

NOVO PROCESSO E APARÉLHO — MICROFLUIDOSCÓPIO —
PARA A LEITURA DA REAÇÃO DE KHAN E PARA ANÁLISES,
EXAMES OU LEITURAS DE FLOCULAÇÕES, AGLUTINAÇÕES,
PARTÍCULAS, TURVAÇÕES E OPALESCÊNCIAS EM SOROS,
REAÇÕES, SOLUÇÕES, SUSPENSÕES, EMULSÕES OU SUBSTÂN-
CIAS LÍQUIDAS EM GERAL

por

JARBAS AUGUSTO VIEGAS
Médico do Instituto Adolfo Lutz

Teve origem este trabalho na idéia que nos ocorreu de apresentar um processo de leitura mais atualizado e eficiente para a reação de Kahn (sôro-diagnóstico da sífilis), em virtude de julgarmos incômodos, fatigantes e inseguros os métodos empregados na interpretação dos resultados dessa famosa reação, usada mundialmente na maioria dos laboratórios oficiais e privados.

Traduz-se a reação de Kahn, como é sabido, por um fenômeno de floculação do sôro, proporcional, quantitativamente, ao seu grau de positividade. Nos soros positivos acentuadamente floculados, a verificação dos resultados não oferece dificuldades, mesmo à visão desarmada, desde que o operador faça incidir, na reação, luz convenientemente dosada, no intuito de procurar afastar, tanto quanto possível, a intercorrência dos reflexos muito vivos responsáveis pelo fenômeno de ofuscamento prejudicial à eficiência da leitura.

Já nos soros de positividade fraca ou duvidosa, a leitura se torna relativamente difícil, em razão da aparência delicada e imprecisa dos flóculos, cuja visibilidade, não raro, é obstada pelos efeitos impeditores acima referidos.

Seria óbvio admitirmos que, com a ajuda dos artifícios comuns de ampliação (lupas), o problema ficaria definitivamente resolvido. Entretanto, isso não parece acontecer sempre e a leitura da reação de Kahn vem apresentando não pequena preocupação aos laboratórios, em consequência, de um lado, da impropriedade dos métodos existentes e, de outro lado, da interferência de fatores acidentais, como sejam fadiga ocular de acomodação e mesmo possível deficiência visual do observador — fatores

esses responsáveis, isolada ou conjuntamente, pela falta de uniformidade na interpretação dos resultados.

É fácil, pois, de compreender que, em Serviços de movimento intenso, como acontece, em especial, nos de Saúde Pública e nos de Assistência Social, as imperfeições comumente verificadas nas leituras decorrem do excessivo esforço visual a que é, diariamente, submetido o analista. E essa ocorrência cresce mesmo de importância se a reação se apresentar ligeiramente positiva ou duvidosa, como referimos; nesses casos, a leitura poderá até ser passível de contradições, se acaso nela intervier mais de um observador. Não deve ser esquecido que o antígeno também pode constituir a causa da circunstância apontada, em virtude de apresentar-se, às vezes, granuloso e heterogêneo, a ponto de mascarar a aparência característica das reações negativas.

Os processos correntes de leituras são os seguintes :

a) PROCESSO DO ESFÊLHO CÔNCAVO — Consiste o processo em produzir-se ligeira ampliação das imagens, pela aproximação do tubo a um pequeno espelho refletor côncavo : a leitura é praticada mediante manobras de posição do conjunto, relativamente a uma fonte luminosa natural ou artificial.

b) LEITURA POR INTERMÉDIO DE LUPA COMUM — Esse processo é o mais comumente usado nos laboratórios clínicos e consiste no seguinte : o laboratorista, que deverá estar colocado em frente a uma janela ou nas proximidades de uma fonte luminosa artificial, eleva à altura de um dos olhos, contra a luz, o tubo que contém a reação, mantendo, com a outra mão, uma lupa interposta entre este e o olho observador, a fim de realizar a leitura (figura 1-AB). Sendo esta manobra repetida tantas vezes quantas forem as unidades a examinar, compreende-se quão incômoda e fatigante se apresenta para o analista a leitura continuada de um elevado número de reações.

Na esperança de afastar os inconvenientes que vimos de apontar, procuramos estudar uma maneira mais prática e segura de efetuar tais leituras, no objetivo principal de oferecer resultados mais constantes e regulares. E, animados nesse propósito, conseguimos chegar, com alguma persistência, ao resultado que ora temos a satisfação de submeter ao juízo dos nossos prezados colegas.

A leitura efetuada no Microfluidoscópio fundamenta-se no emprêgo da iluminação artificial indireta em câmara escura (figura 1-D); além de posição confortável, o processo oferece segurança na leitura que poderá ser praticada ininterruptamente, sem provocar qualquer dos inconvenientes próprios dos métodos comuns já referidos.

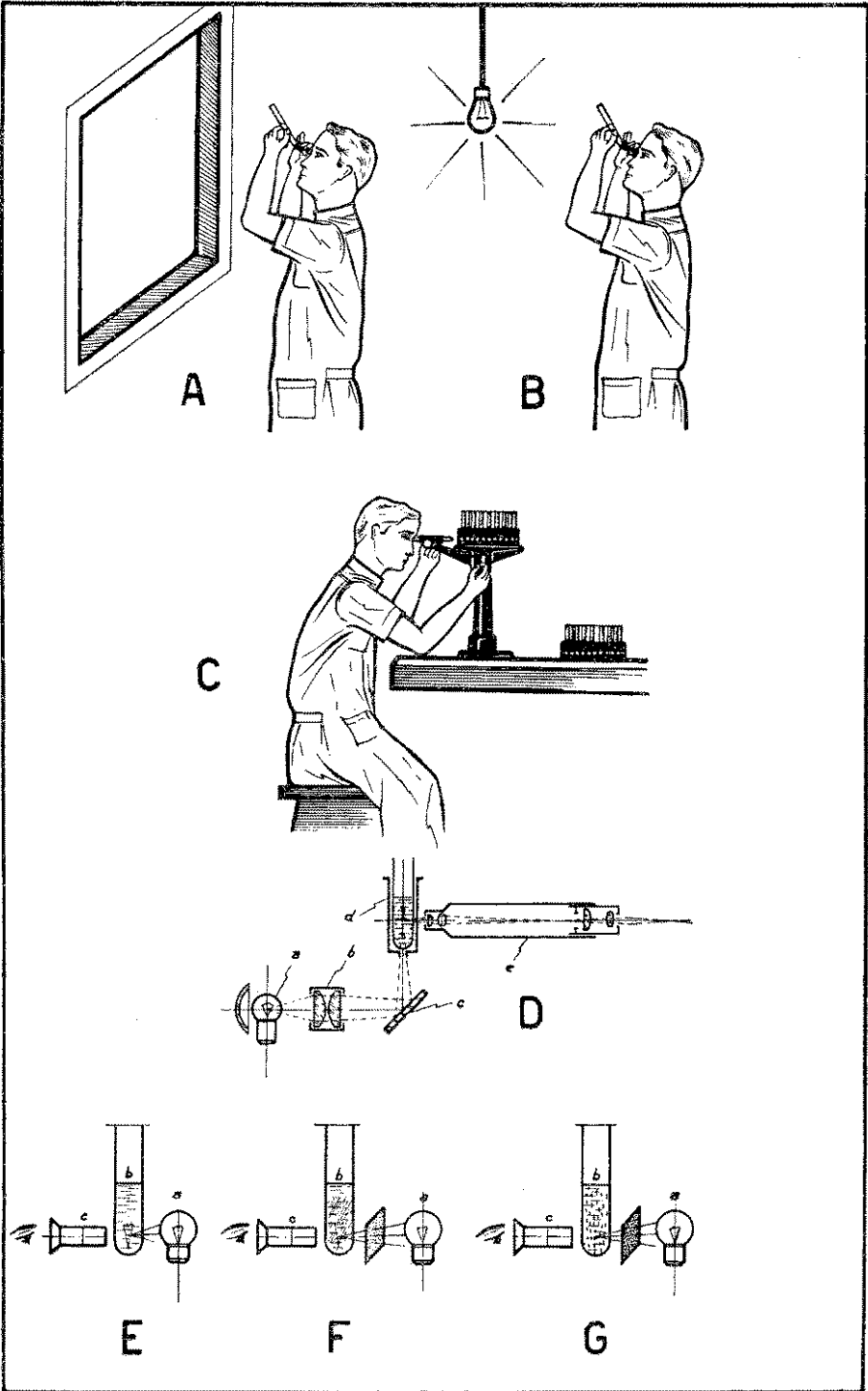


Figura 1

A figura 1-C mostra a posição do analista por ocasião das leituras. A possibilidade de substituição da coroa-suporte permite operar continuamente, bastando alterná-la por unidades sobressalentes previamente abastecidas por um auxiliar de laboratório.

Lisongeiras ao nosso aparelho foram as apreciações que teve oportunidade de fazer o ilustre Professor Kahn, por ocasião de sua visita ao Departamento de Microbiologia de nossa Faculdade de Medicina. Suas palavras foram de animador entusiasmo, ao verificar a simplicidade e segurança na leitura de sua reação.

Esclarecendo as vantagens do presente método, consideremos, a título de ilustração, um objeto interposto entre a vista de um observador e uma fonte luminosa qualquer. Nessa situação, dificilmente lhe será possível perceber, com clareza de detalhes, as características primordiais desse objeto, senão apenas a sua silhueta. O mesmo não sucederá, entretanto, se a luz o atingir por um de seus lados; a sua imagem e detalhes poderão ser observados, então, com maior riqueza de pormenores.

Se agora realizarmos as mesmas experiências em ambiente totalmente escuro, onde uma estreita réstea de luz penetrasse à guisa de fonte luminosa, e se interpuzermos, nesse trajeto luminoso, uma laranja, por exemplo, o observador, postado contra a luz, notará, no primeiro caso, somente um círculo escuro delimitado pelos seus contornos; verá, no segundo caso, uma quarta parte da laranja perfeitamente iluminada e verá, ainda, outra quarta parte iluminada com menos intensidade pelos raios luminosos refletidos. O observador terá, desse modo, possibilidade de estudar os detalhes da laranja, sentindo, também, o que é importante, a impressão do seu relêvo esférico.

Mutatis mutandi, tudo ocorre de maneira semelhante a este último caso na câmara escura do nosso Microfluidoscópio.

A figura 1-D mostra, de conformidade com as nossas experiências preliminares, a solução teórica encontrada para a perfeita iluminação dos flóculos na reação de Kahn: a fonte luminosa "a" acha-se colocada abaixo do prolongamento do tubo microscópico "e" e emite raios luminosos, que, se refletindo no espelho "c", após atravessarem o condensador "b", iluminam toda a massa do fluido "d"; o olho observador recebe, pelo tubo microscópico "e", as imagens dos flóculos ampliadas, convenientemente, e contrastadas na câmara escura "f".

A figura 1-EFG esclarece as dificuldades produzidas pela iluminação direta na apreciação dos flóculos: na figura 1-E, a fonte luminosa "a" projeta seus raios diretamente na massa fluida "b", produzindo ofuscamento das imagens, que se tornam invisíveis praticamente. Além disso, o filamento luminoso da fonte "a" é projetado no olho observador, tornando o exame

impossível; a figura 1-F reproduz experiência semelhante, porém realizada mediante a interposição de um filtro colorido "d", entre a fonte luminosa "a" e o elemento "b"; os resultados foram praticamente semelhantes aos apresentados na figura 1-E; a figura 1-G nos revela, ainda, a mesma experiência com a interposição de um filtro branco fosco "d" entre a fonte luminosa "a" e o fluido em exame "b"; o campo tornou-se, neste caso, mais brando, sendo possível perceber as imagens à maneira de finas estriações róseas, provavelmente em consequência da maior condensação de raios nesta região da imagem.

Entretanto, o emprêgo da iluminação indireta em câmara escura não se limita apenas à leitura da reação de Kahn, como esclarece o título dêste trabalho. A sua aplicação é mais generalizada no próprio terreno da pesquisa clínica, onde podemos citar os numerosos casos de reações de floculação, aglutinação e turvação, ao lado de exames das mais variadas naturezas.

Nas indústrias química e bromatológica, o processo da câmara escura com iluminação indireta se nos afigura de grande interêsse prático, principalmente na verificação da limpidez de fluidos diversos, como águas potáveis e bebidas em geral.

Todavia, na indústria farmacêutica, parece ter o processo uma das suas mais importantes aplicações, sabido como é que a filtração dos produtos injetáveis constitui a grande preocupação das secções técnicas dos laboratórios idôneos.

Mediante o exame microfluidoscópico de numerosos produtos injetáveis, das mais variadas procedências, tivemos oportunidade de nos certificar, convenientemente, acêrca das causas reais e originárias dos processos de infiltração tissulares mais ou menos intensos e duradouros, endurecimentos e, até mesmo, de supurações assépticas, observados rotineiramente na clínica diária, em pacientes submetidos a tratamento por injeções nas regiões glútea e deltóide.

E não se diga tratar-se de incúria ou de negligência das secções técnicas dos laboratórios responsáveis. A nosso vêr, a inexistência de meios de contrôle mais precisos e científicos seria a razão primária do empirismo ainda reinante no seio de numerosas indústrias congêneres.

Entretanto, deante da realidade que a microfluidoscopia vem de revelar, acreditamos que essas deficiências serão corrigidas, sem demora, em benefício da Saúde Pública e do renome da já prestigiosa indústria de produtos terapêuticos do país.

É bem de ver, pois, que o exame acurado do problema por parte dos poderes públicos responsáveis na matéria se impõe, paralelamente, como medida da maior oportunidade.

Além do contrôlo da limpidez, o processo, no sector farmacêutico, se aplica também na pesquisa de pirogênios (efeito Tyndall), bem como no estudo da estabilidade das soluções.

O campo da microfluidoscopia parece ser extenso na era atual em que a Civilização, impulsionada por suas admiráveis conquistas, tem atingido, no terreno técnico-científico, um plano de desenvolvimento jamais sonhado.

O APARÉLHO — FIGURAS 2, 3, 4 e 5

PERSPECTIVA EM PERFIL — Figura 3 — n.º 1, base; n.º 2, coluna-suporte; n.º 3, parafuso do reostato regulador da intensidade luminosa; n.º 4, chave interruptora da corrente elétrica; n.º 5, parafuso fixador da altura regulável da coluna-suporte; n.º 6, parafuso de rotação da coroa-suporte; n.º 7, câmara de iluminação onde estão contidos a fonte de iluminação e os elementos acessórios que constituem o sistema iluminante; n.º 8, suporte do tubo microscópico; n.º 9, tubo microscópico provido de ocular e de objetiva substituíveis; n.º 10, parafuso da cremalheira do microscópio; n.º 11, alavanca móvel do espelho refletor; n.º 12, coroa-suporte onde se situam as câmaras escuras; n.º 13, orifício externo da câmara escura; n.º 22, cordão de tomada de corrente.

CORTE LONGITUDINAL — Figura 4 — n.º 13, orifício externo da câmara escura; n.º 14, orifício de entrada de luz para a câmara escura; n.º 15, espelho refletor parabólico; n.º 16, fonte luminosa; n.º 17, lentes condensadoras; n.º 18, espelho refletor direcional dos raios luminosos; n.º 19, câmara escura; n.º 20, orifícios de entrada para a câmara escura; n.º 23, transformador de corrente elétrica; n.º 24, fios de ligação entre a fonte luminosa e o transformador.

PROJEÇÃO DO APARÉLHO DE CIMA PARA BAIXO — Figura 5 — n.º 20, orifícios de entrada para a câmara escura, destinados a tubos ou outros recipientes transparentes de secção circular de 12 mm, podendo, todavia, apresentar diâmetros diversos em coroas-suportes acessórios; n.º 21, orifícios em número de três, de entrada para as câmaras escuras, destinados a tubos de faces planas.

DISPOSITIVO DE AÇÃO ROTATIVA DA COROA-SUPORTE — O acionamento do parafuso 6, em sentido rotativo para a direita ou para a esquerda, imprime rotação ao dispositivo 7 e, conseqüentemente, à coroa-suporte 12, à custa do engrenamento contínuo dos 4 pinos existentes no segmento superior do parafuso 6, na cremalheira 27, esculpida na face interna, junto ao bordo inferior da parte montante do dispositivo 7; por outro lado, o parafuso 25, provido, em sua extremidade superior, de pequena



Figura 2 — Protótipo do microfluidoscópio.

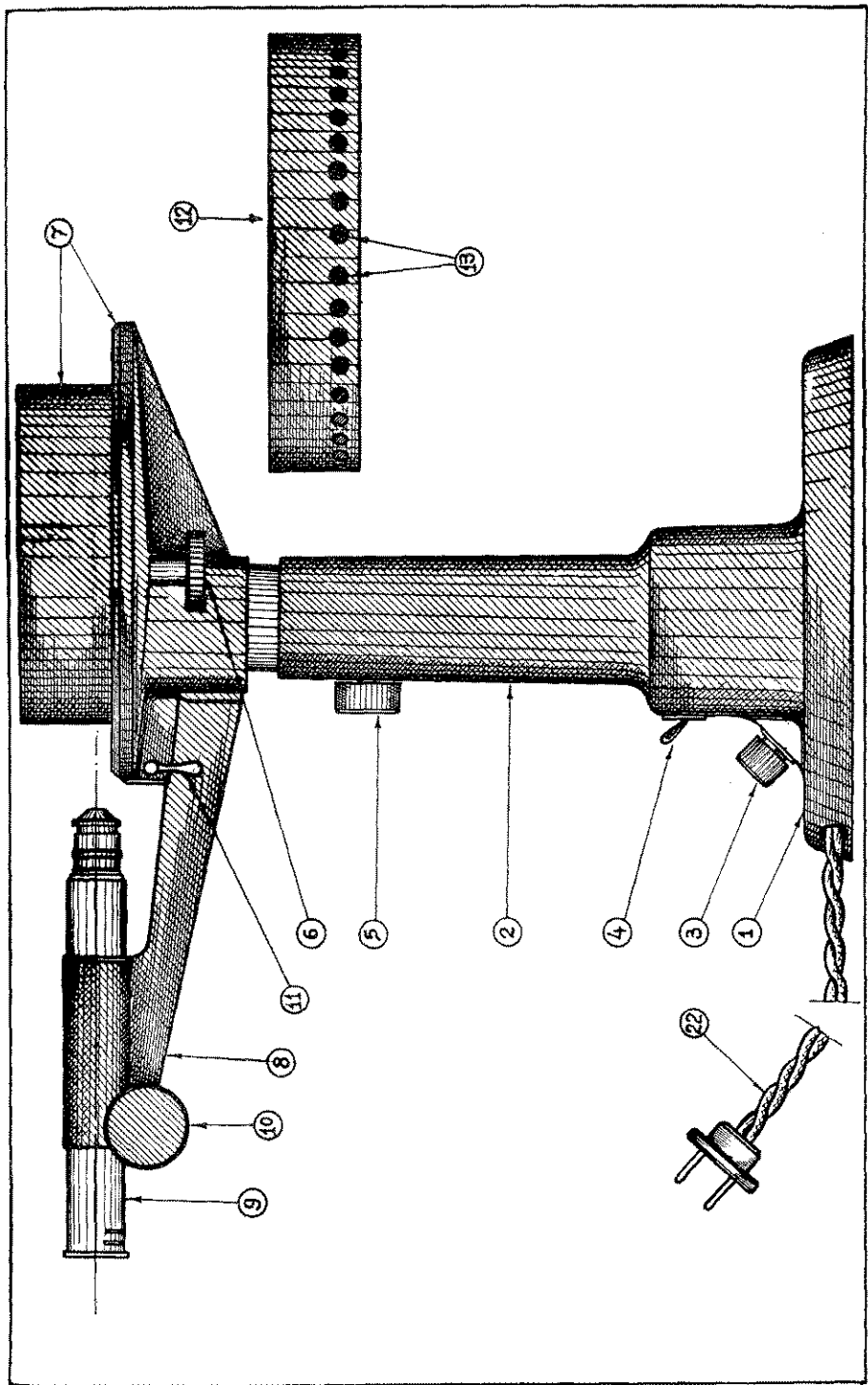


Figura 3

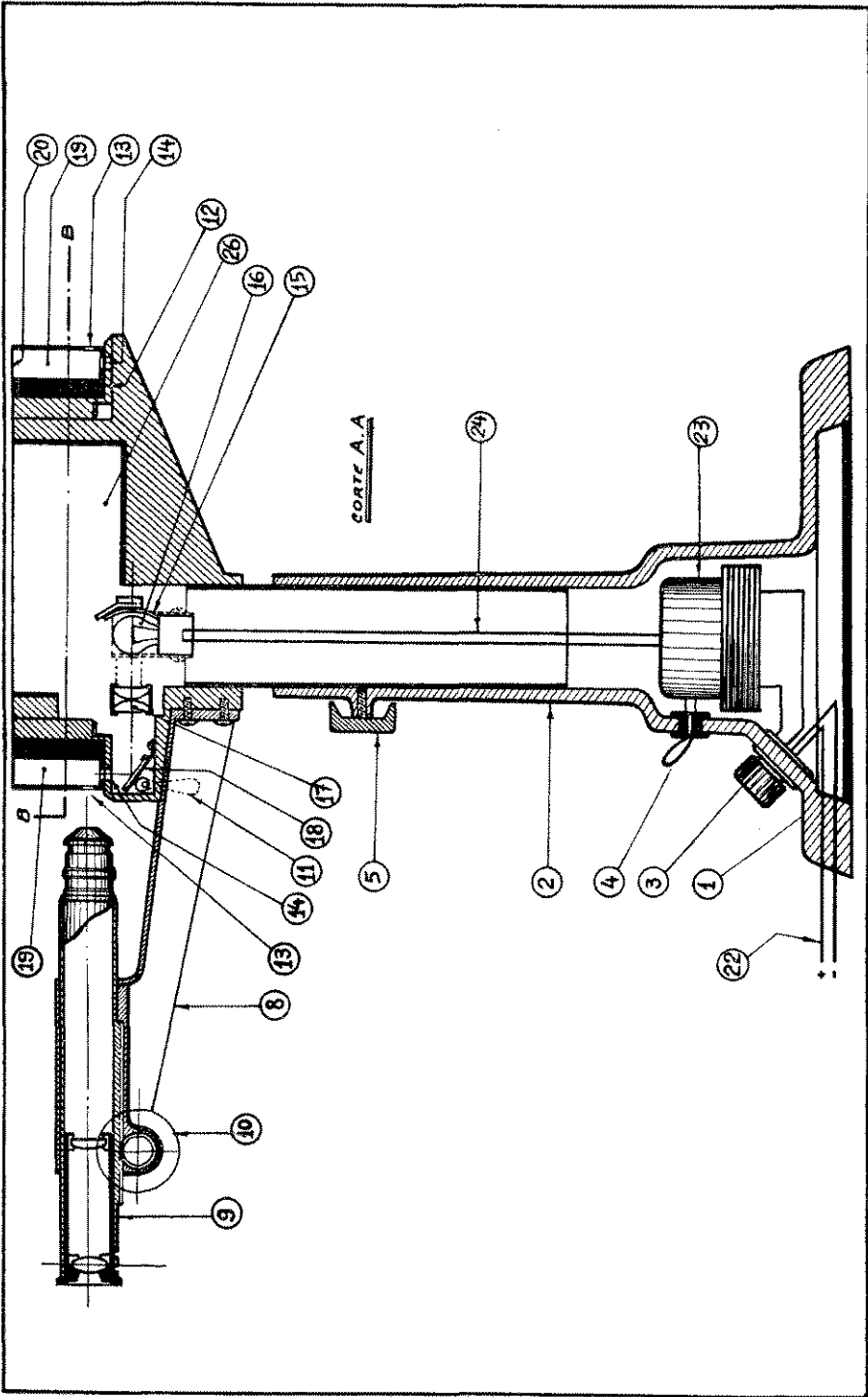


FIGURE 4

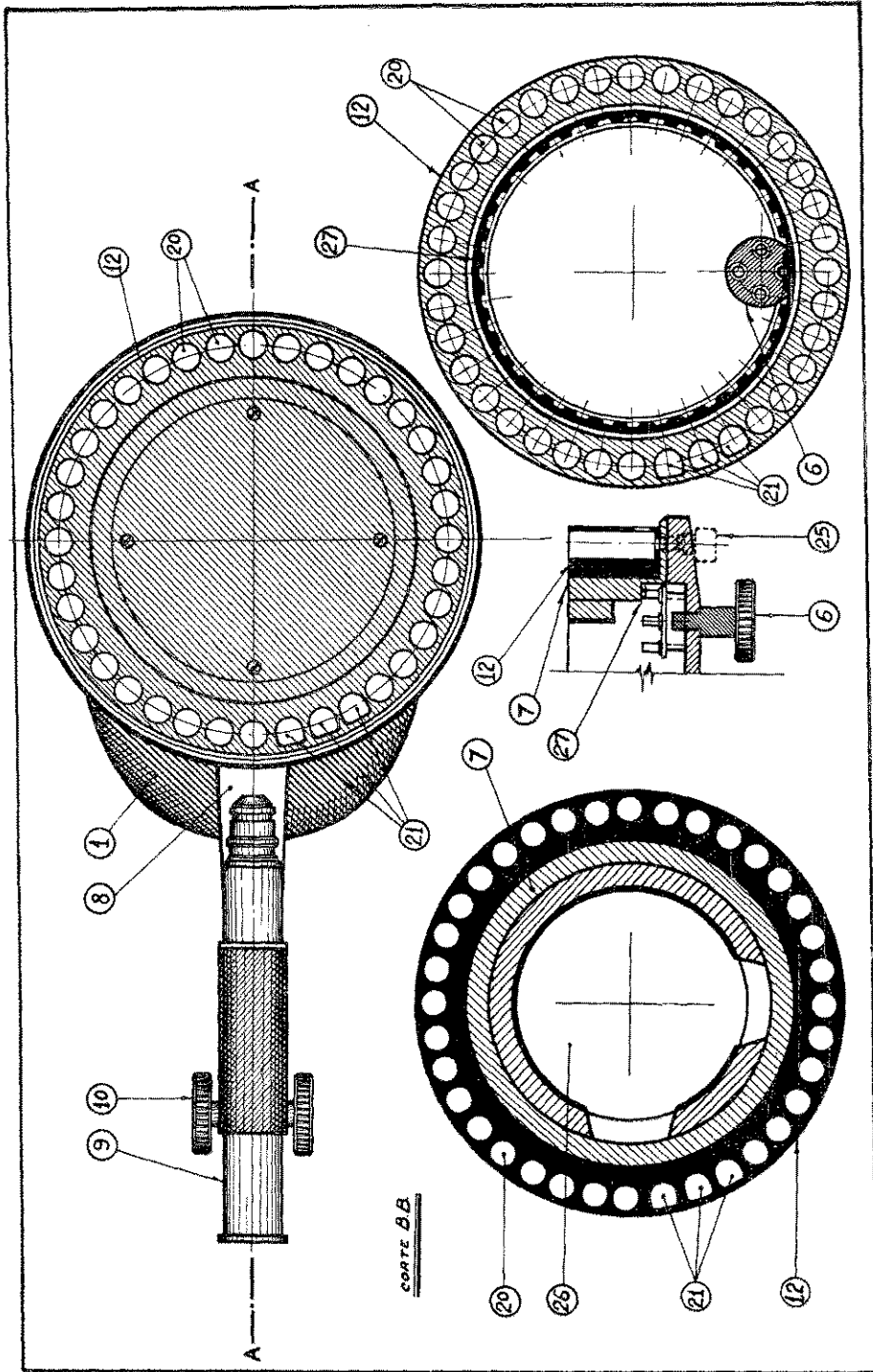


Figura 5

esfera de pressão, produz, com o concurso dos orifícios 14 que aí assumem nova função, as paradas da coroa-suporte nos pontos de coincidência entre o eixo do tubo microscópico e o centro dos orifícios visores 13.

FUNCIONAMENTO DO APARÉLHO — MICROFLUIDOSCOPIA

Sentado à mesa, tendo à frente o aparelho provido dos tubos ou de outros recipientes adequados com material a examinar, o laboratorista regula a altura conveniente do tubo microscópico, deslocando o dispositivo móvel da coluna-suporte, que será fixado por intermédio de seu respectivo parafuso (5).

Ligada a chave interruptora de corrente (4), a intensidade luminosa é acertada através o parafuso do reostato (3); movimentando, cuidadosamente, a alavanca (11) do espelho refletor, o feixe luminoso é dirigido ao plano mais adequado do campo fluidoscópico. A focalização é, em seguida, reajustada por meio do parafuso da cremalheira (10), da alavanca (11), do espelho e do parafuso do reostato (3).

Com os cotovelos apoiados sobre a mesa, tendo, na mão direita, o parafuso de rotação da coroa-suporte (6) e, na mão esquerda, o parafuso da cremalheira do microscópio (10), o laboratorista realizará os exames, seguidamente, um após outro, imprimindo movimento de rotação à coroa-suporte para a direita ou, quando necessário, para a esquerda.

Durante os exames, o observador deverá habituar-se, de preferência, ao uso do olho esquerdo.

A posição horizontal, à altura dos olhos, do tubo microfluidoscópico provido de ocular e de objetiva adequadas à natureza de cada exame, oferece posição confortável ao operador, que terá à mão, em situação cômoda para os braços, que são mantidos sobre a mesa, todos os elementos de controle do aparelho — parafuso da cremalheira, reostato, alavanca reguladora do espelho refletor e parafuso controlador do movimento de rotação da coroa-suporte.

Caracterizando-se a microfluidoscopia pelo exame em câmara escura de substâncias líquidas, a situação do aparelho no laboratório deverá ser cuidadosamente observada, de maneira a torná-lo abrigado, quanto possível, da influência dos reflexos luminosos muito vivos. Essa é uma das condições necessárias à clareza das leituras, que seriam prejudicadas pela luminosidade ambiente refletida à câmara escura, por intermédio da parte externa dos tubos.

A iluminação do campo microfluidoscópico é outra circunstância a ser observada com cuidado. A fim de que as leituras sejam praticadas em

boas condições, o analista deverá, nas diversas fases do exame, fazer incidir o feixe luminoso, convenientemente dosado pelo reostato, ora diretamente no sentido do plano focalizado, ora de maneira tanto ou quanto indireta, a fim de tornar-se possível a observação e o estudo da estrutura e da natureza dos elementos em jôgo. A alavanca do espelho refletor, cuidadosa e convenientemente manobrada, permite ao observador controlar, à sua vontade, a direção do feixe luminoso. Deve-se ter sempre em mente que o sucesso nas conclusões depende, particularmente, da perfeita iluminação do campo microfluidoscópico.

É necessário lembrar-se, todavia, que o campo fluidoscópico é tanto mais iluminado quanto maior for o número de elementos existentes em suspensão no fluido, a ponto de se tornar impossível a focalização quando a sua limpidez se apresentar perfeita, pois que, nesse caso, a câmara se mostra isenta de iluminação e, portanto, absolutamente negra.

O uso continuado do aparelho dará ao estudioso, em pouco tempo, o necessário desembaraço, permitindo-lhe diferenciar, com segurança, os diversos elementos, como ocorre na reação de Kahn, por exemplo, onde poderão ser afastadas as falsas interpretações decorrentes das eventuais floculações de fibrina ou da falta de homogeneidade do antígeno.

Entretanto, para se obter condições mais satisfatórias de exame, torna-se necessário lançar mão, em determinados casos, de ligeiros artifícios de técnica. É o que acontece quando a turvação do fluido se apresentar muito intensa, criando, dessa forma, obstáculo à livre passagem do feixe luminoso. Ou, então, quando os meniscos da superfície do fluido se localizarem à altura do centro do campo fluidoscópico, em virtude de seu reduzido volume, produzindo, nesse ponto, a convergência dos raios luminosos e a conseqüente reflexão na vista do observador. Em ambos os casos, aconselhamos juntar pequeno volume de solução fisiológica, a fim de afastar os inconvenientes apontados. A nossa experiência nos tem ensinado que êsse recurso de técnica não apresenta inconveniente algum, como temos observado, freqüentemente, nos casos levemente positivos ou negativos das reações de aglutinação e de floculação.

Relativamente ao jôgo ótico, a sua escolha está naturalmente condicionada à natureza do fluido a ser examinado. Nas leituras de floculações, aglutinações, partículas, turvações, etc., a ampliação não deverá ir além de 10 a 12 diâmetros, como no contrôlo da limpidez de produtos injetáveis, da leitura da reação de Kahn, das floculações e aglutinações em geral.

Ampliações maiores — 200 diâmetros — poderão ser utilizadas em casos especiais, a exemplo da aglutinação de hemácias para fins diversos, devendo-se, nesses casos, serem usados tubos especiais de faces planas, a fim de evitar-se aberrações e deformações de imagens, dada a pequena dis-

tância frontal necessária às ampliações desses tipos. O Microfluidoscópio dispõe de 3 câmaras escuras destinadas, especialmente, a receberem esses tubos, que são imobilizados contra a parede anterior da câmara escura por intermédio de molas adequadas.

RESUMO

O autor apresenta, neste trabalho, um novo processo de leitura e respectivo aparelho, para a reação de Kahn e para análises ou exames de floculações, aglutinações, partículas, turvações e opalescências em soros, reações, suspensões, emulsões ou em fluidos líquidos em geral, em virtude de lhe parecerem falhos e imprecisos os atuais processos.

SUMMARY

The author presents, in this paper, a new process and respective apparatus for reading the Khan reaction and for analysis or reading flocculations, agglutinations, particles, turbidities and opalescences in sera, reactions, suspensions, emulsions or in liquids in general, because the processes actually in use do not prove to be satisfactory.

É de nosso dever deixar registados, no presente trabalho, os nossos agradecimentos à firma D. F. Vasconcellos, essa esplêndida organização especializada, nesta praça, na fabricação de aparelhos óticos e que constituiu, sem favor, uma das glórias da indústria paulista.

Graças à cooperação de seu presidente, Sr. Dr. Décio F. Vasconcellos, e à boa vontade e competência de seu diretor técnico, Sr. Dr. Oscar Sodi, e de seu escolhido corpo de auxiliares técnicos, pudemos tornar possível a demonstração prática de nossa idéia, através o prototipo do fluidoscópio ali fabricado e cujas características de acabamento, como se pode verificar facilmente, superam, por vèzes, a aparelhos óticos das melhores procedências estrangeiras.

Ao Sr. Eugênio C. Lima, sub-chefe da sub-seccção de desenho deste Instituto, e à D. Emília A. Almeida, desenhista da mesma sub-seccção, os nossos agradecimentos pelos desenhos que ilustram o presente trabalho.

ALGUNS ASPECTOS DO CAMPO MICROFLUIDOSCÓPICO
SOME ASPECTS OF THE MICROFLUIDOSCOPIC FIELD

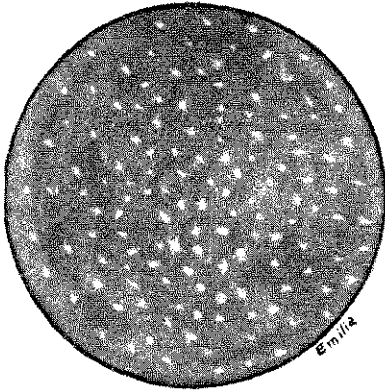


Figura 6 — Reação de Khan forte-
mente positiva.

Figure 6 — Khan reaction highly
positive.

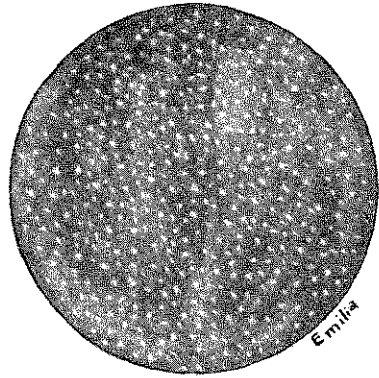


Figura 7 — Reação de Khan media-
namente positiva.

Figure 7 — Khan reaction of medium
positivity.

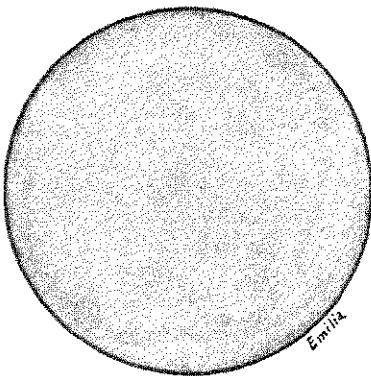


Figura 8 — Reação de Khan leve-
mente positiva.

Figure 8 — Khan reaction slightly
positive.

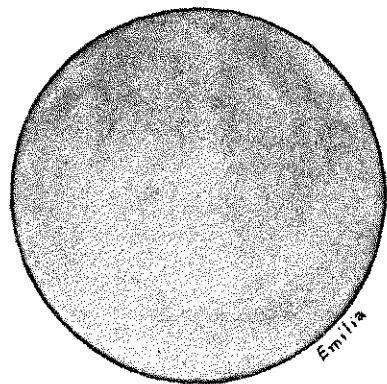


Figura 9 — Reação de Khan
negativa.

Figure 9 — Khan reaction negative.

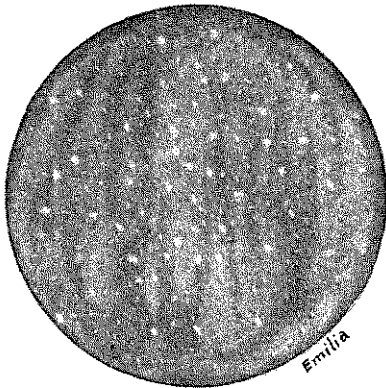


Figura 10 — Reação VDLR forte-
mente positiva.

Figure 10 — VDRL reaction highly
positive.

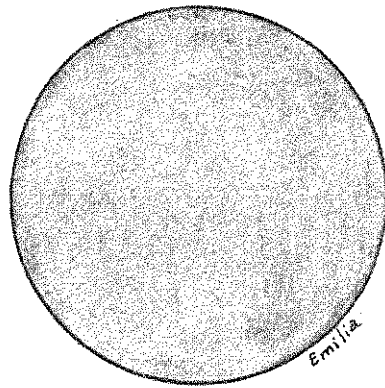


Figura 11 — Reação VDLR leve-
mente positiva.

Figure 11 — VDRL reaction slightly
positive.

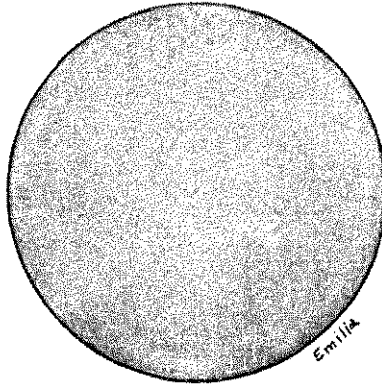


Figura 12 — Reação VDLR negativa.

Figure 12 — VDRL negative.

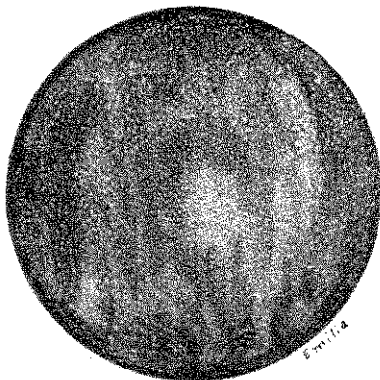


Figura 13 — Reação de Widal leve-
mente positiva.

Figure 13 — Widal reaction slightly
positive.

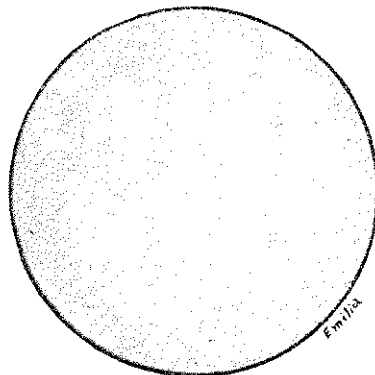


Figura 14 — Reação de Widal
negativa.

Figure 14 — Widal reaction negative.

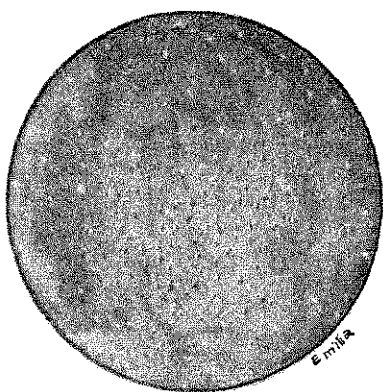


Figura 15 — Aglutinação de hemácias.
Figure 15 --- Agglutinations of he-
matias.

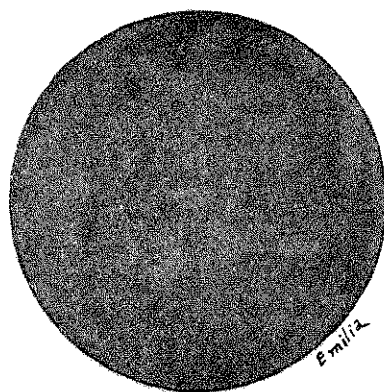


Figura 16 --- Hemácias em suspensão
não aglutinadas.
Figure 16 — Hematias in suspension
not agglutinated.



Figura 17 — Produto injetável de
má filtração.
Figure 17 --- Injectable product of
bad filtration.

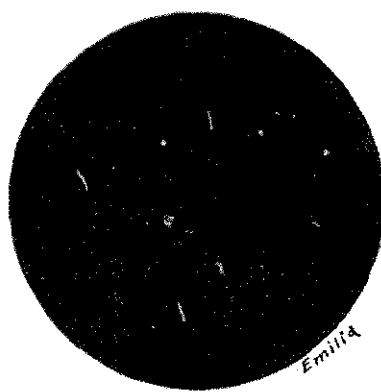


Figura 18 — Produto injetável de
filtração aceitável.
Figure 18 — Injectable product of
acceptable filtration.

NEW PROCEDURE AND APPARATUS — MICROFLUIDOSCOPE
— FOR READING THE KAHN REACTION AND FOR ANALYSIS
OR READING FLOCCULATIONS, AGGLUTINATIONS, PARTICLES,
TURBIDITIES AND OPALESCENCES IN SERA, REACTIONS,
SOLUTIONS, SUSPENSIONS, EMULSIONS OR LIQUID
SUBSTANCES IN GENERAL.

This work is a result of my efforts to develop a more efficient and up-to-date process for reading the Kahn reaction (diagnostic serum for syphilis) inasmuch as I feel that the methods used nowadays for interpreting this famous reaction — now in use in the majority of private and public clinical laboratories all over the world — are awkward, tiresome and unreliable.

As is well known, the Kahn reaction is characterized by a flocculent manifestation in the serum, which is quantitatively proportional to its degree of positivity. In serum where the flocculence is intense, the reading of the results offers few difficulties even with the naked eye, providing that the analyst, when taking the reading, lets the right beam of light fall on the tube and holds it in such a way as to eliminate, as much as possible, the sharp reaction responsible for the darkshadow phenomenon which frequently impedes the taking of an accurate reading.

In the case, however, of weak or doubtful flocculence an accurate reading becomes relatively difficult due to the hazy indistinct aspect of the floccules, the visibility of which is very often obscured by the factors mentioned above.

It seems obvious that with the help of common means of magnification, as for instance an adequate type of lens, the problem could be definitely solved. However, this does not always happen, and how to obtain an accurate reading of the Kahn reaction continues to be a serious problem of clinical laboratories, due, I repeat, to the inadequacy of present methods; and also to a combination of other factors such as, for instance, to eye fatigue or defective vision on the part of observer, all which factors separately or in combination contribute to the lack of uniformity in the interpretation of the results.

It is easy to see how, in busy laboratories everewhere, where hundreds of reactions are taken daily — such as Public Health and Social Assistance laboratories — the analyst is under such an excessive visual strain that deficiencies easily result; and these facts are more valid in cases where the reaction is doubtful or only faintly positive, as mentioned above. In these cases the reading is subject to contradiction if more than one person performs it. One of the contributing factors to the failure is the antigen, which becomes slightly heterogeneous, thus hiding the peculiar aspect of the negative result.

The usual Reading Procedure are as follow :

a) CONCAVE MIRROR PROCESS. — This process involves a slight amplification of images by putting the tube next to a concave reflecting mirror. The reading is taken by changing the position of the elements in the set with mutual reference to one another and to a natural or artificial source of light.

b) READING BY DIRECT NATURAL OR ARTIFICIAL LIGHT, WITH A LENS. — This is the method most commonly used in clinical laboratories and consists of the following procedure: the analyst, who is in front of a window or source of artificial light, with one hand raises the tube containing the reaction to the level of one of his eyes, at the same time holding a lens between the latter and the tube with the other hand, in such a way as to obtain most accurate reading (Figure 1-AB). Since this procedure must be repeated for each unit axamined, the fatigue involved in the continuous reading of a large number of reactions becomes very great.

Hoping to avoid all above-mentioned shortcomings, I tried to find a more practical and reliable way of taking readings. I now have the pleasure of submitting it to my esteemed colleagues for their approval of the results of my persistent and enthusiastic efforts.

In the type of apparatus that I developed, the reading is taken by indirect artificial light in a dark chamber. Besides comfort of position, the method offers the operator an absolute control of the reading, which can be prolonged continuously without the disadvantages and shortcomings inherent to the usual methods mentioned above.

Figure 1-C shows the positon of the analyst while taking readings. The removable supporting-ring permits uninterrupted readings by the use of spare units that a laboratory assistent may easily have on hand after preparing then for use.

Professor Kahn, in his recent visit to the Microbiological Department of our Medical School, was very complimentary and enthusiastic in his remarks regarding the simplicity and accuracy of my method of reading his reaction, always under ideal conditions of illumination.

By way of pointing out the advantages of viewing with indirect lighting, let me consider, for example, an object placed between the observer's eye and any source of light. Under these conditions it is impossible to check the essential characteristics of said object inasmuch as he can only see the silhouette of it. It is different, however, when the light strikes the object laterally: in this case it can be examined in complete detail.

Now, if we make the same experiment in a totally dark room where there enters a narrow streak of light, putting an orange, for instance, in front of the light, we will notice in the first case that the orange will appear only as a dark disk with illuminated periphery. In the second case we will see in front of us one fourth completely illuminated and another fourth, less intensely illuminated by reflected rays.

It will be easy for the observer to analyze in detail the characteristics of the orange, above all, getting a clear impression of its spherical shape. This is the type of result that our microfluidoscope's dark chamber produces.

Figure 1-D illustrates the initial experiments I have made, which led to the theoretical solution for obtaining perfect illumination of the floccules in Kahn's reaction: the light source "a" is placed beneath the extremity of the microscopic tube "e"; it emits rays which, reflecting in the mirror "c" after having passed through a condenser "b" illuminates the whole mass of fluid "d"; the eye of the observer receives, through the microscopic tube, the visual image of the floccules adequately enlarged and neatly standing out against the back black-ground.

Figures 1-EFG illustrate the difficulties encountered in examining floccules by direct light. In figure 1-E, the light source "a" projects its rays directly into the fluid "b", producing a blurring of the objects, which becomes practically invisible. Besides, the filament of light "a" is projected directly into the observer's eye, rendering accurate observation impossible. Figure 1-F illustrates a similar experiment made by using the color filter "d" placed between the light source "a" and the element "b", where the results are essentially identical to those outlined in figure 1-E. Figure 1-G shows still the same experiment performed with a white lackluster filter placed between the light source "a" and the fluid "b" under examination. In this case, the field becomes softer and it is possible to distinguish the images of fine rose-colored striations, probably due to the condensation of the light rays in this region of the image.

However, as the title of this work indicates, the use of indirect lighting in a dark chamber is not limited to reading the Kahn reaction. Its use is more generalized in the work of clinical laboratories where I may point out a great number of cases of flocculence, agglutination and turbidity among other cases of this nature.

In the food and drug industry the use of the dark chamber and indirect lighting would be indicated for checking the limpidity of liquids such as drinking water and drinks in general.

But its real importance is shown when it is applied to the pharmaceutical industry, where the filtration of products for injection is the constant worry of the experts. Checking a great number of products for injection with the help of the Microfluidoscope, I was able to explain the origin of the somewhat intense and persistent penetration process, stiffness of tissues and even aseptic suppuration. These phenomena are seen everyday in clinical routine, in patients that suffer injection on the gluteal and deltoid regions.

The technical departements of laboratories could be accused of being careless or negligent; but it is not the case. The lack of better methods of control is responsible for the empirical procedures established in the industry. I trust that the technicians will not hesitate in adopting a better method, and in improving it more and more, so as to honor the pharmaceutical industry. In this branch of industry, the microfluidoscopy has other application besides control of limpidity; it is useful if pyrogens are investigate (Tyndall effect) and so it is when solution are checked as to their stability.

It is impossible to predict all the possible applications of microfluidoscopy on the fields of scientific research. I believe it can fill a great gap at the time when Civilisation is just achieving undreamed development in technical fields.

THE EQUIPMENT — FIGURES 2, 3 4 and 5

THE EQUIPMENT IN PROFILE — FIGURE 3. Number 1, base; 2, supporting column; 3, screw of rheostat that controls the intensity of the light source; 4, switch for the electric current; 5, screw that keeps the supporting-column in the desired height; 6, screw that turns the supporting-ring; 7, chamber of illumination, where are the source of light and the implements of the illuminating set; 8, holder for the microscopic tube; 9, microscopic with removable ocular and objective; 10, screw of the cog-wheel of the microscope; 11, lever that moves the reflecting mirror; 12, supporting-ring where the dark chamber are; 13, external opening to the dark chamber; 22, electric wire for plug.

LONGITUDINAL SECTION — FIGURE 4. — 13, external opening to the dark chamber; 14, opening which lets the rays penetrate the dark chamber; 15, parabolic reflecting mirror; 16, source of light; 17, lenses for condensation; 18, reflecting mirror; 19, dark chamber; 23, transformer of the electric current; 34, wires connecting the source of light with the transformer.

THE INSTRUMENT SEEN FROM ABOVE — FIGURE 5. — 20, opening in the dark chamber to hold tubes or other receptacles of transparent substance with a circular section of 12 mm; however these tubes can be of other diameters, in spare supporting-ring; 21, three openings in the dark chamber for flat-wall tubes.

ROTATOR OF THE SUPPORTING-RING — The screw 6 being turned to left or to right produces a rotation of the element 7, and as a consequence, of the supporting-ring 12 also, for there is a continuous dovetailing of the four pins existing in the upper part of the screw 6 with the cog-wheel, which has furrows in its internal wall, bottom edge of the element 7; on the other hand, the screw which has in its upper end a small sphere produces (together with the holes 14 now used in a different way) the stopping of the supporting-ring at the coincident points between the microscopic tube and the middle of the holes 13 for looking in.

OPERATION OF EQUIPMENT — MICROFLUIDOSCOPY

Seating by the table, having the equipment in front of him, with tubes or other adequate receptacles in which there is the matter to be tested, the analyst keeps the microscopic tube to the desired level by handling the movable device of the supporting-column, which will be fastened by the screw 5.

After turning the switch 4, the intensity of the light is regulated by turning the screw of the rheostat 3; handling the lever 11 of the reflecting mirror 18 very carefully, the beam of light is driven to the point of the microfluidoscopic field that is most suitable. The focalisation is then verified by turning the screw of the cog-wheel 10, the lever of the mirror 11 and the screw of the rheostat 3.

Placing his elbows upon the table, having the screw which turns the supporting-ring 6 in his right hand, the screw of the cog-wheel 10 in his left, the analyst will perform many readings without interruptions, only turning the supporting-ring to the right, or to the left if necessary.

While operating, the observer must try to use the left eye.

The tube of the Microfluidoscope (to which is attached the ocular and objective varying with the nature of each test) being placed horizontally at the level of the observer's eye, can be easily handled. The analyst, who is comfortably seated, will put his elbows upon the table, so as to have at arm's length all the necessary means of control: screw of the cog-wheel, movable lever of the mirror, rheostat and screw that turns the supporting-ring.

Considering that microfluidoscopy is characterized by the examination of liquid matter in a dark chamber, a right position should be provided for the equipment, for it must be protected, as much as possible, from intense beams of light; otherwise the light should be reflected into the dark chamber through external walls of the tube.

The lighting of the microfluidoscopic field must be carefully watched. In order to make a successful reading, the analyst should drive the beam of light (properly regulated by the rheostat) sometimes directly and sometimes indirectly upon the ideal point of the fluid to be tested. By doing so, he can observe the structure of the elements, which does not show when intensely lighted. The lever of the mirror when handled by the analyst will drive the beam of light to any chosen point. It is important to provide the adequate lighting of the microfluidoscopic field if a good diagnosis is wanted.

We must not forget, however, that the microscopic field is better illuminated when there is a great number of elements in suspension; sometimes, when the fluid is absolutely limoid, the dark chamber remains in complete darkness.

The constant use of this equipment will give the analyst a great skill, so as to let him recognize at once the structure and nature of the material dealt with. This happens with the Kahn reaction, where the false interpretation due eventually to fibrine flocculence or lack of homogeneity of the antigen are entirely removed. In some occasions, it is necessary to make use of little technical tricks, as for instance when the turbidity of the fluid is too great and does not allow the light to pass through it. Under this circumstance, a little physiological solution must be added. This has proved successfully in a long period of practice.

In order cases the menisci on the upper part of the fluid reach the center of the microfluidoscopical field, thus bringing some difficulties, since there is convergence and reflection of rays precisely in that point. This happens whenever the quantity of the fluid is too small. It is wise to double the volume or add some physiological solution.

I have learned from constant practice that this little technical trick brings no inconvenience, specially in negative or slightly positive results of flocculence reactions.

Each kind of fluid to be tested will demand a different optical set, adequate to its nature: when taking the reading of flocculence, agglutination, particles, turbidity, etc., the magnification should not be larger than 10 diameters, as when reading Kahn reaction and serum-agglutinations.

Larger magnifications — 200 diameters — are indicated in special cases, as for instance the agglutination of red corpuscles. But, in this case, tubes with flat walls will be used in order to avoid distortions or disfigurement of the images, caused by the closeness of the objective to the observer's eye and to the inadequacy of tubes with round walls. The Microfluidoscope has three special chambers to be used in tests of the type described above.

A set of springs fastens the tubes to the front wall where they are kept still.

Figures 6 to 18 show some aspects of the microfluidoscopic field.

