

# Acerca de la Reacción de Galli Mainini

Q. F. IRIS SCLAVO ARMAN

*Hospital de Tacuarembó*

## S U M M A R Y

This paper summarizes experiments on Galli-Mainini's reaction. Tomasi's method is preferred on the basis of percentages of false positive and false negative results obtained with different techniques.

A simple method to avoid the death of the toad is described; it consists in injecting 10 cc of 10% NaCl in the lateral lymph sac and holding it at a temperature between 25 and 30°C.

In cases of profuse metrorrhagia doubts may arise as to its origin from spontaneous or non-spontaneous abortion or from a similar picture such as a broken ectopic pregnancy. This leads the author to determine critically the time taken for the disappearance of the chorionic gonadotropins from urine in cases of abortion.

Two groups of methods for sensitizing the reaction are described, those that depend on increasing the concentration of hormone in the urine and those that depend on a better diffusion of the injected material. Precipitation with acetone and the use of hyaluronidase is recommended in cases when ectopic pregnancy is suspected.

Se han reunido en el presente trabajo una serie de experiencias realizadas en torno a la reacción de Galli Mainini (1) y las consideraciones correspondientes se han agrupado en los siguientes párrafos:

- 1) Estadísticas. Errores y casos especiales.

- 2) Método rápido para evitar la muerte del sapo.
- 3) La reacción de Galli Mainini en el aborto.
- 4) Ensayos de algunas técnicas para sensibilizar la reacción.

1) *Estadísticas*

Las reacciones se realizaron de acuerdo con la técnica original del autor y en la mayor parte de los casos siguiendo las indicaciones del Dr. Tomasino (6), lo cual nos dió excelentes resultados, ya que en varias experiencias el segundo animal fué el que dió la respuesta correcta.

*Estadística global incluyendo distintos autores (2)*

	N.º total	N.os correctos	% exactitud
Galli Mainini .....	1.709	1.705	99,77
Pinto y Suer Buero .....	90	90	100
Rodríguez López .....	300	300	100
Pou de Santiago .....	165	163	98,19
Merchant .....	100	99	99
Gandolfo Herrera .....	69	69	100
Ferrari, Pastori y Ledesma .....	—	—	96
Sclavo .....	329	326	99

*Falsos negativos:* Primer caso: embarazo normal de un mes. La reacción fué efectuada en un solo sapo. Embarazo confirmado por evolución posterior.

Segundo caso: se le practicaron en total ocho reacciones, algunas frustradas total o parcialmente por muerte del sapo, ya que se trataba de una orina sumamente tóxica. Dos murieron inmediatamente de inyectados. Otros cuatro sobrevivieron entre dos y cuatro horas, siendo siempre negativos. Los dos restantes se mantuvieron más de 24 horas con el mismo resultado. Agreguemos que entre una y otra experiencia mediaron diez días. Embarazo confirmado por aborto posterior.

Aun hace más interesante este caso el hecho de que meses más tarde con motivo de nueva amenorrea se le practicaron dos reacciones de Friedman con un intervalo de quince días, que resultaron negativas. Un aborto pocos días después desvirtuó el resultado obtenido.

En el momento de escribir este trabajo y por nueva amenorrea se le practicaron reacciones de Galli Mainini por la técnica original, otra con 15 c.c. y otra con el precipitado de 50 c.c. con acetona, según describiremos más adelante. Además una reacción química de

Schlör (16), dando todos resultados negativos.

Tercer caso: reacción negativa en un solo sapo. Metrorragia seguida de aborto espontáneo. Hay antecedentes de abortos del mismo tipo, lo cual estaría explicado por la baja concentración de hormonas en los cuadros de amenaza de aborto, según la clasificación de Briendeau-Hinglais (8) (9).

Por último, citemos tres casos en que el primer sapo no respondió y el segundo inyectado algunas horas después con la misma orina dió resultado positivo. Informado así se confirmó por evolución posterior. De aquí que nos permitamos aconsejar seguir las indicaciones del Dr. Tomasino. Por otra parte, Pinto y Suer Buero (7), son más categóricos, ya que los resultados obtenidos por ellos usando uno o dos sapos ofrecen porcentajes de positividad de 94 % en el primer caso y 100 % en el segundo.

*Falsos positivos:* Con carácter experimental hemos obtenido dos reacciones positivas falsas en quiste de ovario y con orina de menopáusica sometiendo los sapos inyectados a temperaturas de 50-60 grados C.

Se efectuó otra reacción con una embarazada a término con resultado negativo. El mismo animal a las 24 horas con temperaturas cercanas a los 50 grados C al cabo de una hora expulsaba espermatozoides por la orina. Otros sapos expuestos a las mismas temperaturas sin inyección previa alguna, no respondieron al aumento de temperatura, lo cual debe interpretarse como que ésta sensibiliza la reacción, pero no es capaz de producir por sí misma la espermatogénesis.

*Velocidad de respuesta incluyendo varios autores (3)*

	Total posit.	1.ª h.	2.ª h.	3.ª h.	24 h.
Galli Mainini .....	891	54,8 %	94,2 %	—	5,8 %
Figueroa Casas, Belizán y Saffieri .	100	—	95 %	100 %	—
Blanchard y Bretto .	100	—	96 %	—	—
Sala, Jachensky y Colotta .....	42	84,5 %	—	—	—
Hutz .....	86	95 %	100 %	—	—
Pou de Santiago ...	165	—	—	—	3,3 %
Sclavo .....	133	64 %	92,5 %	97 %	3,0 %

En cuanto a los embarazos ectópicos son muy pocos casos como-

para que tengan significación casuística. De siete casos se obtuvieron reacciones falsas en dos de ellos, uno de los cuales repetida con intervalo de quince días. Recordemos que si bien el embarazo ectópico en evolución puede dar una concentración de gonadotrofinas coriónicas igual al tópico, generalmente es menor (8).

*Mola hidatiforme:* Reacción positiva muy intensa. Se repite al mes de extraída la mola y se negativiza.

*Feto muerto y retenido:* Reacción positiva débil en cuanto a velocidad de reacción y número de espermatozoides. Se extrae feto muerto con varios días de maceración. La baja concentración de hormona gonadotrófica en estos casos está de acuerdo con la clasificación de Briendeau - Hinglais (8) (9).

## 2) Muerte de los sapos

Nuestros porcentajes de mortalidad eran muy superiores al 0,76 % indicado por Galli Mainini (4), cosa por otra parte ya informada por otros autores (10), porcentaje que para nosotros era de un 3 %.

En la mayoría de los casos se notaba al animal completamente flácido, al cabo de pocos minutos de inyectado, para morir antes de cumplirse la primer hora.

Se trató de hallar alguna solución a este inconveniente y así ideamos una técnica sencilla para evitarlo. Cuando se observa que el animal comienza a ponerse flácido, recordándonos un estado de "shock", le inyectamos en el saco linfático lateral 10 c.c. de una solución de NaCl al 10 % y le proporcionamos una temperatura cálida entre 25 y 30 grados C por sucesivas adiciones de agua caliente. Aconsejamos el uso de recipientes de vidrio para la mejor observación del animal.

Esta sencilla operación nos ha dado resultados excelentes, recuperando el sapo en pocos minutos su estado normal, permitiendo por lo menos terminar la reacción y en la mayor parte de los casos también la realización de nuevas experiencias. No obstante, en un caso de orina sumamente tóxica, el resultado no fué el deseado.

El otro método, al cual nos referiremos cuando tratemos los métodos de sensibilización, consiste en precipitar la hormona con acetona, quedando liberada de la toxina.

## 3) La reacción de Galli Mainini en el aborto

En muchos casos en que la enferma se presenta con metrorragia abundante, sospecha de aborto espontáneo o provocado, se plantea al médico la duda de tratarse también de cuadros similares: embarazo ectópico roto, etc.

Ello nos llevó a hacer las experiencias que detallaremos, con el fin de determinar el tiempo que tardaban en desaparecer de la orina las gonadotrofinas coriónicas en caso de aborto.

Se estudiaron 28 enfermas hospitalizadas a las cuales se les practicó la bufo-reacción en el momento de su ingreso, antes de procederse al curetaje o inmediatamente después de éste, a las 24, 48 y 72 horas.

Los resultados podemos resumirlos así:

Todas las reacciones fueron positivas en el momento de su ingreso o sea mientras existían restos placentarios (9).

La positividad no desaparecía, con una sola excepción, antes de las 24 horas, pudiendo conservarse aún a las 48 horas en muchos casos, pero desapareciendo siempre a las 72 horas.

Es decir, que los resultados coinciden con los obtenidos por Galli Mainini (5) discrepando con Hutz (11), para quien las gonadotrofinas coriónicas desaparecen antes de las ocho horas.

### 4) Ensayos de algunas técnicas para sensibilizar la reacción

Los métodos corresponden a dos tipos:

a) Los que corresponden a una concentración de la hormona en la orina y

b) Los que tratan de facilitar la difusión del material inyectado.

a) A pesar de desconocerse la fórmula de la gonadotrofina coriónica, se sabe que se trata de una mucoproteína y basándose en las propiedades físico-químicas de estos compuestos tendremos los posibles métodos de extracción. En nuestro caso no buscamos la purificación de la hormona, pues el único fin perseguido es el de aumentar la sensibilidad de la reacción.

Las propiedades que más nos interesan son las que se refieren a su solubilidad y al respecto conviene recordar que es soluble en el agua pero no en alcohol, acetona, éter y que es absorbida por el ácido benzoico, el caolín y el carbón.

En muchas de estas propiedades se basan distintos métodos de

extracción con fines cuantitativos o comerciales. Así, por ejemplo, Scott utiliza el caolín, Bowman (12) la acetona, Katzman y Doisy (3) el ácido benzoico-acetona o, ya con fines diagnósticos, Hogben (14) la acetona en su método de determinación del embarazo y Robbins (15) el alcohol etílico.

Por nuestra parte ensayamos los ya citados y agregamos de nuestra cosecha el  $Al(OH)_3$  formado en el seno de la orina y la diálisis.

La acetona fué la que nos dió los mejores resultados y por lo tanto nos detendremos en su consideración.

*Técnica:* Se trata un volumen de orina (50 c.c.) con dos volúmenes de acetona, se agita y se deja reposar dos horas en la heladera. Al cabo de ese tiempo se filtra o centrifuga y el precipitado se deja secar al aire. Luego se le suspende en 10 c.c. de agua destilada o suero fisiológico y esta suspensión se inyecta al sapo.

Hemos empleado este método con orinas de embarazadas diluidas con orinas de personas normales, generalmente masculinas, hasta llegar a un límite en el cual desapareciera la positividad de la reacción, por el método común.

Sobre esta dilución empleamos el método de la acetona con muy buen resultado.

Con similar beneficio se tradujeron experiencias efectuadas con orinas que espontáneamente daban reacciones débiles por el método original.

El método adquiere una especial significación en los casos de embarazo ectópico, debido a la menor concentración gonadotrófica que generalmente tiene la orina en esos casos y en los de orinas tóxicas, pues la sustancia responsable de la toxicidad no es precipitada por la acetona.

b) Respecto al segundo tipo o sea los métodos que buscan acelerar la absorción del material inyectado aumentando su difusión en los tejidos, hemos ensayado el uso de la hialuronidasa aconsejada por el Dr. Borrone (17), con buenos resultados.

La técnica consiste simplemente en inyectar previamente a la orina 100 U.B. de hialuronidasa (Hyalase) en el saco linfático lateral e inmediatamente la orina como en la reacción común.

Como se ve esta operación no le resta sencillez, agilitando por el contrario la lectura.

Por nuestra parte hemos obtenido reacciones positivas correctas a los cuarenta minutos.

Como ya lo expresáramos al referirnos al método de la acetona, cuando se trata de sospecha de embarazo ectópico esta variación se hace más interesante.

#### Resumen

1. Se aconseja la técnica del Dr. Tomasino.
2. Se describe un método rápido para evitar la muerte del sapo.
3. Se fija el plazo de desaparición de las gonadotrofinas de la orina en los casos de aborto.
4. Se aconseja el uso de hialuronidasa y de la precipitación con acetona en las sospechas de embarazo ectópico.

#### Bibliografía

- (1) Galli Mainini, Carlos. — El diagnóstico del embarazo con batracios machos. Ed. Impuglione, 1942.
- (2) Idem, pág. 81.
- (3) Idem, pág. 88.
- (4) Idem, pág. 92.
- (5) Idem, pág. 100.
- (6) Tomasino, citado en (1) pág. 57.
- (7) Pinto y Suer Bueno. — Contribución al estudio de la reacción de Galli Mainini. *Obst. y Gin. Lat. Am.* V, 557, 1947.
- (8) Votta, Roberto. — Gonadotrofina coriónica. Pág. 17, 1946.
- (9) Motta Tarazona, Germán. — La R. de C. M. Tesis Universidad Javariana. Bogotá, 1953.
- (10) Ferrari, Pastori y Ledesma. — Nuestra experiencia con la reacción de Galli Mainini. *Gin. y Obst. Lat. Am.* V, 562, 1947.
- (11) Hutz, A. — Estudo da reação biológica de Galli Mainini Tesis Fac. Med. Porto Alegre. Rio Grande do Sul, 1947.
- (12) Mello, M. J. — Novo método para o diagnóstico da gravidez baseado na determinação química da hormônio gonadotrófico da urina. *Rev. Bras. de Biol.* 3, 119-125, 1943.
- (13) Preparation of extracts of the anterior pituitary — Like substance of urine of pregnancy. *The Journ. Biol. Chem.* 98, 746, 1932.
- (14) Hofman S. — An evaluation on the Hogben pregnancy test. *Am. Journ. of Obst. and Gyn.* 672-677, Mayo, 1946.
- (15) Robbins, S. L. — *J. Clin. Endocr.* 11-213, (feb.) 1951.
- (16) Schlör, W. — *Deut. Med. Woch. Diciembre*, 1950.
- (17) Borrone, Nevio J. — *Prensa Méd. Arg.* 15, 1024, 1954.