 8: 82. 1958 y Noticias Clínicas, 16: 33, 1958. México, D. F.
13. —Silva II.: La reacción de Sellek-Frade en el estudio de la insuficiencia hepática. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, 1958.

14. —*Bolio, A.*: Turbidez y floculación del acetato de cobre como prueba funcional hepática. Tesis profesional. Universidad Nacional Autónoma de México, 1958.
15. —*Maclagnn, N. F.*: Los tests de floculación en la función hepática. *El Día Médico*. Buenos Aires. Nov. de 1958. (Pág. 31).
16. —*Faberi, M. y Polini, L.*: La reazione all'acetato di rame di Sellek-Frade confrontata con altre prove di siero labilita negli epatopazienti II Lab. in la *Diag. Medica*, 3: 136, 1958.
17. —*Delgado, C. S.*: Estudio paralelo entre las serorreacciones de turbidez y floculación del acetato de cobre de Sellek-Frade, Hanger y timol en las hepatopatías. *Revista del Colegio Q-F de Chile*, Junio de 1958.
18. —Liver function. Leading articles. *The Lancet*. Londres, nág. 403, 1958 (August 23).
19. —*Sellek-A. y del Fmde, A.*: Prueba de Sellek-Frade del acetato de cobre y actividad de las transaminasas glutámica oxalacética y pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. *Revista Cubana de Laboratorio Clínico*, 13: 30, 1959.
20. —*Iovine, E.; Gaya, C. E.; y Villa, J. C.*: Fotocolorimetría Clínicas. Editorial Universitaria. Buenos Aires, 1959.
21. —*Fraga, S.*: Modificación a la lectura de la reacción Sellek-Frade del acetato de cobre *Revista Mexicana de Laboratorio Clínico*, XI: 1), 1959.
22. —*Povner, H.*: Profesor de la Escuela de Medicina de la Universidad de Colombia de New York. Comunicación personal, 1959.
23. —*Pavon, C. A.; y Sile'ido, C.*: El test de Sellek-Frade y su comparación con los de Kunkel y timol. Tesis de la Facultad de Farmacia y Farmacia de la Universidad de San Marcos, Lima. Perú. 1959.
24. —*Novjime, O.*: Interpretación clínica de los tests de Sellek-Frade. Editor: M. V. Freneda. La Habana. 1960.
25. —*Nguyen-The-Minch*: La réaction á l'acé- de cuivre de Sellek-Frade Son milité dans les affections hépatiques. *La Presse Médicale*. Num. 32, 1958, Jun. 25 de 1960.
26. —*Cazzato, G.*: La reazione all'Acetato di rame di Sellek-Frade neali schizofrenici. *Giornale di Psiauiatria e di Neuro- patología*, 88: 849, 1960 (Núm. 4).
27. —*Granulo, P. O. y Boabista A I*: Estudio comparativo da prova de Sellek-Frade. *Rev Brasileira de Medicina*, 15: 410, 1960 (Maio).
28. —*Reinhold, J. G.*: Floculation tests and their application on the study liver di- sea-e. *Advances in Clinical Chemistry*, 5: 126, 1960.
29. —*Lemaire, A. e \Ngwen-The Minch*: Les tests de floculation dans les maladies du foie. *Rev- de Patologie Générale et de Phvsilogie*, 69; 1229, 1960. (Oct. Nntn. 721).
30. —*Basnuevo, J. G.*: Bibliografía internacional sobre la prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico de las liepatopatas. *Rev. Kuba*, 16: 63, 1960.
31. —*Marticorena, A.*: Reacciones de Salazar Mallen y Sellek y Frade en liepatopatas. *Revista "Laboratorio" (Granada, España)*, 30, 407, 1960.
32. —*Castillo, F. G.*: Evaluación de las pruebas de laboratorio en las enfermedades del hígado. *Rev. Cubana de Laboratorio Clínico*, 14: 99, 1960.
33. —*Maclagnn, N. F.*: Profesor de Química Patológica de la Escuela de Medicina de la Universidad de Londres, 1960. Comunicación personal.
34. —*Wrobleivski, F.*: Profesor de Medicina de la Universidad de Cornell. Comunicación personal, 1960.
35. —*Wührmann, F.*: Profesor de Medicina de la Universidad de Zurich (Suiza). Comunicación personal, 1960.
36. —*Celsi, H. T. y Trevisan, A. B.*: Valor diagnóstico de la reacción de Sellek-Frade en las afecciones hepatobiliares. *La Prensa Médica Argentina*, 48: 2627, 1961.
37. —*Celsi, H. T.*: Hepatograma. Su interpretación actual. *La Prensa Médica Argentina*, 48: 2627, 1961.
38. —*Sellek, A. y del Frade, A.*: Prueba Sellek-Frade del acetato de cobre y actividad de las transaminasas glutámica oxalacética y glutámica pirúvica en sueros de niños con hepatopatías. *II Fegato (Roma)*, 7: 149, 1961.
39. —*Solari, E. y Botaro, F.*: Ricerche su du una nuova reazione di labilita colloidale. *II Laboratorio Nella Diagnosis Me. dica*, 6: 58, 1961.
40. —*Nguyen-The-Minch*: La réaction á Facétate de cuivre de Sellek-Frade. Son uti- lité dans les affections hépatiques. *II Fegato*, 7: 149, 1961.
41. —*Permanver, J. J.*: Capítulos de Laboratorio Clínico en Síntesis Médica. Barcelona. Años: 1957, 1961 y 1963.
42. —*Viranumti, V. y otros*: Furtlier study on iodine of liver function test. Relations in between iodine test and other liver function test. *A- J. Gastroenterology*, 36: 468, 1961.
43. —*Viranuvati, V. y otros*: Copper acetate (Sellek-Frade) test of liver réaction. To be published.
44. —*Houssay, B. A.*: Comunicación personal. 1961.
45. —Anales de la Cátedra de Clínica Médica del profesor E. S. Mazzei. Año 1961-62.
46. —*Rouques, L.*: La réaction de Sellek-Frade dans les affections hépatiques. *Presse Médicale*, 70: 770, 1962 (Marzo 31).
47. —*Fraga, S.*: Semiología de las pruebas hepáticas. *Rev. Mexicana de Laboratorio Clínico*, 14: 77, 1960.
48. —*Popper, H. y Schajfner, F.*: El hígado. Su estructura y función. Editorial No- guer, Barcelona, 1962.

49. —*Domeuleneare, L.*: Savoir interpréter l'examen fonctionnel hépato-biliaire. Editor. Albert de Vissecher, Brusela, 19, 1962.
50. —*Galmarini, O. V.*: Evaluación de la reacción turbidométrica del acetato de cobre. La Prensa Médica Argentina, 49: 739, 1962 I Marzo 31).
51. —*Padolechia, N.; Panuro, A. I.; Maiorano, C.*: Experimentacione clinica e indagini fisiopatologiche sul nuovo test di labilita coloidal di Sellek e Frade. Minerva Medica, 53: 2855, 1962 (sep. 29).
52. —*Ionescu y otros*: Consideratti rritice asupra testolore de disproteinemia eu referire apreciata la reacción Sellek-Frade. Med. Int., 14: 359, 1962. (Martie). Bucarest.
53. —*Vietorisz, K.*: Modified Sellek del Frade liver function test. Orvo i Hetilap. 103: 1904-5, 1962. 7 Oct. Budapest.
54. —*Baldi, A. y Ferrara, E.*: Test all acetato di rame nella diagnostica della epato- patie. Igiene e San. Public, 18: 146, 1962.
55. —*Muntoni, S.*: La reazione di Sellek-Frade nella diagnostica della affezione epati- che. Minerva Gastroenterologia, 8: 148, 1962 (Oct.-Dic.).
56. —*Vio, A.*: Diagnosi differenziale degli it- teri: la proba all'acetato di rame di Sellek-Frade comparata al test di Jirgl. Revista di Gastroenterologia (Parma), 14: 59, 1962 (Marzi- AbriD).
57. —*Minarelli, A.*: Reazione dell'acetate di rame di Sellek-Frade, Romagna Medica, 14: 621. 1962 (Dec.).
58. —*Watanabe, R.*: Transaminasas séricas. Reacción con acetato de cobre y bili- rrubinemia en hepatitis. Tesis de grado. Medicina. México, XLIT: 426, 1962.
59. —*Watanabe, R.*: Transaminasas séricas. Reacción con acetato de cobre y bili- rrubinemia en hepatitis. Tesis de grado. Medicina. México. XLVII. 445, 1962.
60. —*DuarteMarín, N.*: Serorreacción de Sellek-Frade para el diagnóstico de las he- patopatías. Revista de la Clínica de Maternidad "David Restrepo". Bogotá. Colombia, 3: 32, 1962.
61. —La prueba de labilidad coloidal de Sellek-Frade La Semana Médica. Buenos Aires. Editorial, 122: 151, 1963 (Enero 31).
62. —*Trevisan, A. P.*: Ictericias nostliepática. Estudio clínico y humoral. L't Prensa Médica Argentina. 50: 70. 1963 (Enero 4).
63. —*Papadhimtiri, O.*: The Sellek-Frade (Cooper Acetate) test in viral hepatitis. Bull, Univ. Shtet Tirane (Mick), 3: 66. 1963.
64. —*Gómez, J. A.*: Pruebas funcionales hepáticas en el diagnóstico de las enfermedades del bisado. Monografía 1963 Honduras. Tegucigalpa.
65. —*Schanosnik, F.; Milmn. F. y Cnciatore, J.*: La prueba del acetato de cobre en la exploración funcional del hígado. Orientación Médica. Buenos Aires, 12: 437, 1963 (Agosto 23).
66. —*Más Martín, J. C.; Corral, J. F. y otros*: Lecciones de laboratorio clínico. Escuela de Medicina. Universidad de La Habana.
67. —*Peg, J. y Puyol, J.*: Estudio químico- clínico de la reacción de Sellek-Frade. Revista Clínica y Laboratorio, 49: 285, 1962. (Zaragoza. España).
68. —*Sellek, A., Frade, A. y Perelló, J. M.*: Valor de la reacción de Jirgl en el diagnóstico de los teteros obstructivos. Revista Cubana de Pediatría, 36: 515, 1963.
69. —*Fiabane, L. y Targon, H.*: La prove di Sellek-Frade in rapporto alie attivita transiniseche nell'epatite virale?. II Laboratorio nella diagnosi medica, VIII: 37, 1963.
70. —*Ijudner, G. P. y otros*: Kazan Medical Journal, Num. 5, 19.63.
71. —*Kinslenko, D. I.*: Thesis. 7. Congress of Microbiology Epidemiology, 1963. (Kiev. URSS).
72. —*Viranuvati, V. y otros*: Liver function test and hepatic amebiasis. Based in 274 cases. Am. J. Gastroenterology, 39: 345, 1963-
73. —*Floris, N. y Muntoni, S.*: Ricerche sull' idrofluorosi. Comportamento di alcune prov« di labilita sérica e di funzionalita epatica in soggetti idrofluorotici. Minerva Médica, 54: 3895, 1963.
74. —*Pinera, A. y otros*: Contributo casistico al valore clínico di una nuova prova di sierofloculazione la prove all'acetato di rame. Medicina Clinica e Sperimentales, 14: 71, 1964, (Roma).
75. —*Mikol, E.*: La réaction de Sellek-Frade á Facéate de cuivre en hépatologie. La Presse Médicale, 72:2930, 1964 (Num. 49, Nov. 21).
76. —*Celsi, T. II. y Trevisan, A. B.*: Valor diagnóstico de la reacción de Sellek- Frade en las afecciones hepatobiliares. II Fegato, 10: 123, 1964.
77. —*Amorelli, A.*: II valore del teste di Sellek-Frade nelle tonsilliti cronich focali. Arehivi Italiano di Laringología, LXXII: 467, 1964.
78. —*Sellek, A. y del Frade, A.*: Prueba Sellek-Frade del acetato de cobre para el diagnóstico de las henatopatías ocho años después. Revista Mexicana de Laboratorio Clínico, 17: 17, 1965.
79. —*Peg, V. y Puyol, J.*: Estudio aumico- clínico de la reacción de Sellek-Frade. Rexista Mexicana de Laboratorio Clínico, 17: 99, 1965.
80. —*Bassi, M.; Bufardeci, G.; D'Alonzo, D.; Menci, S.*: Utilita della reazione Sellek- Frade nelle affezione epatiche e consi- derazioni sul suo connortamento depo terapia prednisolonica. II Policlinico. Sesionc Pratica, 72: 639, 1965.
81. —*Monari, E. y Pezzoli, A.*: Connortamen- to della reazione di Sellek-Frade all'

- acetato di rane nelle epatiti virali infantile. La Clinica Pediatrica (Bologna), 48: 80, 1965.
82. —Furiosi, P. y Pasquini, F.: L'uso combinato di due semplici tests sierologici nella differenziazione degli itteri. Gazz. It. Med. Chir., 70: 136, 1965.
 83. —Tamayo, R. y Sagarreta, A.: Hepatitis viral. Revisión estadística en un año de docencia, 4: 350, 1965.
 84. —Elizastegui, F.: La hepatitis viral. Estudio estadístico sobre 373 casos. Revista Cubana de Medicina, 28: 64, 1965.
 85. —Coata, G. y Filetti, A.: La nostra esperienza con la reazione di Sellek-Frade. Riforma Medica (Nápoles), 79: 1100, 1965.
 86. —Ginnini, G. y Maseiri, E.: Valore diagnostico della reazione di Sellek-Frade nelle epatopatie acute e croniche. Rass. segna Italiana di Gastroenterologia, 3: 349, 1966.
 87. —Frade, A.; Pérez Montes, L.; Behar, N. y otros: Experiencia clínica con la prueba de Sellek-Frade o del acetato de cobre. Revista Cubana de Medicina, 28: 82, 1966.
 88. —Mikol, Cl.: Valeur de la reaction de flocculation a l'acétate de cuivre. La Presse Médicale, 74: 199, 1966 (2 Janvier).
 89. —Aguirre, G.: Una investigación útil y eficaz en el diagnóstico de las hepatopatías. La prueba de Sellek-Frade. Nuestra Experiencia. Gaceta Médica del Norte, XVI: 326, 1966. Bilbao. España.
 90. —Gutiérrez Agramonte, E.; Hierrezuelo, P. O. y Magriñat, J. M.: La prueba del acetato de cobre de Sellek-Frade en la esquizofrenia. Revista del Hospital Psiquiátrico de La Habana, 7: 359, 1966.
 91. —Nobile, M.: La reazione di Sellek-Frade nella diagnostica funzionale del fegato del bovino e nel búfalo. Acta Medica Veterinaria, XII: 101, 1966. (Nápoles. Italia).
 92. —Sellek, A. y del Frade, A.: Testi i Sellek-Frade acetat bakeri ne semundjet e melcise. Buletin i Univercitetit Shteteror te tiranes. Nr. 1. viti 1966 (Albania).
 93. —Deberavolski, K. A. y Gorvounava, N. P.: Significado diagnóstico de la prueba del acetato de cobre en la enfermedad de Botkin (Hepatitis Infecciosa). Revista Asuntos de Laboratorio. Núm. 10, págs. 601-602, 1967 (Moscú, URSS).
 94. —Gras, J.: Proteínas plasmáticas. Editorial Jims. Tercera Edición, 1967. Barcelona, España.
 95. —Paniagua, M.: Fundamentos clínicos para la indicación de las pruebas hepáticas en nuestro medio. Revista Cubana de Medicina, 6: 152, 1967.
 96. —Senti Paredes, A.: Exploración funcional del hígado. Revista Cubana de Medicina, 6: 529, 1967.
 97. —Jaulmes, Ch.; Jude, II.; Querangol, I.; y Delgas, J.: Editor Toray-Masson- Barcelona, 1968 (Obra de Jefes de Laboratorio del Ejército Francés).
 98. —Peris, G.; Mántale, P.; Nieorai, E.: Nuestra experiencia con el test de Sellek-Frade all'acetate di rame: su significato nella patologia epatobiliare. Archivio Maragliano di Patología e Clinica, 24: 657, 1968.
 99. —Pérez, R.; Stepanov, I. y Rodríguez, J.: Leptospirosis Congénita. Revista Cubana de Medicina, 6: 152, 1967.
 100. —Mazarella, C.: Diagnóstico Diferencial de laboratorio en los estados de ictericia. La Riforma Médica (Nápoles), Núm. 17 de 1968.
 101. —Mazzei, E. S.; Celsi, T. H. y Lasala, F. G.: Hepatitis viral aguda. Experiencia durante los últimos diez años. Prensa Médica Argentina, 55: 156, 1968.
 102. —Sellek, A. y del Frade, A.: The Sellek-Frade copper acetate test in liver diseases. II. Pegato (Roma), 14: 4, 1968.
 103. —Larragoiti, R.: Comunicación sobre la reacción del acetato de cobre en las psicosis esquizofrénicas. Revista del Hospital Psiquiátrico de La Habana, X: 440, 1969.
 104. —Manual de técnicas para laboratorios clínicos. Grupo nacional de laboratorios clínicos del Ministerio de Salud Pública. Editor: Instituto del Libro, La Habana, 1969.
 105. —Olivé Bardosa, A.: Las pruebas funcionales hepáticas y datos de laboratorio en la hepatitis viral de los niños. Acta Pediatrica Española, 25: 885, 1967.
 106. —Mazzei, E. S.: Comunicación personal. Buenos Aires, 1967.
 107. —Shiff, L.: Diseases of the liver. Editor, J. B. Lippincott, Philadelphia, 1963.
 108. —Sherlock Sheila: Diseases of the liver and biliary system. Blackwell Scientific Publications, 1963.
 109. —Zimernuin, J.: Todd-Sanford (David-son-Wells): Diagnóstico clínico por el laboratorio. Editor: Marin, Barcelona, 1966.
 110. —De Prado, L. II.; Seoane, R. M. y Celsi, T. H.: Estudio comparativo entre los niveles plasmáticos de gammaglobulinas determinadas por la electroforesis en papel y la reacción de Sellek-Frade. La Prensa Médica Argentina, 56: 143, 1969.
 111. —Romero, E.: Comunicación personal. Profesor de Patología Médica de la Universidad de Valladolid, España, 1970.
 112. —Chinsky, M.; Schmagranoff, G. L. and Sherry, S.: Serum transaminase activity observations in a large group of patients. J. of Lab. and Clin. Med., 47: 108, 1956.
 113. —Deboravolski, K. A. y Gorvounava, N. P.: Laboratornoe Délo (Asuntos de Laboratorio). Moscú. URSS. Número 1 de 1970.

Rev. Cub. Med. 10: 163-166, Marzo-Abril 1971.

HOSPITAL REGIONAL "DR. MARIO MUÑOZ", COLON, MATANZAS