

Al carissimo Sign. Prof. Engel
in omaggio e affezione
16. IV. 1923 Beretväs

Clin. Dermosifil. della R. Univ. di Palermo
(Direttore Prof. Philippson)

L. BERETVÄS

Sul metodo di Philippson
e quello di Kaup per la
prova della fissazione del
complemento nella sifilide



Estratto dall'Archivio di Patologia e Clinica Medica
Vol. II - Fasc. I - Marzo 1923

1707
B
58
H

BOLOGNA

L. CAPPELLI - EDITORE

Sul metodo di Philippson e quello di Kaup per la prova della fissazione del complemento nella siflide

L. Beretvàs

Sebbene esistano parecchie modifiche della R. W. che hanno lo scopo di trarne il maggior numero possibile di risultati positivi, nessuna ha potuto introdursi nella pratica comune, perchè peccavano tutti del difetto di dare talvolta dei risultati erronei. Le norme prescritte dal WASSERMANN stesso continuano ad esser generalmente seguite, appunto perchè garentiscono sicuramente l'esattezza dei risultati. Intanto rimane sempre il desiderio dei medici di adattare la reazione alle esigenze cliniche per poter completare l'esame degli ammalati anche coll'esame sierologico.

In questo Istituto già da anni si trova in uso una modificazione della R. W. elaborata dallo stesso Direttore del medesimo, i cui principi furono esposti da lui sotto il titolo di « Osservazioni intorno alla R. W. nella siflide » e la cui tecnica fu recentemente descritta dal CUCCIA. Con questo metodo si hanno dei risultati positivi sicuri anche in casi i quali non si riconoscono più nella R. W. originale.

E KAUP nella sua monografia pubblicata nel 1917 col titolo « Critica del metodo di R. W. e nuove proposte per la misurazione quantitativa della fissazione del complemento » descrive una modalità tecnica, che mira allo stesso scopo.

Questa è basata su tutt'altri principi di quella di PHILIPPSON, per la quale ragione mi pare istruttivo fare un confronto fra le stesse. Sebbene IZAR in un pregevole studio sul metodo di KAUP corredato anche di proprie osservazioni l'abbia già reso noto nella letteratura italiana, per il mio scopo si rende necessario riassumerlo brevemente.

Il KAUP pensa, che nella tecnica originale di WASSERMANN viene usato il complemento in quantità eccessiva, e che per tale ragione i sieri sifilitici a debole reazione, non vengono messi in evidenza. Pertanto egli mira ad impiegare nella reazione il minimo di complemento e basa su questo principio la sua nuova tecnica, la quale diventa molto differente da quella usuale.

In prima linea importa lo stabilire ogni volta la quantità minima del complemento che si può usare per la reazione. Non è più la quantità fissa di 0,05 ma è invece una quantità variabile che volta per volta si deve stabilire per mezzo di apposite prove. E siccome nella reazione il complemento viene in contatto non solo con l'ambocettore, ma anche coll'estratto, occorre provarlo tanto di fronte al primo, quanto di fronte al secondo. Quindi non basta più una sola prova preliminare, necessitano invece diverse prove preliminari del siero di cavia, onde conoscere esattamente tutte le sue proprietà particolari.

Il titolo dell'ambocettore si determina con 0,025 di corpuscoli rossi (per cui non vengono usati che quelli di montone) sensibilizzati per mezz'ora al termostato, nel

volume totale di 2,5 cm.³, tanto con 0,05 di siero di cavia, quanto con 0,01 e 0,02 dopo permanenza di 45' in termostato. Occorre provare anche delle quantità minori del siero di cavia perchè talvolta può contenere degli amboceettori per le emazie di montone, dimodochè, il titolo del siero emolitico nella presenza di 0,05 del complemento diventa una quantità talmente minima che dà difficoltà nella tecnica ed è appunto in questi casi che si stabilisce il titolo del siero emolitico nella presenza di 0,01 e 0,02 del complemento.

Il titolo del complemento si stabilisce nelle identiche condizioni di fronte al quadruplo del titolo dell'amboceettore trovato nella prova precedente.

Il KAUP in un anno d'esperienza trova questo titolo del valore di 0,01 all'incirca. Egli menziona che in altri istituti della stessa città invece oscillava fra 0,03-0,04. Per il nostro Istituto io posso aggiungere che ho avuto quasi sempre il titolo di 0,015 più raramente quello di 0,01 mai di più però di 0,02. Dei sieri di cavia che contenessero degli amboceettori normali per le emazie del montone, non me ne sono occorsi.

Per ciò che riguarda l'estratto, s'intende subito che per le dosi minime di complemento, come risultano dalle sue prove precedenti, i titoli degli estratti comunemente usati riuscirebbero troppo alti e, sebbene KAUP non dia direttamente la proporzione, almeno da un esempio che si trova nel suo libro si può desumere che possono scendere fino ad un settimo.

Di fatti un estratto originale del WASSERMANN col titolo di 0,07 viene usato da lui nella quantità di 0,01. L'estratto N. XIV (cuore di bue) del nostro Istituto che nel metodo del prof. PHILIPPSON aveva il titolo di 0,14 per la modifica di KAUP fu adoperato da noi col titolo di 0,10.

Ancora l'estratto deve provarsi con un siero normale. Può darsi che allora si troverà che la dose minima del complemento già stabilito si dimostra insufficiente per dare emolisi completa. In tal caso si dovrà aumentare la quantità del complemento; però si tratterà soltanto di frazioni della dose minima.

Ora la reazione non si può eseguire senz'altro colla dose minima di complemento, perchè vi si oppongono due fattori, e cioè la capacità dei sieri sifilitici di consumare anche maggiori quantità di complemento e d'altra parte il potere anticomplementare che può possedere il siero, comunque sia la sua provenienza. Quindi la prova del siero a solo vien fatto anche con una dose e mezza e con due dosi minime e la prova coll'estratto oltre con queste, anche con tre o quattro dosi minime. Per ogni singolo siero si fanno dunque tre prove di controllo e cinque prove di reazione.

Per la fissazione del complemento è stabilita mezz'ora di permanenza nel termostato; poi si aggiungono i globuli rossi sensibilizzati e si fa seguire un'altra mezz'ora di permanenza nel termostato. Allora si fa la prima lettura provvisoria dei risultati e dopo un'ora di permanenza nella temperatura dell'ambiente la seconda definitiva.

I risultati possono essere i seguenti:

1) Emolisi completa, e nelle prove di controllo del singolo siero e in quelle del siero coll'estratto.

2) Emolisi completa nelle prove di controllo e inibizione in tutte le prove del siero coll'estratto.

3) Inibizione in tutte le prove del controllo e in quelle del siero coll'estratto.

Questi risultati corrispondono a quelli che si hanno col metodo originale di WASSERMANN, quando cioè si usa soltanto un'unica dose di complemento e significano o emolisi o inibizione, rispettivamente presenza di un forte potere anticomplementare del siero.

La novità della tecnica di KAUP si appalesa invece nelle tre specie seguenti di risultati:

4) Emolisi completa nelle prove di controllo e inibizione in uno o più delle dosi basse di complemento nelle prove del siero con estratto.

5) Inibizione soltanto nelle dosi bassi delle prove di controllo e nelle dosi corrispondenti delle prove del siero con estratto.

6) Lo stesso risultato nelle prove di controllo, ma inibizione anche nelle dosi più alte delle altre prove.

I risultati del primo e del secondo caso non si rendono manifesti nel metodo originale, appunto per la quantità maggiore del completamento usato. E gli ultimi, qualora nel metodo originale si abbia emolisi incompleta, rimangono dubbii perchè vi manca il controllo del siero con dose bassa di complemento, la quale appunto ci indica, se esiste o meno autoinibizione del medesimo.

La lettura quindi dei risultati in questi casi non consiste più nella semplice constatazione dello stato di reazione nelle prove di siero con estratto, ma invece nel confronto del medesimo con quelle del siero a solo.

Qualora in queste esista inibizione in una o più delle dosi basse di complemento, l'inibizione nelle prove corrispondenti di siero con estratto non ha valore per il risultato della reazione, perchè dipende soltanto dall'autoinibizione del siero. Solo qualora anche fino alle dosi più alte delle stesse si estenda l'inibizione questa acquista il valore di una inibizione specifica.

La tecnica di KAUP comprende anche, come si vede, un mezzo per misurare senz'altro il grado d'inibizione, il quale consiste nella quantità massima del complemento fissata nella prova. A tale scopo egli ha introdotto il termine di unità di complemento per quella quantità del medesimo che risulta quale dose minima da usarsi nella reazione.

Il risultato della reazione si esprime quindi in unità di complemento e si dice che un siero sifilitico consuma una due etc. unità di complemento.

Il metodo di PHILIPPSON prende senz'altro di mira il potere anticomplementare dei sieri, lo mette chiaramente in evidenza e lo misura. In tal modo diventa possibile fare una netta differenza fra le inibizioni parziali dipendenti da sieri sifilitici a debole reazione e quelle dipendenti dall'autoinibizione dei sieri in genere.

Esso si basa su fatti già conosciuti e cioè che con minore sensibilizzazione del sistema emolitico va diventando più palese questa autoinibizione. Qualora ad una serie di sieri di varia provenienza si aggiunga la stessa quantità di complemento p. e. 0,05, si lasci al termostato un'ora e si provi poi l'effetto esercitato dai sieri sul complemento per mezzo di emazie sensibilizzate, a secondo di questa sensibilizzazione si può avere o emolisi rapida completa e uguale per tutti i sieri o mancanza completa di emolisi, oppure emolisi completa in tutti, ma in un tempo molto differente da uno all'altro. Ora si può regolare la sensibilizzazione in modo tale da avere sempre quest'ultimo risultato, il quale rende palese appunto la proprietà autoinibitrice del singolo siero. Una sensibilizzazione, fatta con siero antimotone che dia emolisi in 5'-10' minuti corrisponde a tale scopo. Il ritardo, che il singolo siero effettua, sull'emolisi e' indicherà poi il grado del suo potere anticomplementare. Un siero che è esente di questo potere, ammetterà l'emolisi in tempo uguale a quello del sistema emolitico, quanto maggiore è invece tale potere del siero, tanto più crescerà il ritardo, il quale può essere magari talvolta il triplo del tempo d'emolisi del sistema, e può nel singolo caso esser maggiore in un siero non sifilitico, anzichè sifilitico.

Lo stesso potere anticomplementare dei sieri deve poi agire anche nelle prove del siero coll'estratto. In realtà nel risultato della reazione noi abbiamo davanti a noi la somma di due effetti sul complemento, e cioè, del potere anticomplementare del siero e, nel caso di un siero sifilitico: dell'inibizione specifica. Questi due effetti possono esser distinti, quando si tien conto della prova del singolo siero a solo. L'azione specifica del siero è allora la differenza fra il grado dell'autoinibizione e il grado di inibizione mostrato nella reazione propriamente detta.

A parità di autoinibizione in un siero non sifilitico questa differenza è sempre

minore, che non in un siero sifilitico, appunto per la mancanza dell'inibizione specifica. La esperienza ha insegnato, che nei sieri non sifilitici il ritardo nelle reazioni può arrivare fino al doppio di quello verificatosi nel controllo. Dimodochè soltanto ritardi al di là del doppio sono da attribuirsi ad una inibizione specifica.

Per i sieri sifilitici che interessano di più e cioè per quelli che non danno, che una debole reazione, il tempo dell'emolisi nel siero con estratto meno il tempo dell'emolisi nel siero a solo indicherà il grado d'inibizione specifica.

Il modo di eseguire la reazione coi criteri suesposti si differisce pertanto dal metodo originale in tre punti.

Prima non basta più stabilire il titolo dell'ambocettore e usarne poi un multiplo, occorre invece stabilire quella quantità del medesimo necessaria per dare emolisi in un dato tempo da 5'-10' minuti di solito. In secondo luogo non basta più determinare soltanto il titolo dell'estratto, ma bisogna conoscere anche il ritardo che apporta il medesimo all'emolisi del sistema emolitico. E in ultimo non si fa la lettura dei risultati della reazione ad un tempo determinato, ma si segue invece fino dal principio l'intero processo di reazione di ogni singolo siero.

La reazione si eseguisce quindi nel modo seguente:

Coll'ambocettore antimontone che deve aver un titolo non inferiore ad uno per mille si allestisce una serie scalare crescente per la sensibilizzazione delle emazie per un quarto d'ora di permanenza nel termostato. Poi vi si aggiunge 0,5 cm. di diluizione di siero di cavia (10 %) per stabilire quella dose di ambocettore che dia emolisi completa e rapida in 5'-10'. Si ripete indi la stessa prova anzichè con 0,50 cm. con 0,25 cm. di siero di cavia con quelle dosi d'ambocettore trovate corrispondenti allo scopo. La dose che anche in questa prova dà l'emolisi nel tempo determinato è la dose atta per la reazione. Per questa la sensibilizzazione delle emazie vien fatta come prima, ma per mezz'ora.

Nello stabilire il tempo per l'emolisi si deve tener conto del potere anticomplementare degli estratti, il quale può variare da uno all'altro, ma purchè essi siano titolati bene, vien compensato appunto dalla maggiore o minore sensibilizzazione. A queste prove si può aggiungere ancora un'altra, onde vedere l'influenza che esercita tanto un siero normale, quanto l'estratto sul tempo dell'emolisi. A tale scopo si allestiscono da 4-6 tubi come per la R. W., cioè collo stesso siero a solo con complemento e collo stesso siero con complemento più estratto, cui poi dopo permanenza di mezz'ora in termostato si aggiungono globuli rossi sensibilizzati con dosi scalari crescenti di ambocettore. E si sceglierà allora quella dose d'ambocettore, colla quale non avviene che tutto al più un leggiero ritardo dell'emolisi sia nella prova del siero a solo che in quella coll'estratto.

Nel resto la tecnica è quella solita della R. W. Quando infine noi siamo al secondo tempo della reazione e le provette rimesse nel termostato, noi seguiamo la comparsa dell'emolisi. Una reazione, impostata esattamente deve svolgersi come una orologeria. Al tempo in cui è impostato il sistema emolitico, si sceglie questo, poi viene emolisi nel controllo dell'estratto e nella prova di controllo di qualche siero, indi in quella di altri sieri e nelle prove di sieri con estratto. Man mano che passa il tempo si fanno più evidenti i ritardi d'emolisi di certi sieri e corrispondentemente anche quelli nelle prove di questi sieri con estratto. Infine ultimata l'emolisi in tutte le prove di controllo dei sieri, nelle prove dei sieri con estratto, accanto a emolisi completa e inibizione completa si possono veder tutti i gradi di ritardo dell'emolisi. Quando il doppio del tempo d'emolisi impiegato dalla ultima prova di controllo dei sieri è passato, i risultati della reazione sono già pronti per la lettura. Di fatti durante l'osservazione noi abbiamo notato i tempi in cui si è compiuta l'emolisi e troviamo accanto ai rispettivi sieri il tempo d'emolisi nella prova di controllo e quello della emolisi nella prova del siero coll'estratto. Il primo tempo indica se il siero possiede

o meno potere anticomplementare e la differenza col tempo d'emolisi del sistema emolitico indica il grado del medesimo. Il secondo tempo invece non ha valore da per sé, bisogna detrarre il primo. E allora la differenza può trovarsi o uguale al tempo d'emolisi della prova del siero oppure superiore. Nel primo caso il risultato è da considerarsi quale negativo, nel secondo caso invece quale positivo, oppure trattandosi di pochi minuti per lo meno quale dubbioso.

Ora passando all'argomento vero e proprio di questo scritto e cioè al confronto dei due metodi in considerazione, noi dobbiamo anzitutto parlare del modo in cui i due autori hanno ovviato alla difficoltà, che si presenta sempre, qualora si voglia rendere più sensibile la R. W. originale, onde mettere in evidenza anche la reazione dei sieri sifilitici a debole potere inibitore. La difficoltà sta, come si sa nella cosiddetta proprietà anticomplementare dei sieri in genere, la quale fa sì che con una tecnica più sensibile della R. W. si rischia di avere anche delle inibizioni non specifiche, perchè esse si confondono con quelle specifiche, da cui non possono essere distinte. Viceversa volendo appunto evitare questo errore coll'estinguer questa proprietà individuale per mezzo di un sistema emolitico a forte reazione, si fanno anche scomparire i risultati che potrebbero dare dei sieri sifilitici a debole reazione.

I due autori invece di esporre il metodo di WASSERMANN a tali difetti aggiungono alla tecnica originale un'altra prova e cioè quella del potere anticomplementare dei sieri in esame. Essi non si contentano di dirigere la tecnica unicamente allo scopo per cui fu creata, ma la combinano con un'altra che ci fa conoscere un'altra proprietà dei sieri, non da per sé importante, la quale acquista invece grande importanza, perchè si esplica nelle stesse condizioni in cui diventa palese la proprietà specifica dei sieri sifilitici. Ne risultano quindi per così dire, due differenti reazioni insieme e cioè quella, che danno i sieri sifilitici e quella che danno i sieri anticomplementari. Un siero qualunque può dare quindi un risultato positivo, in quanto che è anticomplementare, ma il siero sifilitico inoltre ha ancora la sua inibizione specifica.

KAUP porta ogni singolo siero in contatto con dosi scarsi di complemento per conoscere le quantità che esso è in grado di assorbire, mentre PHILIPPSON osserva l'ostacolo che oppone il siero anticomplementare all'emolisi del sistema emolitico e che si palesa nel ritardo della medesima.

Il primo misura il potere anticomplementare colle quantità di complemento assorbite dal siero, il secondo col tempo del ritardo.

L'unità della misura è la quantità minima di complemento impiegata nella reazione, rispettivamente il tempo, a cui è impostato il sistema emolitico. In tal modo il potere anticomplementare del singolo siero viene conosciuto esattamente e facilmente si può tenerne conto nel giudicare sui risultati finali della reazione.

I risultati della reazione nella W. originale ci stanno davanti quali fatti compiuti, nelle due modifiche invece noi veniamo a conoscere il modo speciale di comportarsi di ogni singolo siero. In quella, qualora si tratti di una debole inibizione, noi non possiamo più decidere, se essa dipenda veramente dalla natura sifilitica del siero o piuttosto dalla sua proprietà anticomplementare. Mentre in queste noi non ne restiamo in dubbio, perchè sappiamo il perchè di tale risultato. Lo insegnano le prove del siero, fatte con differenti dosi di complemento, rispettivamente lo insegna il tempo d'emolisi avvertatosi sia nella prova del siero a solo, che nella prova del siero coll'estratto.

Qui i risultati delle prove del siero con estratto non hanno più valore da per sé, l'acquistano invece, confrontandoli con quelli delle prove del siero a solo. I controlli di cui ha bisogno la R. W. originale e cioè di un siero sicuramente positivo e negativo nelle due modifiche si rendono superflui. Esse portano in sé stesse il proprio controllo inquantochè un siero non anticomplementare deve dare emolisi col titolo del complemento, rispettivamente nello stesso tempo del sistema emolitico, usato per la prova.

Ora della R. W. fa parte essenziale anche il tempo di lettura dei risultati per cui anche qui dobbiamo occuparcene. Come si sa questo tempo viene molto differentemente indicato da un autore all'altro e non sempre si capisce il perchè di tale differenza. Il WASSERMANN stesso stabilisce un'ora di permanenza al termostato dopo l'emolisi dei controlli dell'estratto e dei sieri e legge poi definitivamente i risultati. Secondo POEHLMAN si fa la lettura dopo due ore per la prima volta e si ripete poi l'indomani dopo permanenza in ghiacciaia; SONNTAG dopo un'ora e la seconda volta l'indomani; MÜLLER-LANDSTEINER dopo mezz'ora e la seconda volta dopo tre quarti d'ora all'ambiente e via dicendo. Certamente questa differenza dipende anche dalla quantità di complemento e di amboettore usati per la reazione: chi sensibilizza di più, avrà i risultati più presto di chi sensibilizza di meno. Ma la ragione principale deve stare in quello, che nelle tecniche ora invalse manca il fattore che c'indichi chiaramente il tempo in cui noi abbiamo da considerare il processo di reazione quale ultimato. Il WASSERMAN fa coincidere questo tempo con quello della permanenza nel termostato, gli altri autori invece no, perchè leggono i risultati soltanto l'indomani. Il primo si propone di aver risultati incerti meno che sia possibile, mentre gli altri alla prima lettura ne trovano alquanti, epperò lasciano prolungarsi il processo di reazione automaticamente. Per essere esatti, necessita invece conoscere già fino dal principio il momento in cui noi abbiamo davanti a noi i risultati definitivi. Ora siccome ogni siero richiede un altro tempo per poter mettere in evidenza le sue proprietà reattive, non ci può essere un tempo unico per tutti e non rimane altro che osservare singolarmente i sieri che si trovano insieme nello stesso esame, il che si fa appunto nella tecnica di PHILIPPSON. Con questo vien precisato il momento nel doppio del tempo impiegato dal siero a solo, per dare emolisi completa. S'intende facilmente il perchè simile tecnica non sia stata già da tempo ideata da qualche sperimentatore quando si pensi, che nei grandi laboratori, in cui viene eseguita la R. W., il numero dei sieri in esame ammonta sempre a centinaia, per cui sarebbe impossibile tener d'occhio siero per siero.

La tecnica di KAUP si presta invece anche a tali condizioni e evita l'inconveniente in questione, inquantochè anch'essa tien conto delle proprietà particolari dei sieri e tien fissati i vari stadii del loro processo reattivo nelle prove scalarì. In questa tecnica la permanenza nel termostato non ha altro scopo che di agevolare l'emolisi nei controlli dell'estratto e del sistema emolitico, ma non quello come l'hanno tutte le altre tecniche di portare a termine l'emolisi nei controlli dei sieri in esame. Il processo reattivo tanto dei sieri a soli quanti insieme coll'estratto si fa compiere fuori e lo si osserva provvisoriamente dopo una mezz'ora e definitivamente dopo un'altra ora.

Nel nostro Istituto, in cui ogni volta non vengono esaminati che da 10-20 sieri, l'esecuzione del metodo di PHILIPPSON non incontra alcuna difficoltà e altrettanto vale anche per quello di KAUP. Su 217 sieri di varia provenienza ho provato tutti e due i metodi parallelamente, servendomi sempre di globuli di montone o di pecora e di amboettore antimontone di alto titolo. I globuli di bue non si prestano, secondo le mie esperienze, per questi metodi in quanto ch'è la sensibilizzazione dei medesimi non può graduarsi sufficientemente, sia perchè il potere emolitico dell'amboettore antibue non è alto, sia perchè si rende necessaria una maggiore quantità di complemento per il sistema emolitico.

Nelle mie ricerche ho provato specialmente dei sieri sifilitici, provenienti da ammalati in cura, onde riconoscere il loro potere reattivo debole. Con soddisfazione ho visto che, impostati esattamente, i due metodi anche in queste condizioni, davano dei risultati concordanti fin'anco nei gradi debolissimi di reazione, vale a dire nei casi che secondo la R. W. originale sarebbero risultati negativi o dubbi. E in tal modo io mi sono convinto che veramente anche ad un ritardo d'emolisi di pochi minuti, rispettivamente all'inibizione nella dose bassa di complemento si può attribuire lo stesso valore come alle forti reazioni della R. W. originale.

BIBLIOGRAFIA

1. PHILIPPSON: Policlinico, vol. XXI, 1914. — 2. CUCCIA: Policlinico, Sez. Prat., 1921. — 3. KAUP: Kritik der Methodik der W. R. etc. Oldenburg, Berlin, 1917. — 4. IZAR: Haematologia, vol. I, fasc. IV. - Stern-Danziger. Zeitschr. f. Immunitätsf. Bd. 28, H. 6.

RÉSUMÉ

1. La réaction de Wassermann exécutée avec la technique originale n'indique point les sérums syphilitiques à réaction faible.

2. Les modifications qui ont pour but de rendre plus sensible la R. W. risquent d'avoir des déviations du complément non spécifiques dues à des qualités anticomplémentaires des sérums.

3. PHILIPPSON e KAUP évitent cette difficulté en examinant le pouvoir anticomplémentaire de chaque sérum en question.

4. KAUP porte chaque sérum en contact avec doses descendants du complément pour connaître la quantité qu'il est capable d'absorber, tandis que PHILIPPSON observe l'obstacle que le sérum anticomplémentaire opposé à l'hémolyse. Ce fait se met en évidence dans un retard de l'hémolyse.

5. La quantité du complément consommée de la réaction principale dans la méthode de KAUP ou le temps nécessaire pour l'hémolyse de la réaction principale dans la méthode de PHILIPPSON sont comparés avec la quantité consommée du complément ou avec le temps nécessaire pour l'hémolyse du seul sérum.

6. De cette manière chaque sérum est traité individuellement et nous pourrions découvrir même les plus faibles réactions spécifiques sans nous exposer à l'erreur due au pouvoir anticomplémentaire des sérums. Ainsi on pourra avec ces deux méthodes utiliser pour le diagnostic avec surété les réactions qui seraient douteuses ou à négliger avec la R. W. originale.

46766







