

UN MÈTODE PER A TENYIR RÀPIDAMENT ELS CORPUSCLES DE NEGRI EN EL DIAG- NÒSTIC HISTOLÒGIC DE LA RÀBIA

per

AGUSTÍ AMELL I SANS

Les llargues i enutjoses manipulacions que exigeix una bona inclusió en parafina necessària per a obtenir una perfecta coloració, amb el mètode de Mann, dels corpuscles de Negri, ens portaren a intentar d'emprar aquest sistema de coloració en talls fets per congelació; però ens fou gairebé impossible d'obtenir-lo amb una constància suficient per a resistir els diferents passatges d'aquest sistema a causa de la gran fragilitat que donen al teixit els fixadors recomanats.

Deixant a part, doncs, tots aquells mètodes que exigeixen una inclusió en parafina o cel·loidina, o bé l'ús de colorants de difícil adquisició (Lentz), i, convençuts de les immillorables qualitats del formol com a enduredor que permet de fer talls en teixits fixats en poc temps, cercàrem un mètode que ens permetés fer la coloració en teixits fixats amb aquesta substància.

Teníem a mà tres mètodes diferents : el d'impregnació amb l'argent amoniacal d'Achúcarro modificat per Del Río Hortega (1), el de Domingo i el de Gallego. El primer, que tan belles imatges estructurals dóna, no tenia

per a nosaltres utilitat pràctica en els anàlisis ràpids, car exigeix un mínimum de fixació de 3 dies per donar una bona impregnació.

El mètode de Domingo (2), durant molt temps usat per nosaltres en la pràctica d'anàlisis, que es limita a una senzilla coloració amb l'hematoxilina-eosina (ja que l'acció prèvia del Sudan III és debades, car és posteriorment anul·lada per la deshidratació que arrabassa aquest colorant), tampoc no ens permetia de fer els anàlisis amb rapidesa i seguretat, car sols dóna una coloració bona en teixit sotmès a una fixació de 24 hores a l'estufa a 37° i amb un temps de coloració amb l'eosina de 20 minuts com a mínimum. Aquest colorant era substituït per nosaltres, amb notable avantatge, per l'eritrosina (solució aquosa al 2 per 100).

Darrerament vingué a les nostres mans el mètode exposat per Gallego (3), que colora els corpuscles, prèvia coloració dels nuclis amb la fucsina de Ziehl diluïda, amb el picrocarmí d'indic, després d'haver-los sensibilitzat amb una solució nítrico-fèrrica. Aquest mètode dóna imatges bones, dels corpuscles de Negri, però en colorar aquests amb el picrocarmí d'indic, aquesta substància arrabassa i substitueix la major part del colorant nuclear i dóna com a resultat imatges dels nuclis sumament confuses que dificulten la diferenciació entre corpuscles i nuclis.

Fruit de les nombroses experiències obtingudes emprant els mètodes abans citats és el nostre mètode de coloració. Fixarem amb el formol al 20 per 100 segons les regles dictades per Gallego, és a dir, augmentant la temperatura a mesura que el temps de fixació s'escurci. En els casos urgents podrem àdhuc fixar escalfant en la solució de formol trossos de banya d'Ammon d'1 mm. de gruix com a màxim, fins a portar-los a ebullició durant uns 30 a 40 minuts en els casos ordinaris, i 1 hora quan

es tracti d'un teixit en descomposició o, provinent d'un animal de poc temps en el qual el teixit nerviós no és prou consistent per a ésser ben tallat si no s'ha sotmès abans a una bona fixació. L'escalfament cal que sigui lent a fi que l'enduriment prematur de la part superficial degut a un escalfament ràpid no dificulti la penetració del fixador a la part central, la qual cosa donaria una gran fragilitat als talls. Quan no es tingui pressa és més còmode i més segur fixar en 6-12 hores a la temperatura del laboratori o en menys temps a l'estufa a 37°. Una segona fixació amb l'alcohol absolut assegurarà la perfecta infiltració dels nuclis del teixit amb l'hematoxilina de Delafield, substància que resistirà perfectament la segona coloració amb el picrocarmí d'indic després d'una breu rentada, que dóna unes imatges perfectes dels reticles cromàtics, fàcilment diferenciables de les estructures corpusculars. Heus ací la tècnica a seguir després de l'extracció de la banya d'Ammon.

I. — Fixació, amb el formol al 20 per 100, el temps necessari per a obtenir un bon enduriment (el millor temps és d'unes 6 hores a l'estufa a 37°).

II. — Talls a congelació de 6 a 10 micres.

III. — Segona fixació amb alcohol absolut durant 5 minuts.

IV. — Coloració amb l'hematoxilina de Delafield, durant 5 minuts. Cal tenir cura que els talls no es malmetin en passar d'un líquid més concentrat, com l'alcohol absolut, a un altre que, com l'hematoxilina de Delafield ho és menys. Per evitar-ho poseu els talls al fons ràpidament i després deixeu-los rodar per la superfície, on us serà més fàcil de retrobar-los.

V. — Rentar els talls en un cristal·litzador amb aigua destil·lada fins que esdevinguin blavencs.

VI. — Colorar durant 3 a 5 minuts amb la solució de picrocarmí d'indic. (Solució de carmí d'indic al 5 per 100 barrejada en parts iguals amb una solució d'àcid pícric a saturació.)

VII. — Rentar els talls amb aigua destil·lada ràpidament.

VIII. — Deshidratació amb alcohol absolut.

IX. — Sense deixar assecar la preparació, aclarir amb xilol fenicat.

X. — Muntar amb el bàlsam del Canadà.

RESULTATS

Els nuclis de les grans cèl·lules piramidals, així com també els de la neuroglia i els de la microglia, resten tenyits d'un violeta intens que ressalta sobre el fons verd del teixit. El protoplasma d'aquestes cèl·lules té una tonalitat verd-violeta, sobre la qual ressalta la intensa coloració verda dels corpuscles de Negri, en els quals resta lleugerament tenyida l'estructura interna. La trama formada per la neuroglia i la microglia és també colorada d'un verd més clar que el dels corpuscles. Els hematies són colorats de verd tirant a groc, sobretot si la rentada final ha estat ben ràpida; aquest to més groguenc permet diferenciar-los dels corpuscles, així com la menor refringència d'aquests.

Laboratori Bacteriològic Municipal de Barcelona

BIBLIOGRAFIA

1. *Del Río Hortega*, Bol. de la Soc. Española de Biol. Mayo 1918.
2. *P. Domingo*, Treb. de la Soc. de Biol., 1922.
3. *A. Gallego*, Rev. de Hig. y de San. Pec. Agosto 1924.