

8660
UNIVERSITATEA DIN CLUJ
FACULTATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

No. 325

REAȚIUNEA ABDERHALDEN

APLICAȚIUNEA EI ÎN OBSTETRICĂ
ȘI GINECOLOGIE



DOCTORAT ÎN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE
PREZENTATĂ ȘI SUSTINUTĂ ÎN ZIUA.....

DE

ANA CHIRILĂ-RIVALET



CLUJ
INSTITUTUL DE ARTE GRAFICE „ARDEALUL“
STRADA MEMORANDULUI 22.
1928.

REAȚIUNEA ABDERHALDEN

APLICAȚIUNEA EI ÎN OBSTETRICĂ
ȘI GINECOLOGIE

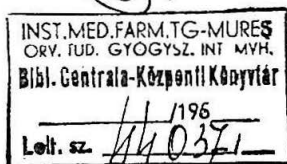


DOCTORAT ÎN MEDICINĂ ȘI CHIRURGIE
PREZENTATĂ ȘI SUSȚINUTĂ ÎN ZIUA.....

DE

ANA CHIRILĂ-RIVALET

24 MAY 2005.



CLUJ

INSTITUTUL DE ARTE GRAFICE „ARDEALUL“

STRADA MEMORANDULUI 22.

1928.

UNIVERSITATEA DIN CLUJ
FACULTATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE

Decan : D-nul Prof. Dr. TATARIU CORIOLAN

Profesori :

Patologia generală și experimentală	D-1 Dr	<i>Botez A. M.</i>
Istologia și embriologia umană	" "	<i>Drăgoiu I.</i>
Clinica infantilă	" "	<i>Gane T.</i>
Clinica ginecologică și obstetricală	" "	<i>Grigoriu C.</i>
Istoria medicinei	" "	<i>Guiart I.</i>
Clinica Medicală	" "	<i>Hațieganu I.</i>
Clinica chirurgicală }	" "	<i>Iacobovici I.</i>
Medicina operatoare }	" "	<i>Iacobovici I.</i>
Farmacologia și farmacognozia	" "	<i>Martinescu Gh.</i>
Clinica oftalmologică	" "	<i>Michail D.</i>
Clinica neurologică	" "	<i>Minea I.</i>
Medicina legală	" "	<i>Mînovici N.</i>
Igienă și Igiena socială	" "	<i>Moldovan I.</i>
Radiologia medicală	" "	<i>Negru D.</i>
Fiziologia umană	" "	<i>Nițescu I. I.</i>
Farmacia chimică și galenică	" "	<i>Pamfil Gh.</i>
Anatomia descriptivă și topografică	" "	<i>Papilian V.</i>
Clinica oto-rino-laringologică (agr.) }	" "	<i>Predescu-Rion I.</i>
Clinica stomatologică (supl.) }	" "	<i>Predescu-Rion I.</i>
Clinica dermato-venerică	" "	<i>Tătaru C.</i>
Chimia biologică	" "	<i>Thomas P.</i>
Clinica psihiatrică	" "	<i>Urechia C.</i>
Anatomia patologică	" "	<i>Vasilii Titu</i>

JURIUL DE PROMOTIUNE:

Președinte : D-1 Profesor Dr. *Cristea Grigoriu*

Membrii : } " " " *Iacobovici Iacob*
 } " " " *Vasilii Titu*
 } " " " *Drăgoiu I.*
 } " " " *Thomas P.*

Supleant : Docent Dr *M. Kernbach*

Introducere

Reacția Abderhalden, veche prin trecut, nouă prin încercările recente de a se perfecționa, atrage pe medici să apeleze la ea. La noi în țară, deși profesorul Abderhalden numără între colaboratori și cășiva Români, reacția nu a fost obiectul unor cercetări mai intense în domeniul ginecologiei și obstetricii.

În evoluția R. A. s'au petrecut fapte care justifică reînvierea ei. La început dela 1910—1917, adepții ca și adversarii n'au închis lupta. A urmat apoi o perioadă de acalmie până pela 1920—24, când apare P. Hirsch cu metoda cantilativă și R. A. este reînălă cu mai mult avânt.

Aceasta ne-a făcut a alege ca subiect lucrarea de față.

Datorită deosebitei bunăvoințe și a înboldului la lucru, ce le-am găsit din partea D-lui Prof. Dr. Cristea Grigoriu am putut începe și isprăvi această lucrare. Îl rog pe Domnul Profesor să primească perfectă mea recunoștință, pentru amabilitatea cu care mi-a pus materialul necesar la dispoziție și pentru sfaturile prietenești date în decursul zilelor petrecute în clinica de sub direcția D-sale.

Pe Dl. Docent Dr. Kernbach îl rog să primească mulțumirile mele alese, pentru colegialitatea și prietenia cu care a binevoit să mă ajute la învingerea greutăților, ce le pune tehnica cercetării.

Mulță dragoste și recunoștință moșului meu C. Passat, care m'a ajutat materialicește și cu sfaturi părintești, la continuarea și terminanera studiilor universitare.

Fraților mei și soșului meu Petru Rivalet dragoste și devotament.



Reacțiunea Abderhalden

Aplicațiunea ei în Obstetrică și Ginecologie.

Diagnosticul precoce al gravidității normale și în deosebi al sarcinei extrauterine, precum și o serie de afecțiuni ale organelor genitale interne ale femeii, ridică deseori dificultăți în precizarea și punerea la timp a diagnosticului clinic. Aceasta a făcut ca să se caute reacțiuni biologice pentru a se putea veni în ajutorul diagnosticului clinic.

Diagnosticul afecțiunii unui organ sau a apariției în organism a unor țesuturi noi formate (placentă, cancer etc.) s'a bazat pe următoarele ipoteze:

1. Un organ afectat trebuie să trimită în circulația generală substanțe proteice specifice aceluia organ; un țesut nou format (cancer, placenta, etc.) până la o deplină asimilare din partea organismului este din când în când prins de curentul circulator și albuminele specifice lui se vor putea găsi în anumite împrejurări în sângele periferic.

2. Sarcina ca și stările fiziologice periodice, dau o reacțiune generală în organism, care se poate traduce printr'o disfuncțiune viscerală variată ca: insuficiență renală, hepatică, modificările biologice ale sângelui etc. Prima ipoteză a fost verificată prin reacțiunea Abderhalden și pe ea se bazează în cea mai mare parte principiul acestei metode și a celor similare ei.

A doua ipoteză a dat naștere la o serie de metode biologice și examene funcționale: glicozuria gravidică, fixarea complimentului, puterea antitriptică a serului gravidelor etc. Dintre toate acestea reacția Abderhalden a fost îmbrățișată de mai mulți autori și ea este aceia care pre-

zintă, atât teoretic cât și practic aspectul unei metode mai specifică.

Celelalte metode: fixarea complimentului, reacția cu meio stagnină a lui *Ascoli* în cancer, reacția lui *Weinhard* (epifrinin) titlu antitriptic, hemoliza cu veninul de cobra, reacția celulară a lui *Freund*—*Kamminer* se aplică în parte, dar într'o măsură mai mică ne având specificitatea reacțiunii lui *Abderhalden*.

Să vedem acum care este principiul acestei reacțiuni și aplicațiunea în celelalte ramuri ale Medicinii.

Principiul reacțiunii.

Reacțiunea lui *Abderhalden* dintre puținele reacțiuni biologice se bazează pe procesele fermentative ce au loc în organismul animal.

Încă de prin 1910 *Abderhalden* și colaboratorii săi au constatat că serul animal are proprietatea de a desfăcea molecula albuminei sau a polipeptidelor în substanțe de o structură moleculară inferioară, mergând până la acizii aminați.

Plecând dela acest fapt s'a gândit că această facultate o poate avea și plasma în vivo și îndată a cercetat cum se comportă plasma la introducerea parenterală a diferitelor substanțe albuminoase în organismul viu. Experiențe pe animal au arătat că la injectarea unei albumine de o constituție bine cunoscută, face să apară în sângele acelui animal fermenți care descompun acea albumină, și care nu se găseau înainte la acel animal. Acest rezultat a făcut să se nască ideia cercetărilor că: apariția fermenților noi care descompun substanța nou introdusă face ca fenomenul să apară ca un mijloc de apărare al organismului. Acești fermenți, care apară aveau proprietăți peptolitice.

După alte numeroase cercetări, faptul s'a repetat constant la diferite injecțiuni în organismul animal ceea ce a făcut pe *Abderhalden* și unul din colaboratorii săi, să emită următoarea ipoteză asupra mecanismului de apărare prin

formarea fermentilor: „Ne putem gândi, că organismul este aparat de substanțe străine, care nu aparțin normal sângelui, acestea sunt fermentii. La fel se poate întâmpla și cu elemente celulare ce apar accidental în sânge și a căror distrugere nu trebuie să fie numai decât aparentă ochilor noștri. Dacă organismul izbuțește să descompună aceste substanțe și să le facă nevătămătoare, atunci nu se mai produce nici o perturbațiune în organism. Dacă nu poate reacționa pe această cale, atunci aceste substanțe și probabil produsele superioare de degradare moleculară dau loc la fenomene grave. Se gândesc în special la eclampsie, unde cred că o lipsă a fermentilor, care să poată descompune elementele placentare și alte substanțe ce eventual ar circula în sânge, ar deslănțui criza eclamptică. Aceasta este teoretic și urmează să se demonstreze prin probe experimentale.“

Pe această ipoteză își clădește apoi Abderhalden diagnosticul serologic al sarcinei, al cancerului, etc.

După primele cercetări ale lui Abderhalden, o serie numeroasă de cercetători, chiar de prin 1902, încearcă alte diferite metode pentru diagnosticarea serologică a sarcinei — precipitine — dar n'au ajuns la o metodă specifică.

În 1910, reușește Abderhalden să realizeze principiul tehnic al metodei de azi. El a încercat în vitro cum se comportă serul gravidelor în diferite peptone și a constatat că serul femeilor gravide, începând din primele trei luni de graviditate și mergând până la luna a noua, produce o descompunere a peptonei placentare.

Plecând de aici, Abderhalden a pus problema specificității. La început a crezut că fermentii de apărare au o acțiune nespecifică, dar cercetând seruri provenite de la canceroși sau alte boale a constatat că acțiunea fermentilor este specifică. Aceasta a făcut ca să realizeze metoda sa originală dializatoare, care apoi a fost întrebuințată pe o scară întinsă de diferiți autori.

În monografia sa primă din 1912 cât și în ultima din

1922, Abderhalden precizează principiul metodei sale în domeniul întreg al proceselor de metabolism, atât în stările normale cât și în cele patologice.

Când va circula în sânge substanțe străine lui, organismul va lua măsuri de apărare și dă naștere la fermenți, care au rolul să distrugă acele corpuri, transformându-le în substanțe asimilabile, solubile și ușor de eliminat (amino acizi).

Acest proces se va produce fie în stări fiziologice (gravitate) și fermenții vor distruge elemente celulare provenite din țesuturi noi formate, fie în stări patologice, când fermenții se vor naște fie direct contra unei albumine organice noi (cancer), fie contra unei albumine a unui organ afectat (nefrita, afecțiunile organelor endocrine), fie contra agentului care le-a produs (bacilul tbc., sifilis, etc.).

Intr'un cuvânt fermenții vor da indicii:

1. Asupra țesuturilor noi formate (fermenți placentari, canceroși etc.).
2. Asupra organelor afectate (fermenți renali, tiroidieni etc.).
3. Asupra etiologiei afecțiunii, (fermenți microbieni).

Acțiunea fermenților în organism nu se manifestă la exterior prin nici un simptom și este specifică substanței contra căreia a luat naștere.

Să vedem acum extinderea pe care a luat-o metoda Abderhalden în diferite domenii ale medicinei.

Aplicațiunea reacției Abderhalden.

Reacțiunea Abderhalden plecată dela aplicațiunea ei în gravitate a pătruns aproape în toate ramurile medicinei. Vom examina pe rând aplicațiunile mai importante.

Ginecologie și obstetrică. Diagnosticul sarcinei a fost relevat de mulți autori (*Schiff, Veit, Aschner*) și s'a arătat importanța reacției în diagnosticul precoce al sarcinei, precum și în sarcina extrauterină. După aceștia au apărut foarte numeroși autori, dintre care o parte au conchis

la o valoare practică netăgăduită și o altă parte au găsit că reacțiunea este lipsită de specificitate (*Engelhorn*).

În general, clinicile ginecologice ale universităților germane au conchis în 1914 că reacția *Abderhalden* are o mai mare importanță teoretică, decât una practică. Apar însă cercetările noi de după războiu și în deosebi acele executate prin metode optice-interferometrice și refractometru. *Hirsch* după o experiență de 10 ani, publică în 1925 o nouă metodă optică: metoda interferometrică. Prin această metodă optică *Hirsch* și acei care au întrebuintat-o au ajuns la concluzia că atâta timp cât metoda dializatoare este o metodă calitativă, metoda interferometrică este o metodă cantitativă, cea ce face să dea o specificitate relativă mai mare. Tot aderent al metodei optice este și *Schnupp*. Acesta chiar în anul trecut aplică metoda refractometrică în sarcina înaintată luna 9—10. Găsește o dispariție a fermenților placentari în această lună, deși sângele placentar mai conține acești fermenți. Crede că la sfârșitul gravidității apar substanțe care distrug sau care opresc apariția fermenților *Abderhalden* în sângele periferic.

Metoda interferometrică a fost introdusă și în economia națională. Astfel a fost aplicată în diagnosticarea precoce a sarcinei la animale: cai (*Hirsch și Germann*) cu 96 % rezultate exacte, porci (*Wendt, Sax*) putându-se stabili sarcina chiar după 2—3 săptămâni dela contact.

Diagnostica cancerului. *Abderhalden* a găsit rezultate 100%, dar diferențierea între stările tumorale și acele de graviditate nu se poate face în toate cazurile. *Weinberg* a putut ajunge la rezultate diferite, utilizând substrat de cancer cilindric, bazocelular, sarcom cu celule fuziforme sau rotunde. Până la 1914 toți cercetătorii care au întrebuintat metoda dializatoare au căzut de acord spunând că: un rezultat negativ pledează pentru inexistența unui cancer (nu în mod absolut) un rezultat pozitiv nu precizează mai mult. În anii din urmă, cu metoda interferometrică

Küster, diagnostică exact 70% cazuri de cancer sau sarcoame, apoi *Duwe*, găsește rezultate pozitive în cancerile netratate cu Röntgen și negativ sau nesigur la cele tratate.

In medicina internă s'a studiat la început diagnosticul precoce al tuberculozei (*Lampé*). Ca substrat s'a întrebuintat emulsie de bacili *Köch*. In anii din urmă s'a căutat cu metoda optică a se diagnostică tuberculoza umană *Küster* a obținut rezultate foarte satisfăcătoare. Cu aceeași metodă *Hirsch, Mayer—Pullmann, Küster* și *Hess* au cercetat tuberculoza bovidelor și au obținut rezultate practice pentru economie. Tot în domeniul medicinei interne, reacția a fost utilizată la examenul *glandelor cu secrețiune internă*. Aici s'a putut constata corelațiunile interglandulare. In adipozitate s'a găsit originea variate ale boalei; în numeroase afecțiuni dermatologice s'a găsit fermenți endocrini, dând indicațiuni practice de terapie. Apoi insuficiența glandelor (*Himmelreich*) endocrine, sau disfuncțiunea lor, câștigă prin controlul acestei reacțiuni la tratamente mai eficace, *Grotte*, anul trecut, arată importanța reacției *Abderhalden* în endocrinologie și găsește o periodicitate a operației fermentilor în sângele periferic.

In chirurgie afară de serviciile aduse în diagnosticul cancerului, cercetările s'au limitat mai mult asupra chirurgiei stomacului. Metoda interferometrică în mâinele lui *Küster* și *Bode* au studiat cancerul și diferențierea cu ulcerul stomacal.

Prezența metastazelor, precum și diferențierea precoce a ulcerului de cancer, au putut fi stabilite într'un număr însemnat de cazuri.

In psihiatrie. *Ewald* și alți numeroși cercetători studiază histeria, psihopatii, maniaci depresivi, epilepsia, paralizia generală, demența precoce și alte forme gășind rezultate interesante și fermenți endocrini.

Multe fapte din domeniul patogeniei bolilor mintale au fost câștigate prin aplicațiunea reacției *Abderhalden*. Prin interferometrie, *Iacobi*, găsește deasemeni rezultate, care confirmă în parte faptele clinice. *Ureche* și *Kernbach* ob-

în rezultate interesante în Parchinson lucrând cu dife-
riți centri cerebrali.

Oftalmologia, aplică și ea metoda (*Hegner, Mihail și Vancea*) și găsesc în multe afecțiuni oculare origini sau afectări concomitente a diferitelor glande cu secrețiune internă.

Otorinolaringologia (*Zimmermann*) aplică metoda în complicațiunile cerebrale ale afecțiunilor otogene, putându-le diagnostica la timp.

Sifilidologia și dermatologia (*Sowade și Papendiek*) aplică substrat sifilitic și obțin rezultate specifice. În numeroase afecțiuni dermatologice, se găsesc fermenți endocrini și prin aceasta indicațiuni precoce de tratament.

Diferențierea sexului a copilului în corpul matern a fost iarăși o chestiune care a fost făcută de *Kraus și Sautdek* prin dializă, apoi de *Königstein* utilizând testicule de vițel și s'a obținut rezultate satisfăcătoare. *Streck* utilizând metoda cantitativă, poate în 72% diagnostica sexul.

Pediatria a avut și ea adepții ei *Kunstmann*, cercetează apariția fermenților în timpul creșterii la copii normali și apoi la cei cu rachitism sau cu diateze exudative. Tot astfel o aplică în pubertate și găsește fermenți genitali.

Reesă în mod clar că această reacțiune, prin particularitățile ei a fost aplicată în toate ramurile medicinei și aproape fiecare domeniu a câștigat fapte noi, atât de ordin teoretic cât și practic.

Rămâne să cunoaștem datele asupra originii, naturii și specificității fermenților lui *Abderhalden*.

Origina fermenților de apărare.

Dela început *Abderhalden* s'a gândit că acești fermenți își au origina în leucocite. În această direcție s'au întreprins o serie numeroasă de cercetări, atât pe om cât și pe animale. S'a ajuns la opinia că cea mai mare parte a fermenților specifici de apărare sunt identici cu fermenții celulari specifici unor organe și că ei nasc din acestea. În

ceea ce privește origina fermenților antitumorali în experiențe pe animale, problema rămâne deschisă și este și posibilitatea că aceștia pot avea origini diferite.

Natura fermenților de apărare.

În această direcție întâlnim foarte numeroase cercetări. Abderhalden și colaboratorii săi au conceput natura fermentativă a acestor „Abwehrfermente“. S'a pus însă întrebarea dacă aceștia au vre-o asemănare sau legătură cu celelalte substanțe asemănătoare din sânge: alexine, toxine, enzime, anticorpi.

Abderhalden și Grigorescu, Ștefan Ewald sunt acei care au stabilit în mod irevocabil natura substanțelor numite de Abderhalden Abwehrfermente. Aceștia dovedesc că într'adevăr aceste substanțe au o acțiune adevărată fermentativă proteolitică. Acești fermenți se caracterizează printr'o termolabilitate, pe care ceilalți complimenti din domeniul imunității o prezintă într'un grad mai redus.

Natura complexă a fermenților de apărare nu este încă pe deplin cunoscută, lucru ce se întâmplă și cu lizinele din capitolul imunității. În nici un caz, natura reacțiunii lui Abderhalden nu trebuie căutată într'un proces fizic, care ar avea loc între ser și între elementele organice corpusculare sau coloidale ale substanțelor.

Specificitatea fermenților de apărare.

Specificitatea fermenților lui Abderhalden a fost dovedită mai evident prin experiențele pe animale. S'a injectat la epuri albumină organică sau peptonă organică cu calități moleculare superioare (Mayer și alții.) S'a dovedit pe această cale că există fermenți organo-specifici. La cercetările pe om, opiniile sunt variate, unii cred în specificitate, alții în nespecificitatea fermenților de apărare (*Ștefan, Celler, Bauer, Ewald*). Aceștia, mai ales în cercetările pe canceroși și gravide n'au putut obține toldeana o reac-

țiune strict specifică organului. S'a vorbit atunci de „acțiuni colaterale“ și de „coreacțiuni“ (Mitabbaureaktionen) și s'a indicat calea cantitativă pentru a putea alege din între numeroasele rezultate pozitive, pe aceia care cantitativ e mai intensă.

În aceeași direcțiune sunt și cercetările pe cale optică ale lui *Iacobi*. Acesta găsește o nespecificitate a glandelor genitale. Acesta explică nespecificitatea prin faptul că substratul utilizat în reacțiune conține pe lângă albumină specifică și țesut conjunctiv nespecific și aceste rezultate nespecifice vor fi legate de acest fapt.

Deaceia crede că pentru rezolvirea specificității să se întrebuințeze metode cantitative — metoda interferometrică. Prin aceasta procentul ridicat va indica rezultatul pe care îl va utiliza apoi medicul practician.

Cu aceste noțiuni asupra cunoștințelor teoretice ale reacțiunii, să trecem acum la partea practică.

Technica reacțiunii.

Reacțiunea *Abderhalden* are la dispoziție numeroase metode și aplicarea simultană a mai multor reacțiuni, face ca și rezultatele să aibă o valoare mai definitivă. Metodele sunt de trei feluri:

1. Metoda dializatoare.
2. Metode optice.
3. Metode directe.

Metoda dializatoare, numită metoda clasică a fost întrebuințată de noi și însuși autorul ca și acei ce o aplică o recomandă, ca singura care dă posibilitatea de a controla și înlătura greșelile. Ne vom opri asupra ei și vom da detaliile tehnice.

Cu metodele optice este mult mai ușor de manipulat, dar erorile sunt mai greu de controlat. Ele sunt bune de aplicat paralel cu cea dializatoare, pentru reacțiuni cantitative. Dintre aparatele cele mai recomandate sunt astăzi interferometru apoi refractometru și polarimetru.

Metodele directe se referă la procesul intim ce are loc între organ și fermenții serului: cercetarea înmulțirei acizilor aminați, examinarea procesului de peptoliza cu ochiul liber sau cu microscopul, sedimentarea globulelor roșii, etc.

Metoda dializatoare.

Principiul metodei este următorul: pentru a pune în evidență fermenții de apărare din organismul unui individ bănuț canceros, gravidă etc. se va pune într'un tub dializator serul acestui bolnav cu albumina organului respectiv (cancer, placentă).

Dacă vor fi fermenți de apărare ei vor acționa asupra substratului organic și prin tubul dializator vor dializa substanțe de dezagregare dializabile, care se vor putea colora cu reactivi speciali. N-au fost fermenți, lichidul în care stă tubul dializator nu se va colora prin acești reactivi (ninhidrina).

Acest principiu vine a fi confirmat chiar anul trecut de *Loeschke* și *Lehmann*.

Tubul dializator. Acest tub este format din membrane animale (condoame de pește) și se procură dela firma Schoeps din Halle, se pot utiliza și saci de colodiu dar aceștia s'au dovedit că nu dau rezultate sigure și se pot ușor leza. Aceste tuburi pot fi primite probate pentru permeabilitate și atunci sunt trimise în borcane cu apă sterilă, sau pot fi trimise neprobate, în stare complet uscată.

În acest din urmă caz tuburile dializatoare trebuie puse la curent de apă 7—8 zile și apoi urmează a se face două probe :

1. proba pentru albumină.
2. proba pentru peptona de mătase.

Aceste tuburi dializatoare trebuie să fie impermeabile pentru albumină. Deaceia se face această probă în felul următor :

Tuburile dializatoare se opăresc cu apă destilată fiartă timp de 3 minute și apoi răcite cu aceeași apă rece. Se

scurge apa și se lasă 2—3 minute înainte de întrebuințare pentru a se scurge apa de pe ele, și apoi se pun în borcănașe mici de sticlă de Jena în care se găsește 20 cmc. apă destilată sterilizată. În interiorul tubului dializator se pune $1\frac{1}{2}$ —2 cm² ser (nu importă proveniența) și apoi pentru a feri de infectări ulterioare se adaugă atât în tubul dializator cât și în borcănașul de sticlă $\frac{1}{2}$ —1 cm² xilol sau toluol. Borcanul astupat se pune în termostat la 37° timp de 16 ore. După acest interval se scoate cu pipete sterile (toate obiectele trebuiesc să fie sterilizate) câte 10 cmc. de apă din borcănaș în care se pune 2 cmc. din reactivul lui *Spiegler Pollaci*. La limita de despărțire a celor două lichide, în caz când tubul dializator a dializat albuminele serului se va forma un inel tulbure. Acele tuburi nu sunt bune în reacțiune. Restul se va supune la proba cu peptonă de mătase.

Această probă este necesară pentru a se clasa tuburile dializatoare după puterea lor de permeabilitate. Peptona de mătase *Hoechst* în soluțiune 1% sau 0.50% dializează prin aceste membrane.

Tuburile dializatoare sunt spălate la curent după prima probă și apoi din nou opărite cu apă sterilă. Se pun în borcănașe cu 20 cmc. apă sterilă și de data aceasta se pune în tuburile de membrană 2 cmc. din soluția de peptonă de mătăsă. Se lasă 16 ore la 37° și apoi se ia iarăși 10 cmc. din apa în care a stat tubul dializator și se adaugă 0.2 dintr'o soluție de ninhidrină 1%.

Din fiecare borcănaș atât la proba de albumină cât și la aceea de peptonă se scoate lichidul cu pipete diferite și borcănașele, cât și eprubetele în care se face reacția se numerotează. După adăugare de ninhidrină (se poate pune chiar dela început) se agită eprubeta și apoi se fierbe un minut. Fierberea se face în eprubetele de Jena (libere de alcali, de un diametru egal) în felul următor : eprubeta se pune în becul cu gaz, apropiindu-se fundul ei în partea cea mai inferioară a flăcării. Se așteaptă aparițiunea primelor vezicule de aer și din acest moment se socotește mi-

nutul. După ce conținutul eprubetei fierbe cu clăbuci mari, se ridică eprubeta treptat și se ține la vârful sau în marginea flăcării pentru a se obține o fierbere mai uniformă și mai liniștită. Dacă nu se procedează astfel riscăm ca să plesnească tubul sau conținutul lui să sară afară din el. În urma fierberii vom obține în toate tuburile o colorațiune violetă, care va varia în intensitate. Asta denotă că tuburile dializatoare au o permeabilitate diferită. Alegem pe acele care dau acelaș grad de colorare și le punem pe categorii în borcane de sticlă notând cu semnele :

+ = culoarea cea mai intensă.

(+) = culoarea mai puțin intensă.

[(+)] = culoarea cea mai puțin intensă.

În reacțiune se va căuta ca acelaș ser să fie lucrat cu tuburi dializatoare de o egală permeabilitate.

Astfel tuburile probate și clasate se spală de conținutul lor, ținându-le în mână sau cu o pensă fără dinți la curent de apă și ajutați de o pensulă moale.

Prepararea substratului organic. În această reacțiune avem nevoie de diferite organe pentru a căuta la bolnavi fermenții ce ne interesează.

Prepararea organelor cere o deosebită atenție, căci dacă nu respectăm toate prescripțiile, riscăm să obținem rezultate false.

Oricare ar fi organul, metoda de preparare este aceeași. Placenta, substrat canceros, etc., trebuie la început debarasate de ultima picătură de sânge și apoi de țesutul vasculo-conjunctiv și nervos.

Prima operațiune se face tăind organul în fragmente mici (cât boabele de mazăre), evitând cordoanele mari de țesut conjunctiv și vasele. Astfel tăiat se pune într'o pânză curată și fixat de un stativ de lemn se pune la curentul de apă. Spălarea se face până ce organul devine alb ca zăpada (nu reușește fiecare organ : inimă, ficat, rinichi etc.), ceea ce în mediu durează 24—48 de ore. În acest interval, organul se mai ia de la spălat și se mai freacă cu un corp dur și curat, alegându-se de 2—3 ori firele de țesut

conjectiv și nervi. Odată spălat organul trebuie fiert pentru a se elimina substanțele care se colorează cu ninhidrina. Recoltăm organul în sticle Erlenmayer sterile și-l fierbem cu apă distilată până ce apa de fierbere nu se colorează cu ninhidrină. În mediu se fierbe de 6—8—10 ori, când apa de fierbere este limpede. Proba cu ninhidrină se face luând 5 cmc. din apa de fierbere și se fierbe cu 1 cmc. ninhidrină 0,1%, timp de un minut.

După fierbere organul se pune în borcane de sticlă sterilă între două straturi: primul strat de cloroform și deasupra un strat de xilol sau toluol. Acestea au rolul de a împiedeca infecțiunile ulterioare. Din aceste borcane se scoate în momentul când lucrăm cu pense sterile cantitatea de care avem nevoie.

Technica reacțiunii. Pentru a realiza reacțiunea Abderhalden avem nevoie de următoarele:

1. Ser dela bolnav, gravide, etc.
2. Organul a cărui fermenti căutăm.
3. Pipete sterile de 2 cmc. și de 10 cmc.
4. Borcănașe de sticlă Jena.
5. Tuburi dializatoare.
6. Soluție de ninhidrină 1%.
7. Eprubete de Jena de o egală lărgime.
8. Apa destilată sterilizată.

Serul se obține prin puncție venoasă, ca și pentru celelalte reacțiuni serologice. Este bine ca recoltarea serului să se facă de dimineață în tuburi sterile. După cuagularea sângelui se decantează serul, se centrifugează și se pune în tuburi sterile. Să se evite hemolizarea și infectarea serului.

Organele formează substratul (antigenul) reacțiunii. Cu pense flambate se ia cantitatea necesară din borcanele care le conțin și se pun în tuburi sterile. Apoi se spală cu eter și alcool, care se decantează și organul astfel spălat se fierbe încă 5 minute. După fierbere se filtrează pe un filtru tare și se usucă cu filtre curate, pe cât este posibil a se scoate toată cantitatea de apă.

Tuburile dializatoare, după ce s'au spălat câteva ore

la curent de apă, sunt opărite cu apă distilată sterilizată, răcită cu aceeași apă și lăsate 3—4 minute înainte de reacțiune fără apă.

Borcănașe de sticlă de Jena sterile cu dopuri șlefuite.

În acestea se pun 20 cmc. apă destilată sterilizată. Apoi se adaugă tubul dializator scuturat de ultima picătură de apă. În acesta din urmă se pune organul preparat mai sus, o cantitate de mărimea unei boabe de mazăre.

Să se caute a nu se lăsa fragmente de organe pe marginile tubului sau în apa de dializat. Peste acesta se pune 1.5 cmc. ser cu pipete sterile, cu foarte multă atenție ca să nu se picure în apa de dializat. Se adaugă toluol în ambele tuburi se pune capacul și totul stă la termostat 16 ore.

După 16 ore se ia cu pipete de 10 cmc. sterile, una pentru fiecare borcănaș și se pune 10 cmc. din apa de dializat în tuburi de Jena sterile de o egală lărgime. Prealabil în aceste tuburi se pune 0.2 cmc. ninhidrină 1%. Apa se fierbe un minut, după regula descrisă la proba pentru peptona de mătase. Unde s'a produs colorațiunea indică prezența fermentilor de apărare care a acționat asupra substratului organic.

Totdeauna pe lângă tuburile cu reacțiune se pune și un tub control: fiecare ser al bolnavului se pune în tubul dializator singur (1.5 cmc.), fără substrat. Vom vedea ca și serul singur poate da substanțe dializabile.

După terminarea reacțiunii — se așteaptă 10 minute pentru citirea rezultatelor, când toate tuburile sunt răcite depă fierbere — tuburile dializatoare se spală cu pensula după indicațiunile de mai sus.

Cunoscând tehnica, este bine să vedem și erorile pe care le putem întâlni în aplicarea acestei metode.

Erori.

În această reacțiune fiecare obiect sau reactiv poate expune la erori.

Substratul, dacă nu este bine dehemoglobinizat sau curățit de țesutul conjunctiv, poate da reacțiuni pozitive.

Prepararea substratului este deci o condiție sine qua non, pentru reușita perfectă a rezultatului. Fierberea este de asemeni foarte importantă. O fierbere prea puțină, atrage după sine prezența de substanțe colorabile cu ninhidrină. Afară de acestea s'au descris fenomene de adsorbțiune de partea organului, care face ca rezultatul să fie negativ, neputându-se produce dezagregarea albuminei.

Serul. Steril, limpede și fără globule roșii, este condiția ca să nu se producă reacții false. Să nu se picure alături de tubul dializator, căci se obțin rezultate pozitive foarte intense.

Serul, poate conține uneori fermenți peptolitici care trec prin membrana dializatoare și chiar la tubul control obținem culoarea violetă după fierbere. Se va face totdeauna comparațiune cu tuburile reacției propriu zise și numai o diferență mare între ele și control, pot conta la un rezultat pozitiv. Când controlul și reacțiunea au aceeași intensitate reacția e socotită negativă. Un alt moment care expune la erori sunt schimbările în echilibru coloidal al serului, care poate acoperi prezența unui rezultat pozitiv.

Ninhidrina. Deși este un produs al casei Hoechst, ea totuși variază ca acțiune. O ninhidrină veche, fie în soluție, fie în stare uscată pierde din virulența ei. Este bine ca la începutul unei soluții noi să probăm titru, ca control și în reacțiune.

Se poate merge până la 0.8 din soluția de 1% cu condiția ca în control să nu se obție nici o culoare. În metoda dializatoare importă calitatea nu cantitatea.

Urmează apoi erori din partea sticlelor : să fie curate, sterile și la spălarea lor să nu se întrebuițeze alcali (sodă) care împiedică reacțiunea.

Cercetări personale.

Metoda dializatoare am aplicat-o în graviditatea normală și anormală, în diferite afecțiuni ginecologice și în avort.

Rezultatele se pot vedea în tabelele ce urmează :

Gravide

No.	DIAGNOZA CLINICĂ	Rezultatul cu ninhidrina		Observațiuni
		Serul singur	Serul cu plăcenta	
1	B. E. Gravidă 2 săptămâni	—	—	
2	R. M. " 4 "	—	[(+)]	
3	O. V. " 5 "	—	—	
4	S. M. " luna I	—	[(+)]	
5	L. I. " " II	—	+	
6	C. O. " " "	—	[(+)]	
7	I. E. " " "	—	[(+)]	
8	E. M. " " "	—	[(+)]	
9	S. A. " " "	[(+)]	(+)	
10	C. M. " " "	—	[(+)]	
11	P. M. " " "	—	(+)	
12	C. E. " " "	—	—	
13	P. M. " " "	—	—	și anexită
14	B. Z. " " "	—	(+)	și tumoră ovariană
15	M. I. " " "	—	+	
16	B. M. " " "	—	—	
17	M. G. " " "	—	—	
18	D. M. " " "	—	—	
19	G. A. " " "	—	—	
20	C. V. " " III	—	[(+)]	
21	G. P. " " "	—	+	
22	V. M. " " "	—	(+)	
23	T. M. " " IV	—	(+)	
24	M. M. " " "	—	(+)	
25	T. M. " " "	—	(+)	
26	H. M. " " "	—	(+)	
27	M. M. " " "	—	[(+)]	
28	C. S. " " "	—	++	
29	B. E. " " "	—	+	
30	C. I. " " "	—	+	
31	R. J. " " "	—	(+)	
32	P. M. " " "	—	[(+)]	
33	L. R. " " VII	—	+	
34	L. " " "	—	++	făt mort
35	H. I. " " "	—	(+)	
36	M. V. " " "	—	[(+)]	
37	Dna Dr H " " "	—	(+)	

No.	DIAGNOZA CLINICĂ	Rezultatul cu ninhidrina		Oservațiuni
		Serul singur	Serul cu placenta	
38	P. M. " " VIII	—	—	
39	S. A. " " " "	—	[(+)]	
40	T. E. " " IX	—	(+)	
41	S. L. " " " "	—	(+)	
42	C. A. " " " "	—	(+)	
43	K. R. sarcina extrauterină	—	+	Confirmată prin operație
44	B. E. " " " "	—	(+)	
45	C. V. " " " "	—	(+)	Metrorație, infiltrație Duglas și tumoră anexială.
46	S. R. " " " "	—	(+)	
47	S. I. " " " "	—	[(+)]	Confirmată prin operație
48	A. K. " " 6 săpt.	—	(+)	" " "
49	T. E. " " " "	—	+	" " "
50	G. M. " " " "	—	—	Nu s'a operat

Afecțiuni Ginecologice

No.	DIAGNOZA CLINICĂ	Rezultatul cu ninhidrina		Observațiuni
		Serul singur	Serul cu placenta	
1	I. J. anexită	—	—	
2	P. S. " " " "	—	—	
3	M. M. " " " "	—	—	
4	C. V. " " " "	—	—	
5	C. P. cancer inoperabil	—	—	
6	M. E. " " " "	—	+	
7	G. M. chist ovarian	—	—	
8	D. S. " " " "	—	—	
9	C. M. " " " "	—	—	
10	C. M. Cistită	—	—	
11	M. N. dismenoree	—	—	
12	M. E. fluor alb	—	—	
13	G. C. metrita	—	—	
14	P. I. metrită și salpingo ovarita	—	[(+)]	
15	E. E. metrită " " "	—	[(+)]	in menstruație
16	S. M. Metrită	—	—	

No.	DIAGNOZA CLINICĂ	Rezultatul cu ninhidrina		Observațiuni
		serul singur	Serul cu placenta	
17	R. A. normal ginecologic	—	—	in menstruație
18	M. E. " "	—	—	
19	P. M. parametrita	—	[(+)]	
20	S. B. pelvipertonita	—	—	
21	J. M. retroflexiune	—	—	
22	M. R. Salpingovarita	—	—	
23	R. S. tumoră anexială	—	—	
24	P. E. " " stg.	—	—	
25	B. I. " " "	—	[(+)]	
26	M. G. " " "	—	—	
27	D. R. " " "	—	—	
28	B. L. " " "	—	—	
29	M. M. " " stg.	—	—	
30	A. M. uter fibromatos	—	—	

No.	DIAGNOZA CLINICĂ	Rezultatul cu ninhidrina		Observațiuni
		Ser simțu	Ser cu placenta	
1	M. C. avort	—	—	3 zile după raclaj
2	B. C. "	[(+)]	+	
3	L. M. "	—	[(+)]	3 " " "
4	I. T. " sarcina 6 săpt.	—	[(+)]	
5	S. D. " " luna II	—	—	6 " " "
6	G. V. " " IV	—	(+)	
7	S. R. " incomplet	—	—	3 zile " "
8	B. M. "	+	[(+)]	
9	B. R. " incomplet	—	(+)	6 " " "
10	I. C. "	—	[(+)]	
11	C. A. "	—	(+)	6 " " "
12	B. R. " incipient	—	—	4 zile după raclaj
13	M. N. " iminens	—	—	s'a raclat după reacție
14	M. C. Status post partum	—	(+)	părăsit Clinica
15	G.V. Endometrita post abort	—	[(+)]	avort de o lună.

Rezultatele obținute.

În prima tabelă în care se găsesc 50 cazuri de gravitate se poate vedea că reacțiunea Abderhalden dă în majoritatea cazurilor rezultate pozitive. O singură dată într'un caz de gravitate în luna 8-a reacția a fost negativă și tot asemenea în câteva cazuri din luna 2-a. În toate cazurile de sarcină extrauterină — 8 cazuri — reacțiunea a fost pozitivă și diagnosticul a fost confirmat prin operație.

În tabela No. 2 întâlnim 30 cazuri unde reacțiunea Abderhalden a fost aplicată pe o serie de femei, ce prezentau chimicește afecțiuni ginecologice. Și aci în majoritatea cazurilor reacția a fost negativă și numai în 5 cazuri s'au obținut reacțiuni pozitive. Desigur numărul nostru este prea redus pentru a putea trage concluziuni definitive.

În tabela No. 3 sunt examinate 15 femei care erau fie în timpul sau după terminarea unui avort. Afară de 2 cazuri unde serul singur dădea o reacțiune pozitivă și afară de alte 5 cazuri la care reacțiunea a fost negativă, în avort chiar după 3 săptămâni (cazul 6) s'a putut obține un rezultat pozitiv.

Un paralelism între reacțiunea Abderhalden și între celelalte reacțiuni biologice pentru diagnosticarea gravidității.

Am amintit chiar dela început, că pentru diagnosticarea gravidității se găsesc încă numeroase reacțiuni. Cunoșcând principiile și aplicațiunile reacției Abderhalden și rezultatele obținute personal la 95 de cazuri, să vedem acum și principiile celorlalte reacțiuni.

1. *Reacțiunea citolitică a lui Freund-Kamminer.* Aceasta se bazează pe puterea litică a serului. Serul normal lizează celulele tumorale sau placentare, în timp ce un ser dela o gravidă sau un canceros nu produce acest fenomen. Cu această reacțiune nu se poate diferenția cancerul de sarcină. Față de reacțiunea Abderhalden, prin a-

ceasta reacțiune autorii vor să probeze, contrar lui Abderhalden, că serul normal conține proteaze. Materialul cu care se lucrează este proaspăt, contrar în reacția Abderhalden, la care substratul este fiert. Autorii care au aplicat metoda obțin rezultate sigure ce variază între 70—80%.

2. Reacțiunea bazată pe *pușterea de sedimentare a globulelor roșii după metoda lui Alf-Westergren*. Sedimentarea globulelor roșii se face de 15—20 ori mai repede ca la cei normali. Reacțiunea este socotită nespecifică.

3. *Reacțiuni bazate pe anomalii ale metabolismului*: glicozuria alimentară, glicozuria adrenalinică și metoda cu florizină.

Glicozuria alimentară — numită și proba lui *Frank-Nothmann* se bazează pe limita de intoleranță pentru asimilarea zahărului. La gravide începe cu sfârșitul primei luni. Autorii dau în 290 de cazuri 90% rezultate pozitive.

Proba cu adrenalină a lui *Raubitschek-Brinnitzer*. Secrețiunea zahărului prin rinichi este mărită în urma unei infecțiuni cu adrenalină. În primele opt luni de sarcină reacțiunea este pozitivă și se poate face cu probabilitate diagnosticul.

Reacția cu florizină. O injecție subcutană cu florizină deslănțește o glicozurie renală. Permeabilitatea renală pentru zahăr este mărită la gravide și urina examinată după o oră dela injecție prezintă zahăr. În primele 5 luni se obțin rezultate pozitive 80%.

4. Reacțiunea de lisă a sincițiului după *Scholten* și *Veit*.

Aceasta se bazează pe faptele anatomo-patologice. În sângele femeii gravide circulă foarte des celule choriale, trombozând uneori vasele pulmonare. Autorii cred că se nasc anticorpi în globulele roșii care topește în sângele matern albumina epiteliului sincițial.

5. Reacțiunea de precipitare a lui *Liepmann*. Epuri injectați cu extracte de placenta reacționează cu serul gravidelor.

6. *Cutireacțiunea lui Engelhorn și Wintz.* Se introduce sub cutan un extract placentar. În cazurile pozitive se produce o tumefiere inflamatorie locală.

7. *Reacția lui Kottmann și Thönen* se bazează pe legăturile specifice ce le dau preparatele metalo-albuminoase recoltate din albumina placentară cu fosfatul de fier.

8. *Reacția lui Weichard*: găsirea produselor de dezagregarea albuminoasă după adăugare de catalizori.

9. *Reacția lui Roemer* bazeată pe înmulțirea lipoizilor în sângele gravidic. Reacția apare dela 3 luni.

10. *Reacția cu veninul de cobra* se bazează pe hemoliza sângelui de la gravide, după *Bauer și Lehndorff*. Cei alți autori au găsit și la tuberculoză și sifilis.

11. *Reacția cu meiostagmina a lui Ascoli și Izar* se bazează pe tensiunea superficială mărită în sarcină.

12. *Reacția antitriptică.* În sarcină în a doua jumătate, serul conține o cantitate mai mare de antitripsină.

13. *Reacția lui Dienst* se bazează pe acțiunea pe care o are căldura de a separa metatrombina de trombină, în urma căruia antitrombina poate fi colorată cu ninhidrină și a o recunoaște cantitativ.

Toate aceste reacțiuni sunt reacțiuni de grup, adică sunt pozitive atât în cancer ca și în graviditate și în procesele inflamatorii.

14. *Reacția lui Lüttge și v. Mertz.* Aceasta este reacțiunea cea mai nouă și cu punctul de plecare dela reacția lui *Abderhalden*. Ei, în monografia apărută de curând, prezintă o modificare a reacțiunii dializatoare și o numesc „reacțiunea cu substrat alcoolic“.

Serul în substratul (în pulbere uscată) după 16 ore de termostat li se adaogă alcool 96°. Se produce o lactescență se filtrează și lichidul de filtrație se fierbe cu ninhidrină în soluție alcoolică. Autorii susțin că reacția este mai simplă și mai fină. Alcoolul are proprietatea de a extrage toate albuminele superioare și în acesta consistă fineța reacțiunii.

Reacțiunea originală e numită A E R *reacțiunea cu*

extract alcoolice. Autorii obțin un extract alcoolice, lichid al placentei și acestuia i se adaugă serul de gravidă. Se filtrează și lichidul se fierbe cu ninhidrină. Reacția se petrece în 10—15 minute și față de reacția Abderhalden, A E R are următoarele deosebiri: prima este o reacție coloido-chimică, cealaltă o reacție de ioni; prima este o reacție de desagregare, cealaltă o reacție bazată pe o afinitate electivă a serului de albumina extractului; prima este o reacție fermentativă, cealaltă o reacție fără fermenți. Întâia are nevoie de 24 ore de termostat, a doua se face repede.

Albumina substratului este strict specifică, pe când în cealaltă albumina extractului nu este organospecifică. Nu se poate diferenția cancerul și sarcina cu R. A., contrar A E R unde este posibil.

Pe aceleași principii, modificând extrasele, autorii au putut diagnostica sexul intrauterin și cancerul. Procentul de rezultate pozitive în sarcină, după inițiatorii reacției este de 97%—98%.

Alți autori care au aplicat metoda, obțin rezultate care nu justifică optimismul elevilor profesorului *Sellheim*.

Acestea sunt reacțiunile principale, care se pot utiliza pentru diagnosticul biologic al sarcinei.

Natural, că față de reacția Abderhalden nici una nu prezintă garanțiile științifice și nici experiența îndelungată pe care reacția Abderhalden o are.

Reacția Abderhalden are un trecut de 16 ani — 1910 începuturile ei — și cu toate criticile aduse, ea a rămas — deși foarte puțin utilizată în scopuri practice — în practica câtorva institute și Clinici. Ultimii 3—4 ani, reacția Abderhalden a căpătat un nou avânt prin introducerea metodei interferometrice și toate aparențele fac să ne gândim, că viitorul unui diagnostic biologic al sarcinei este legat de viitorul reacției Abderhalden.

Concluziuni.

Reacția Abderhalden apare din toate reacțiile biologice întrebuințate până acum în clinică cu particularitățile ei deosebite: e o reacțiune fermentativă. Față de celelalte reacțiuni prin care s'ar putea diagnostica sarcina, reacția Abderhalden prezintă cele mai serioase garanții și astăzi este singura la care se poate apela în ginecologie și obstetrică pentru precizarea diagnosticului.

Calitățile și importanța acestei reacțiuni în Ginecologie și obstetrică se pot rezuma astfel:

1. Reacțiunea Abderhalden îndeplinește toate calitățile unei reacțiuni biologice, fiind o reacțiune bazată pe fapte anatomice.

2. Reacția Abderhalden îndeplinește condițiunile unei metode practice putându-se oricând controla erorile și reacțiilor întrebuințați.

3. Reacția Abderhalden nu pune diagnosticul prin ea însăși, ci aduce noi fapte clinicianului pentru precizarea unui diagnostic.

4. Prezența fermentilor placentari nu pune diagnosticul de sarcină ci indică în organism prezența placentei (sarcină, avort, chorioepiteliom).

5. Reacția Abderhalden nu este specifică pentru sarcină, dat fiind că este negativă uneori în cazuri de sarcină și pozitivă în cazuri de cancer sau afecțiuni inflamatorii ale organelor genitale.

6. Pentru procentul mic de rezultate nesigure, reacțiunea Abderhalden va trebui întrebuințată numai atunci când simptomele clinice singure nu pot decide diagnoza.

Văzută și bună de imprimat :

Decan :

Președinte :

ss. Prof. Dr. Titu Vasiliu

ss. Prof. Dr. Cristea Grigoriu



Bibliografie.

1. *E. Abderhalden* : Die Abderhalden Reaktion Julius Springer, Berlin, 1912.

2. *E. Ewald* : Die Abderhald. Reak. S. Karger, Berlin 1920.

3. *Liepmann* : Zur Biologie der menschl. Plazenta arch. f. Gyn. Bd. 52 No. 1.

4. *W. Lüttge und W. V. Mertz* : Alkohol-Extract Reaction. Hirzel Leipzig 1927.

5. Kottmann und Thönen, citat după Lüttge și Mertz : loc. cit. p. 113.

6. Bauer und Lehndorf citat după Lüttge și Mertz loc. cit. p. 113.

7. *Dienst* : Zur Frühdiagnose der gravidität Mon. f. Geb. u. Gyn. 1926—5 și 6.

8. *Hirsch* : Die Abderhalden Reak. mittels der quantitativen, interferometrischen methode Klin. Woch, 1925, No. 28—29.

9. *Schiff* : Uber bie Verwertbarkeit der A. R. Schnupp M. m. W. 3 VI 1913.

10. *Schnupp* : citat după Hirsch, loc. cit.

11. *Ureche și Kernbach* : Com. v. Soc. Biol.

12. *Hegner* : citat după Ewald, loc cit.

13. *Vancea* : Clujul medical, 1924, No. 5—6.

14. *Keustmann* : citat după P. Hirsch, loc. cit.