

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias Médicas

Conceptos Modernos de Serología

Censo Serológico de la Población de Lívingston

TESIS

presentada a la Junta Directiva de la Facultad

de Ciencias Médicas de la Universidad de San

Carlos de Guatemala por

JOHN ARTHUR RENEAU

Ex-Practicante de los siguientes Servicios del Hospital General:
1^o Cirugía de Hombres, Sección "B", Medicina de Hombres, 1^o Sala,
Traumatología de Mujeres, 1^o Sala de Medicina de Mujeres; Ex-
interno de la Sala de Cirugía de Niños, Ex-Interno de la Sala Cuna
Nº 2, Ex-Practicante de la Consulta Externa, Ex-Practicante de la
Sala de Urología, Ex-Practicante de la Sala de Ginecología del
Hospital San José, Ex-Interno de la Sala de Maternidad del Hos-
pital de Amatitlán, Ex-Interno de los Servicios de Hombres del
Hospital de Amatitlán.

en el acto de su investidura de

MEDICO Y CIRUJANO.



GUATEMALA, AGOSTO DE 1956.

INTRODUCCION

Uno de los problemas más serios que encuentra el Médico no especializado en el campo de la Sifilología, es la interpretación y la evaluación de los exámenes serológicos. A veces se acepta un resultado positivo del examen serológico como único criterio para el diagnóstico de la Sífilis, sin embargo, en la mayoría de los pacientes observados es necesario comprender y evaluar correctamente los informes de exámenes de sangre para confirmar o descartar la posibilidad de la enfermedad.

El examen de sangre cuantitativo unido a los tratamientos antisifilíticos rápidos e intensivos, ha creado una serie de problemas nuevos y serios para el médico general, como son: interpretación de exámenes dudosos, más bien, de resultados dudosos; resultados positivos falsos en pacientes sin historia clínica ni evidencia de Sífilis.

Por otro lado, si los resultados de los controles serológicos cuantitativos constituyen un buen guía en lo que se refiere al diagnóstico de la Sífilis, es muy necesario que los exámenes sean hechos en laboratorios responsables y de conocido prestigio y que el resultado de estos exámenes sean interpretados correctamente; por lo consiguiente es necesario que el Médico se familiarice y conozca bien los procedimientos generales hoy en uso.

Este pequeño trabajo lleva el fin de tratar de hacer más fácil y menos confuso la interpretación de dichos exámenes. Fue hecho en la pequeña población de Livingston, bajo los auspicios de los Doctores Juan M. Funes y Abel

Paredes Luna, ambos bien conocidos por su experiencia en esta materia y a quienes les extiendo mis sinceros agradecimientos. En él se describen las técnicas más usadas en los exámenes de la sangre, para que así, el médico general posea una fuente de información en la selección de un buen laboratorio en la interpretación correcta de los resultados que éste le dé.

PRIMERA PARTE

Anteriormente y en la actualidad, cuando se trata del problema de la Sífilis, el principal objetivo sanitario consiste en la búsqueda de los casos infectados y en el uso extensivo del "Diagnóstico Serológico", factor que ha contribuido, en gran parte, para el hallazgo de dichos casos. Para lograr del Médico General su mejor contribución en esa campaña, se debe tener en mente los puntos siguientes:

- 1º—Que bajo condiciones clínicas apropiadas, el Médico no debe omitir la Sífilis como una posibilidad de diagnóstico, por sólo el hecho de que su enfermo pertenece a una clase social "alta y de familia decente".
- 2º—Que aunque el diagnóstico diferencial de la Sífilis es difícil aún para el experto, éste puede facilitarse si el médico general aprende a conocer los puntos básicos relativamente simples y a utilizarlos como signos "dudosos". En presencia de cualquiera de ellos debe de sospechar la enfermedad.
- 3º—Que los exámenes serológicos modernos son 95% eficientes para poder establecer un diagnóstico.

Teniendo estos tres factores en mente, el papel del médico es muy importante cuando se trata de enfermos con lesiones sospechosas de Sífilis y la solicitud de exámenes serológicos ha sido adaptada en forma rutinaria en grandes grupos y en forma de campaña sanitaria. Actualmente esta medida es ley y se ha vuelto una obligación la práctica rutinaria del examen serológico pre-nupcial y pre-natal.

Como consecuencia de estos "exámenes en masa y en forma rutinaria", el Médico General se ha encontrado con múltiples problemas nuevos. Cómo interpretaría él un re-

sultado positivo en una persona aparentemente sana, o en aquélla que sufre una enfermedad no sifilítica ni tiene historia clínica sugestiva de Sífilis? Es precisamente para ayudar a resolver este problema y otros similares que se escribe este pequeño trabajo.

SEROLOGIA

CONCEPTOS MODERNOS

Interpretación de los Exámenes de Laboratorio

Se puede afirmar que el examen serológico para el diagnóstico y control de la Sífilis (abreviado ESS), es 95% eficiente; en el 5% restante se incluyen los exámenes serológicos de resultado falso en los cuales se encuentran: 1.— Los exámenes serológicos negativos de personas sifilíticas no tratadas; y 2.—En mayor escala y constituyendo verdaderas confusiones, se encuentran los exámenes serológicos positivos falsos causados por enfermedades de otra etiología. Para resolver estos problemas, describo a continuación qué es *serología* y cómo interpretar los exámenes serológicos.

HISTORIA

Mientras que los intentos clínicos para determinar la naturaleza de la infección antecedieron a los descubrimientos serológicos, el desarrollo por Wassermann de la reacción que lleva su nombre hizo posible el principio de estudios dirigidos, tanto al diagnóstico de la enfermedad como a la determinación de los progresos del paciente y su posible curación, así como estudios para dilucidar el mecanismo de la inmunidad y la respuesta también a la infección.

Wassermann, Neisser y Bruck creyeron que la reacción de fijación del complemento era puramente una reacción antígeno-anticuerpo. Pero el descubrimiento que los ex-

tractos alcohólicos de órganos normales podían usarse como antígenos, dieron lugar a dudas sobre la naturaleza específica de la reacción. Desde entonces, se han propuesto varias explicaciones de la naturaleza de la reagina y las pruebas serológicas para la Sífilis.

Lo más obvio ha sido la investigación de la naturaleza antigénica del *T. Pallidum* y de espiroquetas avirulentas morfológicamente similares tales como las cepas de Reiter. Se han demostrado similitudes y diferencias antigénicas comparando el *T. Pallidum* con cepas en cultivo; los experimentos pueden resumirse al decir que el *T. Pallidum* puede contener un mosaico de antígenos como acontece, por ejemplo, con las *Salmonellas*. Los estudios con espiroquetas en cultivo perseguían la finalidad de asegurar un antígeno que pudiese ser más específico que los antígenos lipídicos tisulares; debe señalarse, sin embargo, que ninguno de los antígenos de espiroquetas en cultivo ha entrado en uso general a las pruebas convencionales para la Sífilis.

Los éxitos más recientes resultantes de la habilidad para preparar el *T. Pallidum* para uso puramente antigénico y las pruebas serológicas se discutirán más tarde.

La investigación de la naturaleza de la substancia reactiva en los extractos tisulares como se usan en la reacción de Wasserman condujeron finalmente al aislamiento, por Pangborn, de la *Cardiolipina*, un fosfolípido activo únicamente en combinación con la lecitina. Se han encontrado, substancias similares a la *Cardiolipina* en muchos vegetales y se han preparado antígenos derivados del embrión del trigo y de la soja. En general, se han encontrado que los antígenos de *cardiolipina*, colesterol y lecitina, son mucho más específicos que los extractos lipídicos tisulares crudos. Dan menos resultados positivos falsos cuando se les prepara de manera que posean una sensibilidad igual a la de un antígeno lipídico comparable. Los componentes *cardiolipina* y *lecitina* deben ser siempre ensayados, tanto química y serológicamente para asegurarse de su

pureza y reactividad antes de ser usados en los antígenos a la Cardiolipina para la prueba serológica.

En el transcurso de los años que llevaron al aislamiento final de la Cardiolipina, la prueba serológica basada, ya sobre el principio de Wassermann de la fijación del complemento o ya sobre la floculación, fue objeto de estudio intensivo, tanto teórico como práctico. El objeto original era desarrollar una prueba que fuese lo suficientemente sensitiva para descubrir evidencias de la infección tanto temprano como tardíamente en la Sífilis y no reactiva en los estados no sifilíticos.

REACCION ANTIGENO-ANTICUERPO

Cuando el organismo humano es sometido al estímulo antigénico, por ejemplo: una infección bacteriana o la inyección de proteínas extrañas, elabora anticuerpos específicos que actúan directamente contra el antígeno inyectado. Estos anticuerpos son reconocidos en el suero sanguíneo por medio de: 1.—Reacción de fijación del complemento, la cual con un procedimiento de laboratorio demuestra la existencia o no del anticuerpo por medio de la presencia o ausencia de hemólisis de los glóbulos rojos, que en este examen se utilizan como indicador; 2.—Reacción de floculación, en la que el suero de la sangre que se va a estudiar, se mezcla con un antígeno testigo y los resultados se leen en términos de presencia o ausencia de floculados o precipitinas de dicha mezcla. Por lo menos dos son los anticuerpos elaborados en un organismo humano infectado por Sífilis al cabo de cierto lapso.

Anticuerpos Específicos contra el Treponema Pallidum

Pueden medirse por dos métodos, directo e indirecto.

Método directo: difícil y laborioso porque no se ha podido cultivar el Treponema Pallidum. Se ha demostrado experimentalmente por la prueba de protección —in

vivo— en animales, o por la prueba de inmovilización de los treponemas, al microscopio, por el fenómeno de inmovilización cuando se mezclan con suero sanguíneo de enfermo sifilítico. El método directo para demostrar la presencia de anticuerpos específicos de acción treponemicida, está aún en la fase experimental y no puede usarse en la práctica diaria.

Al mismo tiempo que se presentan los anticuerpos específicos de acción treponemicida se desarrollan también otros anticuerpos no específicos pero que sí reaccionan en presencia de antígenos preparados de extractos etéreos o alcohólicos (lipoides), obtenidos de diferentes tejidos animales o plantas. De ellos, el más adecuado para la preparación de dicho antígeno es el corazón de buey y el anticuerpo no específico que elabora el organismo infectado, se denomina "*reagina*", siendo éste el buscado en todos los exámenes de laboratorio que actualmente se usan en el diagnóstico de la Sífilis.

Naturaleza de la Reagina

Químicamente no ha sido exactamente identificada. Está asociada con la fracción Gamma-Globulina de la sangre; se cree que se elabora localmente en las lesiones sifilíticas y como cualquier otro anticuerpo puede atravesar la barrera placentaria.

Esta reagina se encuentra en pequeña cantidad en la sangre de sujetos normales y no interfiere en el resultado que se obtiene en los exámenes serológicos modernos. Sin embargo en ciertos sujetos, tal vez en 1 de 1,000 ó 1 de 5,000, existe en suficiente cantidad para dar una ESS positiva permanente o pasajera.

Investigación Cualitativa

La presencia o ausencia de la reagina en el suero sanguíneo del enfermo se informa con palabras: positiva, du-

dosa o negativa; con signos: 0-, ++, — o con la combinación de ambos.

Investigación Cuantitativa:

El método más usado y simple consiste en la dilución en serie del suero sanguíneo del paciente usando una serie de tubos, en los cuales la cantidad de antígeno es la misma en todos ellos, pero la cantidad de suero a examinar varía progresivamente del suero total a la dilución de 1:65,536. Esta dilución se lleva a cabo por la transferencia de una cantidad igual de la mezcla a partes iguales del tubo número uno al dos, y así sucesivamente, utilizándose 17 tubos. Si la reacción es positiva solamente en el primer tubo y negativa en los 16 restantes, se dice que el suero contiene sólo una unidad de reagina.

Si es parcialmente positivo en el primer tubo y negativo en los demás, el resultado es dudoso o que el suero posee menos de una unidad de reagina. Si la reacción es positiva en los primeros ocho tubos inclusive y negativa en los demás, el resultado es positivo en 128 unidades. Este es el método más usado y los resultados pueden informarse ya sea en unidades o en términos de dilución: 1:16 ó 16 unidades.

Existen solamente dos métodos en los cuales no se emplea este sistema y son, el método de Kahn y el del laboratorio de salubridad de New York. Kahn utiliza un sistema seriado de dilución más o menos semejante al descrito, pero a la dilución positiva obtenida la multiplica por 4. El otro laboratorio sigue un sistema de titulación muy diferente, pues en él no se cambia la cantidad de suero del enfermo sino que se varía la dosis del complemento de una reacción de fijación del complemento y las unidades o índice usado por este sistema no puede ser comparado con ningún otro método de dilución.

Serología en las Treponemiasis:

En el organismo humano la reagina se produce de igual manera y en igual cantidad, con cualquiera de las distintas afecciones a Treponemas: Sífilis, Bejel y Mal del Pinto. Los exámenes serológicos positivos en estas enfermedades deben considerarse como tales y no como reacciones serológicas positivas falsas.

Velocidad de desarrollo de la Reagina en la Sífilis:

La reagina no se encuentra en el suero sanguíneo durante el período de incubación. Si el sujeto enfermo no recibe ningún tratamiento adecuado, la reagina comienza a encontrarse en el suero en pequeñas cantidades en el momento en que aparece el chancre o cuando éste tiene una semana de duración va aumentando gradualmente con el progreso de la enfermedad y llega a su máximo de concentración en y durante todo el período secundario. Se mantiene a este nivel por algunos meses o años y luego desciende progresivamente a niveles más bajos.

Especificidad contra Sensibilidad de los Exámenes Serológicos:

Ampliando los conceptos anteriores podemos decir que por reajuste de los reactivos en un sistema de Serodiagnóstico de la Sífilis, se puede llegar a desarrollar tal sensibilidad que se obtienen resultados positivos en todos o en la mayoría de los sueros examinados y por consiguiente en todas o en la mayoría de las personas normales examinadas. Por otra parte se puede llegar a insensibilizar dichos reactivos, que se pueden obtener resultados negativos en todos o en la gran mayoría de los enfermos sifilíticos no tratados.

De manera que lo deseado es obtener un método de examen que por una parte sea específico y que dé resultados negativos sólo en personas sanas y por otra, que sea

sensible y dé resultados positivos en todo los enfermos sifilíticos, es decir, que realmente sea específico. Esto no existe y mientras tanto no se encuentre un antígeno verdaderamente específico (cultivo del Treponema Pallidum Virulento), no se podrá asegurar en la positividad real de un examen serológico.

Es esencial que el médico sepa, que tanto la especificidad y sensibilidad de cualquier técnica serológica que se siga, varía ligera o considerablemente cuando ciertos tipos de especímenes son examinados con igual método serológico:

- 1º—En dos laboratorios distintos, en el mismo día; y
- 2º—En el mismo laboratorio en dos días diferentes.

De este modo si un espécimen serológico que contenga una mínima cantidad de reagina es dividido en 12 partes iguales y examinados con igual técnica (Mazzini) en 12 laboratorios distintos, puede dar lugar a resultados positivos en 4 laboratorios, dudosa en otros 4 y negativos en el resto de los demás laboratorios. O, si se envía el mismo espécimen durante 12 días seguidos al mismo laboratorio, éste puede dar resultados contradictorios.

Estos cambios son inherentes a la complicada naturaleza biológica del serodiagnóstico y a numerosos factores técnicos tales como: deterioración de la reagina, ligeras variaciones de dilución de los otros reactivos usados, variaciones en manipuleo de las mezclas de reagina y reactivos. Estos errores son mayores en los métodos de Fijación del Complemento, pero también son apreciables en métodos más sencillos como el de floculación.

TECNICAS SEROLOGICAS

Todos los tipos de exámenes Serológicos descritos en la tabla número uno se *Basan en idéntico fenómeno Físico-Químico y difieren entre sí sólo por pequeños detalles de*

técnica. Cuando bien ejecutados, prácticamente ninguno de ellos posee ventaja sobre los otros.

TABLA N° 1

Tipos de Exámenes Serológicos usados corrientemente.

Tipo de Examen:	Nombre usado:	Observaciones:
Fijación del Complemento	Koímer. Eagle. Departamento de Salubridad del Estado de New York.	
Floculación	Kahn (presuntivo). Kline (de exclusión). Kahn Standard. Kline Standard. Eagle. Mazzini. Hinton. Cualesquiera otra técnica en la que se usa la Cardiolipina.	Técnica Supersensitiva usada como control (Screen Test).

Examen Serológico de Control (Screen Test):

Dos de las técnicas enumeradas en la Tabla N° 1, por ejemplo, el Kahn presuntivo y el Kline de exclusión, son exámenes supersensitivos. Los reactivos usados son preparados para obtener el máximo de sensibilidad. Sin embargo, en cada uno de ellos, la preparación de los reactivos es tan delicada que con facilidad se cae en el error técnico de obtener reacciones positivas falsas (arriba del 5 al 10%), en un buen número de sueros de personas normales. A causa de esta hipersensibilidad numerosos laboratorios, utilizan cualesquiera de ambos métodos como exámenes de control y los usan en todos los especímenes que

reciben. Si el resultado obtenido con ellos es negativo, se presume que será igual con los otros métodos menos sensibles (pruebas estandard) y así es informado el médico. Si el resultado es dudoso o positivo, se repite el examen con los métodos corrientes y el informe será según el resultado que se obtiene con ellos, ya sea que confirmen o no su positividad.

Este procedimiento es el más aceptable y es seguido por la mayoría de los laboratorios en los cuales se examinan varios cientos de muestras al día. Sin embargo, si se sigue este sistema, el informe que se envía al médico debe limitarse exclusivamente a las muestras negativas e informarse así:

“Examen supersensitivo de control: Negativo”.

Eliminando por completo los nombres “Kahn presuntivo” o “Kline de exclusión”.

Los exámenes positivos o dudosos obtenidos con el método supersensitivo de control nunca deben informarse como tales, salvo el caso en que dicho resultado sea confirmado por técnicas corrientes.

Informe del Examen Serológico para el Médico:

Ya que la rutina usual en los exámenes serológicos se basa en los resultados de la calidad y no la cantidad, la forma correcta para informar al Médico, es de usar uno o tres términos diferentes para contestar una sola pregunta; ejemplo: ¿Está presente la Reagina en esta muestra?

En la Tabla N° 2 se aconseja la manera de contestar esta pregunta, el fenómeno observado en el laboratorio y los términos que deben usarse.

TABLA N° 2

Pregunta:	Resultado observado en el Laboratorio: Reacción (Fijación del Complemento o flocculación):	Respuesta a la pregunta original:	Resultado que debe informarse al Médico:
¿Está la Reagina presente en esta Muestra?	Presente y Completa. Presente pero incompleta.	Sí. Este resultado permite así: a) “No estamos seguros”. b) “Sí pero en cantidad mínima”.	Positiva. Dudosa.
	Ausente.	Ausente. “No”.	Negativa.

Los signos positivos (++++) deben abandonarse al informar el resultado del examen serológico. No obstante si estos signos aún se usan, el médico debe saber que: “+++” o 4 cruces se refiere a todos aquellos sueros sanguíneos que en los métodos cualitativos corrientes dan una reacción “completamente” positiva. Desde el punto de vista cualitativo estos signos positivos no dan ninguna información sobre si el suero sanguíneo contiene una sola unidad de reagina o tantas unidades como 23,000.

Una, dos o tres cruces son términos aplicables a una ligera variante de la reacción serológica, se basan en la observación personal y objetiva del resultado de la reacción obtenida en un examen cualitativo corriente, que demuestra la presencia incompleta de la reagina y el resultado será dudoso. En un examen cuantitativo, tales sueros contienen menos que una unidad de dilución de la reagina.

"Cero" significa que el Laboratorio no pudo demostrar la cantidad de reagina en el suero sanguíneo examinado y el resultado será negativo.

Solamente el resultado final del examen y en términos sencillos como: "ESS" (examen serológico para la Sífilis) positivo, dudoso o negativo, según el caso, debe de informarse al médico. Mucha confusión se agrega y nada se gana si el laboratorio informa los resultados individuales y nombre de las técnicas usadas, especialmente si dichos resultados son contradictorios.

Considerando el hecho importante de que ninguna técnica posee ninguna ventaja material sobre la otra, el médico está obligado a considerar el informe del laboratorio como sigue: Positivo, significa que se obtuvo en la cantidad de suero sanguíneo examinado con las técnicas empleadas, una reacción completa con la reagina.

Negativo: significa que en la muestra examinada no se encontró ninguna cantidad de reagina.

Dudoso: significa que los resultados de varias técnicas simultáneamente empleadas en la misma muestra, dieron resultados contradictorios, ejemplo: Kolmer = Negativo, Kahn Standard = Positivo, Mazzini = Dudoso. Un informe así, por lo general se interpreta de dos maneras: 1) que la muestra contiene una pequeña cantidad de reagina, porque una o más de las técnicas empleadas era más sensible que la otra; 2) que el laboratorio no estaba seguro de la exactitud y precisión técnica de su trabajo.

El Informe del Laboratorio no es un Diagnóstico:

El Médico sabe muy bien que cuando el laboratorio informa: "trazas de albúmina" en la orina, 12% de Eosinofilia en la sangre o de glucemia de 130 mgrs. %, el diagnóstico, en el enfermo de quien es la muestra, no padece necesariamente de Nefritis o Diabetes. Tal informe, sólo puede indicar la existencia de un trastorno patológico; es

el trabajo del médico, basado en los datos obtenidos por la historia del enfermo, su examen clínico, resultados de otros exámenes complementarios y la evolución de la enfermedad, lo que determina el diagnóstico correcto.

De igual manera, el informe ESS positivo, dudoso o negativo, es solamente un factor encontrado en el laboratorio y nunca constituye el diagnóstico de la enfermedad que el paciente sufre. Este se confirma después de tomar en consideración la suma de todos los factores clínicos y de laboratorio.

RESULTADOS POSITIVOS FALSOS DE ORIGEN TECNICO:

En los laboratorios más expertos y mejor controlados, muchos factores contribuyen al resultado equivocado de los exámenes de serodiagnóstico. Estos factores varían: de la simple alteración de un resultado con etiqueta de una muestra, del registro equivocado de un resultado con el nombre de otro enfermo, a errores mecánicos o biológicos mucho más complejos en el momento de ejecutar la prueba. En caso de un sorpresivo examen serológico, positivo falso o dudoso, el médico debe de controlar este error por medio de un nuevo examen, sea hecho en el mismo laboratorio o en laboratorio distinto, ya que muchas veces otro laboratorio da un informe positivo, es decir, lo contrario del primer laboratorio. Muestras para un examen de confirmación o de control deben de enviarse no solamente al laboratorio que dio el resultado original, sino que es necesario mandarlas a otros laboratorios de reconocida competencia.

El médico no está autorizado para notificar al enfermo de su hallazgo sino hasta que el examen positivo original y no sospechado se confirme por otros exámenes análogos y aún así, debe ser cauteloso y precavido con relación al significado del diagnóstico.

RESULTADOS POSITIVOS FALSOS DE ORIGEN BIOLOGICO*

En los Estados Unidos de Norteamérica y durante la Segunda Guerra Mundial, se practicaron exámenes serológicos en todo el personal del ejército y de la marina, tanto a su ingreso como cuando se les dio de baja. Durante su licenciamiento se encontró que no menos de 75,000 soldados tenían una reacción serológica positiva falsa, todos ellos presentaron una reacción negativa al ingresar al ejército y no se sabía que ninguno de ellos hubiese adquirido la Sífilis mientras prestaba su servicio militar. ¿Cuántos de estos hombres poseen en la actualidad realmente una infección sifilítica? Estudios de especímenes obtenidos de estos 75,000 soldados demostraron que en menos de la mitad de ellos la explicación adecuada de su sero-positividad era la Sífilis. Por esta simple ilustración, forzosamente es traída a la luz la magnitud del problema de la Reacción Serológica Positiva Falsa de causa Biológica (PFB).

Incidencia del PFB, en personas normales:

Se estima que de 1 persona en 1,000 a 1 en 5,000, la reagina o la substancia análoga a la reagina está presente en el suero sanguíneo en forma temporal o permanente y en cantidad suficiente para producir una reacción positiva falsa con los exámenes de sero-diagnóstico de uso corriente. Supongamos que partimos la diferencia arriba estimada y aceptamos que 1 persona en 3,000 puede dar dicha reacción, aún así la oportunidad para cualquiera de ser catalogado como sifilítico es muy pequeña. Pero considerándolo en masa, en 1.000,000 de casos 350 tendrán una Reacción Positiva Falsa.

A continuación presentamos un cuadro que demuestra la frecuencia del ESS en los casos de Sífilis no tratada.

* Tomado de "Diagnóstico de la Sífilis", por John E. Moore.

TABLA N° 3

Tipo de Sífilis no Tratada:	Incidencia % del ESS:
Primaria.	Depende de la duración de la lesión. Negativa si es menor de 7 días; luego la incidencia aumenta rápidamente hasta la aparición de las lesiones secundarias.
Secundarias	100% (con muy pocas excepciones).
Latente:	
Precoz (con menos de 2 años de duración)	95% a 100%.
Tardía (con más de 2 años de duración)	75% a 100% (aumento gradual de la incidencia).
Tardía Benigna (mucosa, cutánea u ósea)	95% a 98%.
Cardiovascular	80% a 95%.
Neurosífilis:	
Parálisis General	95% a 98%.
Tabes Dorsalis	50% a 70% (Frecuentemente sero-negativa).
Otros Tipos:	
Congénita Precoz	100% (como en la Sífilis adquirida precoz).
Congénita Tardía	85% a 95%.

Incidencia del PFB bajo influencia de otras enfermedades:

A pesar de los datos del cuadro anterior, bien claro, descriptivo y muy interesante, es mucho más importante el hecho de que alrededor del 20% de la población normal es potencialmente activa. Ejemplo: por anomalía existente en el suero sanguíneo (Hipergamma-globulinemia) y bajo la influencia de infecciones no sifilíticas o de cualquier otra naturaleza, el nivel normal de la reagina conte-

nida en él aumenta al grado de producir reacciones serológicas positivas falsas de origen biológico. Se describe en la Tabla N° 4, una lista de enfermedades con una incidencia aproximada y probables reacciones PFB.

Causas comúnmente conocidas que producen reacciones positivas falsas de origen biológico, con serodiagnóstico para la Sífilis. (Véase Tabla N° 4).

TABLA N° 4*

Condiciones:	Incidencia aproxim.:	Comentario:
Personas normales ..	1 en 3,000	
Infecciones a Espiroquetas:		
Fiebre Murina	15 a 25%	Notar el número de infecciones durante o después de las cuales el porcentaje corriente del PFB, es alrededor de 20%.
Fiebre Ondulante ...	20 a 30%	
Enfermedad de Weil	10 a 20%	
A Bacterias:		
Lepra	40 a 60%	En la mayoría de estas infecciones, el PFB persiste solamente durante el periodo agudo, por algunas semanas o si mucho, algunos meses. Se cree pero no se ha probado, que el PFB no es permanentemente positivo o que persiste por algunos años.
T.B.C. Avanzada ...	1 a 3%	
Fiebre Escarlatina ..	2 a 5%	
Neumonía a Neumococo	5%	
A Protozoarios:		
Paludismo Agudo ..	100%	Desgraciadamente aún no se conoce el efecto que produce la infección crónica del Paludismo sobre el PFB.
Paludismo Crónico .	?	

Otras causas y enfermedades que pueden dar una Reacción Positiva Falsa de origen Biológico:

* Tomada de "El diagnóstico de la Sífilis", por John E. Moore.

A Virus:

Neumonía a Virus.
Diferentes Infecciones del tracto respiratorio como son:
Catarro Común.
Infección Respiratoria Superior.
Mononucleosis Infecciosa.
Hepatitis Infecciosa.
Vacuna (Vaccina).
Sarampión.
Parotiditis.
Linfogranuloma Venéreo.

De Etiología Desconocida.
Enfermedades Colágenas (incluyendo Lupus Eritematosos).

Otras Condiciones:

Después de donar Sangre.
Embarazo.
Otras inmunizaciones además de la Vacuna.

En la mayoría de los casos, la reacción PFB se caracteriza por el hecho de que es: 1) bajo el número de Unidades en los exámenes cuantitativos, y 2) su duración es temporal.

Sin embargo, desgraciadamente existe un número importante de personas quienes, sin sufrir de Sífilis, tienen una reacción Falsa Positiva Biológica y que perdura por muchos años. Esto puede ser porque la reversión espontánea hacia la sero-negatividad no se produce, o también (aunque no siempre es necesario) por anomalías de causa serológica, ej.: a) resultados positivos con técnicas de baja sensibilidad, cuando otras más sensibles dan resultados negativos; b) exámenes negativos con el método de fijación del complemento y positivos con el de Floculación; y c) resultados positivos con los métodos usuales y negativos con el antígeno de Cardiolipina.

Usos de los Exámenes Cuantitativos en la Diferenciación entre PFB y Sífilis

Ya hemos hablado del Examen Cuantitativo y su importancia así como lo que es un PFB y su frecuencia en la Serología de la Sífilis. En las líneas que siguen habla-

remos de la importancia de los exámenes cuantitativos para diferenciar la PFB y la Sífilis.

Los exámenes cuantitativos son necesarios y útiles en el control posterior de los resultados del tratamiento de enfermos Sifilíticos, teniendo un valor limitado en el Diagnóstico Diferencial. En la Sífilis, por ejemplo, los exámenes cuantitativos son de título alto especialmente en la forma precoz y en la forma Tardía Activa.

Por otra parte, en la Sífilis el título del examen cuantitativo alto o bajo, no es una medida de la benevolencia o severidad de la infección. Además, por lo general, en personas con PFB los exámenes serológicos cuantitativos son de título bajo.

Exámenes Cuantitativos en Serie:

El Examen Cuantitativo en Serie, obtenido de diferentes muestras tomadas a intervalos de una o dos semanas durante un período de varios meses, es de gran ayuda y puede ser definitivo en la diferenciación de la Reacción Positiva Falsa, de las reacciones sifilíticas.

Si en ausencia de un tratamiento antisifilítico, el título de unidades cae gradualmente en un período de 2 a 6 meses y luego se vuelve definitivamente negativo, es seguro que el enfermo tenía un PFB. Si en igual período el título asciende progresivamente, es probable que sufra la infección sifilítica. Por otra parte, si el número de unidades permanece estacionario por 6 meses, probablemente el paciente tiene sífilis, aunque esta conclusión no puede ser absoluta, ya que el PFB por causas hasta hoy desconocidas, puede persistir inalterable por muchos años.

El uso de las técnicas especiales en la diferenciación entre PFB y Sífilis, data desde el descubrimiento del examen serológico para el diagnóstico de esta última enfermedad; para ello se han seguido dos caminos:

1.—Purificación de los Antígenos;

2.—Identificación de la naturaleza inmuno-química de la reagina y el deseo de determinar si la reagina producida en la infección sifilítica se diferencia cualitativamente de la encontrada en las personas con PFB. Los éxitos obtenidos son discutidos en los párrafos siguientes.

Antígenos de la Cardiolipina.

La Cardiolipina es probablemente una substancia química pura, preparada de un extracto alcohólico del corazón de buey Pangborn y sus asociados. Se considera que este extracto posee la mayor actividad serológica de los otros extractos del corazón de buey y que tanto su especificidad y sensibilidad se han mejorado por la eliminación en el antígeno, de las impurezas que caracterizan a los antígenos corrientemente usados. (Kahn, Kline, Eagle, etc.).

Sin embargo, éste es un antígeno no específico y por lo cual sólo descubre la reagina no específica producida en la Sífilis y probablemente no mide los anticuerpos formados por el propio Treponema.

En la práctica diaria la Cardiolipina es fortificada con lecitina y colesterol y la proporción final de dichas substancias en ella es ajustada de tal manera, que es a la vez específico y sensitivo; ejemplo: que se obtenga un aumento o disminución de resultados positivos falsos en personas normales, o de verdaderas reacciones positivas en casos de Sífilis.

Este antígeno puede ser usado en métodos de fijación del complemento y en macro o micro métodos de flocculación. Sin embargo, aún no se ha logrado determinar: 1.—Qué clase de técnica es la más adaptable para el nuevo antígeno; y 2.—Cuál es la concentración óptima de Cardiolipina, Lecitina y Colesterol para los exámenes de sangre y del Líquido Céfalo Raquídeo; adaptando cada serólogo

logo la Cardiolipina a su propia técnica y existiendo por lo tanto un desacuerdo en opiniones sobre la concentración óptima de los reactivos.

A pesar de todo esto y de las diferencias y variaciones en condiciones en que se usa actualmente, es cierto que este antígeno puede ajustarse a los otros reactivos en tal forma, que es más específico y más sensitivo, que las técnicas corrientemente usadas, o de aquellas en que se usan otros antígenos de corazón de buey menos puros.

Por otra parte, en la Sífilis el antígeno de Cardiolipina debe ajustarse para que sea más fuertemente positivo en el examen cuantitativo, que los demás antígenos. En la práctica, por lo menos, siempre es así y en términos de diluciones de unidades, la titulación de la Cardiolipina debe ser de dos a ocho veces más alta que con los exámenes corrientes. De este modo, uno encuentra tales resultados así:

Espécimen	Ex. de Eagle	Floculación	Ex. de Cardiolipina	Floculación
1	2 unidades		4 unidades	
2	16 "		32 "	
3	1 unidad		4 "	
4	128 unidades		512 "	

Al seguir los resultados de un tratamiento anti-sifilítico (por ejemplo en la Sífilis Precoz), el examen positivo a la Cardiolipina es el último examen serológico que se vuelve negativo.

EXAMENES DE VERIFICACION (VERIFICATION TEST):

Se trata de exámenes serológicos con técnicas capaces de diferenciar los resultados positivos de la Sífilis de los positivos producidos por otras enfermedades, algunas de las cuales ya hemos enumerado en páginas anteriores. Acabamos de hablar de la importancia del Antígeno de la Cardiolipina, así como de su sensibilidad, sin embargo, el

Examen de Verificación también tiene su importancia, la cual trataremos de explicar en seguida.

En realidad no es un nombre apropiado y fue popularizado por Kahn. En la mayoría de los casos el resultado depende mucho del título cuantitativo del espécimen examinado. Los sueros sanguíneos que poseen un contenido con baja titulación, ya sea que provengan de enfermos sifilíticos o con un PFB, tienden a dar resultados de verificación del tipo "biológico general" y aquellos sueros sanguíneos que poseen un contenido alto de titulación, no importa cuál sea su proveniencia, tienden a dar resultados del tipo "sifilítico".

Todos estos exámenes de serodiagnóstico dependen de la mezcla "Reagina Anticuerpo" no específico y tenderán a desaparecer cuando se descubra otro anticuerpo diferente.

Cómo reconocer un examen Serológico Positivo Falso de origen Biológico:

Los exámenes de "verificación" deben de ser omitidos; también los exámenes "provocativos" que aconsejan provocar o aumentar la sero-positividad con el uso de un tratamiento anti-sifilítico, administrando una o varias dosis de arsenicales o bismuto, deben de ser omitidos. A continuación se dan unos consejos que deben seguirse en el estudio de un enfermo sospechoso de poseer una reacción Serológica Falsa de origen biológico.

Historia.—De posibles lesiones sifilíticas precoces o de cualquier otra enfermedad venérea; de tratamiento anti-sifilítico previo, de posible y sospechosa exposición a la infección; de causas o enfermedades que pueden producir una Reacción Positiva Falsa.

Examen Físico.—Practicar un examen clínico completo de todo el organismo con especial referencia a la piel, mucosas, sistema cardio-vascular y nervioso así como estígmas de Sífilis Congénita.

Exámenes Serológicos.—Confirmarlos en diferentes laboratorios y por diferentes técnicas. Hacer exámenes cuantitativos; usar el Antígeno de la Cardiolipina.

Control Serológico Seriado.—Repetir los exámenes serológicos seriados a intervalos de 15 días o mensuales, hasta que se llegue a obtener la sero-negatividad espontánea o en forma alternada por lo menos durante seis meses antes de iniciar el tratamiento. Un aumento del título progresivo casi siempre significa Sífilis; un título estacionario puede que también indique Sífilis.

Examen del Líquido Céfalo-raquíneo.—Este examen es obligatorio en todos los casos, salvo cuando existe una reversión espontánea hacia la sero-negatividad en un lapso de seis meses. Reacciones Positivas Falsas en el líquido, no existen, salvo en ciertas enfermedades neurológicas clínicamente bien definidas.

Otros Exámenes de Laboratorio.—Examen microscópico de gota gruesa para descartar el Paludismo. Anticuerpos Heterófilos (en la Mononucleosis Infecciosa). Eritrosedimentación.

Investigación Epidemiológica.—Examen de todos los contactos del enfermo practicando en todos ellos como mínimo un examen serológico. Estos exámenes serológicos deben practicarse en ayunas, no olvidando repetirlos en casos necesarios hasta lograr una sero-negatividad o sero-positividad verdadera.

SEGUNDA PARTE

CENSO SEROLOGICO DE LA POBLACION DE LIVINGSTON

Exámenes serológicos hechos en personas que residen en la población de Livingston y aldeas circunvecinas, en el Departamento de Izabal.

Los métodos usados fueron: el de fijación del complemento de Kolmer y el de precipitación con el antígeno de la Cardiolipina, usando diluciones del uno hasta el treinta y dos. Los exámenes dudosos se repitieron hasta tres veces y a todos los examinados se les practicó al mismo tiempo el Frote y la Gota Gruesa para la investigación del Paludismo, así como se les practicó un examen físico completo. Las personas que resultaron con un hematozoario positivo y al mismo tiempo con una reacción serológica positiva, se mantuvieron en observación practicándoseles exámenes serológicos posteriores, controlando los cambios en dichos exámenes en lo que se refiere a los caracteres de dilución es decir, si mantenían su positividad a la misma dilución que aumentaran o ya que disminuyeran. Los resultados se expresaron en los términos de "Negativo" o "Positivo".

Para esta encuesta se hicieron tres grupos, como sigue:

I.—Escolares de los dos sexos:

Comprendiendo tres razas: Ladina, Indígena y Negra. La edad osciló entre los 7 a 16 años, inclusive.

II.—Mujeres Embarazadas:

De las tres razas ya mencionadas, con su historia obstétrica anterior y comprendidas entre las edades de 19 a 35 años, inclusive.

III.—Adultos:

- a) *Raza Ladina*: de los dos sexos y comprendidos entre las edades de 21 a 60 años, inclusive;
- b) *Raza Negra*: de los sexos y entre las edades de 19 a los 65 años, inclusive; y
- c) *Raza Indígena*: de los dos sexos y comprendidos entre las edades de 20 a los 50 años, inclusive.

Se practicaron quinientos noventa y seis exámenes serológicos en total. La sangre se extrajo en ayunas usando tubos al vacío herméticamente cerrados por el Laboratorio Serológico Central de Sanidad Pública lugar a donde fueron enviadas las muestras para su examen y control serológico, bajo la dirección y supervigilancia del Doctor Abel Paredes L., Jefe de dicho Laboratorio.

Los resultados fueron los siguientes:

Escolares:

De un total de 95 exámenes serológicos practicados entre las niñas, resultaron cinco muestras positivas. De las cinco, todas fueron extraídas a niñas de la raza negra, con la siguiente edad: a) 12 años, Kolmer Positivo, Cardiolipina Positiva, dilución al 1×8 . No presentaba ninguna manifestación de Sífilis en ninguna de sus formas clínicas y el hallazgo del sero-diagnóstico positivo fue el resultado de un examen en masa a los escolares. Presentó Hematozoario Negativo.

Sus padres también presentaron exámenes serológicos Negativos.

b) La segunda niña, de 15 años tampoco presentaba manifestaciones de Sífilis, el Hematozoario era negativo y, sin embargo, el padre de 42 años de edad sí tenía una Reacción Serológica Positiva y refería la historia de chancreo hacia 20 años. El hallazgo de la sero-positividad también fue en un control de higiene escolar.

La tercera niña fue traída a la consulta de la Unidad Sanitaria por fiebre frecuente, de poca intensidad, acompañada a veces de un estado gripal y "cansancio". Comía poco y era bastante "haragana". En sus estudios estaba muy atrasada, pues contaba con 15 años y cursaba tercer año de primaria. Presentaba: Kolmer Positivo y Cardiolipina Positivo en dilución de 1×64 . Hematozoario Negativo y al examen físico, desnutrición de grado II, Amigdalitis Hipertrófica y pequeño soplo aórtico sin irradiación. La madre presentaba un examen Serológico Negativo, y su padre había muerto hacía 8 años de una enfermedad "del corazón".

d) El cuarto caso, de 15 años de edad, con Kolmer y Cardiolipina Positivos, en dilución al 1×32 ; no tenía manifestaciones clínicas de Sífilis en ninguna de sus formas; el hematozoario fue negativo y los padres eran clínica y serológicamente sanos.

e) La quinta niña, de 12 años de edad, con reacción serológica de Kolmer y Cardiolipina Positivos, en dilución al 1×64 ; y Hematozoario Negativo. No presentaba ninguna manifestación clínica de Sífilis y era huérfana de padres.

Entre los escolares varones se practicaron un total de 81 exámenes serológicos con un resultado de tres positivos, con las siguientes especificaciones:

Dos, con Kolmer y Cardiolipina positivos, dilución al 1×64 , Hematozoario negativo; sin manifestaciones clínicas de Sífilis, cuyos padres eran clínica y serológicamente sanos. El primero de 13 y el segundo de 16 años.

Uno de 12 años, con manifestaciones de atraso mental, cursaba segundo año de primaria, presentaba Kolmer y Cardiolipina Positivos al 1×16 ; Hematozoario Negativo, padres sanos. Un hermano de 20 años de edad, presentaba Parálisis Fláccida del miembro superior izquierdo con atrofia marcada de los músculos del mismo. No pudo aprender a leer y escribir.

Ladinos Hombres:

Un total de 78 exámenes serológicos con un resultado de 11 positivos. Estos estaban comprendidos dentro de las edades de 20 a 48 años, inclusive. Cuatro de ellos presentaban una enfermedad Cardiovascular Activa: Insuficiencia Cardíaca, grado 2, un Hipertenso Maligno y el último, con Venas Varicosas y Ulceras Varicosas en ambos miembros Inferiores.

Cinco de ellos presentaban lesiones de la piel, de forma crónica, de aspecto liqueniforme, difíciles de curar y recidivaban frecuentemente.

Los otros dos no tenían manifestaciones clínicas de Sífilis.

Ladinas Mujeres:

Se practicaron 136 exámenes serológicos entre las edades comprendidas de 19 a 60 años de edad, con un resultado de 27 muestras positivas. Se usaron los Métodos de Kolmer y Cardiolipina. De las muestras positivas solamente tres pertenecían a mujeres con alguna manifestación clínica de Sífilis; las manifestaciones consistían en: dos con lesiones liqueniformes, de 38 y 41 años, respectivamente y una quien padecía Insuficiencia Cardíaca con signos de Insuficiencia Aórtica. Todas presentaron un Hematozoario negativo.

RAZA NEGRA

Sexo Masculino:

Se practicaron un total de 39 exámenes serológicos con un total de 4 muestras positivas con los métodos de Kolmer y Cardiolipina. Los pacientes estaban comprendidos entre las edades de 28 y 61 años; los exámenes fueron hechos por sospecha de Sífilis activa y todos presen-

taron manifestaciones de la enfermedad en la siguiente forma.

Dos con Insuficiencia Cardíaca Descompensada de probable origen sifilítico, ya que se encontraron signos de Insuficiencia Aórtica, uno de ellos falleció a consecuencia de la enfermedad, antes que se terminara este trabajo. Los otros dos presentaban lesiones de la piel y mucosas, uno de ellos dio un Hematozoario Positivo a Vívax.

Sexo Femenino:

Se practicaron un total de 52 exámenes serológicos con un resultado de 11 positivos, comprendidos entre las edades de 20 a 35 años. Todas, con excepción de una, presentaba manifestaciones clínicas de la enfermedad, pero solamente una manifestaba clínicamente enfermedad cardiovascular. En tres se encontraron Hematozoarios Positivos. Es de observar que de las once muestras positivas, todas pertenecían a pacientes con historia clínica de Distocias durante el parto y dos de ellas refieren haber tenido "un hijo nacido muerto" y probablemente macerado.

Pre-Natal

Se practicaron un total de 76 exámenes serológicos con un resultado de 3 positivos con los mismos métodos anteriores. Las muestras positivas pertenecían a pacientes entre las edades de 19 a 35 años y dos de ellas pertenecían a la raza negra, una de ellas primípara. La otra era de la raza ladina; ninguna tenía historia clínica de Distocia durante el parto. Ninguna dio un Hematozoario Positivo.

RAZA INDIGENA

Sexo Masculino:

Se practicaron un total de 16 exámenes serológicos con un resultado de tres muestras positivas, pertenecientes

a pacientes entre las edades de 22 a 38 años. Ninguno de ellos presentaba manifestaciones clínicas de Sífilis y dos de ellos dieron un Hematozoario Positivo a *Plasmodium Vivax*.

Sexo Femenino:

Se practicaron un total de 23 exámenes serológicos con un resultado de 4 muestras positivas, pertenecientes a pacientes comprendidas entre las edades de 20 a 40 años. Ninguna presentaba manifestaciones clínicas de Sífilis, pero las cuatro pacientes dieron un Hematozoario Positivo a *Plasmodium Vivax* y dos de ellas presentaban una hiper-trofia del Bazo de grado II. Sin embargo, no se encontraron signos de Paludismo activo y a pesar de que los exámenes se repitieron tres veces, siempre dieron el mismo resultado y a la misma dilución.

Porcentajes

El porcentaje global de resultados positivos fue de 13.5%, sin embargo, se puede notar que no todos los pacientes sufrían de manifestaciones clínicas de la enfermedad. Además es interesante saber que el grupo de más alto porcentaje fue el de las mujeres de la raza negra y casi todas con manifestaciones clínicas de la enfermedad. El porcentaje individual por grupos se puede decir que es el que sigue:

Escolares:

Niños	3.8%
Niñas	5.2%

Raza Negra:

Sexo Masculino	10.2%
Sexo Femenino	21.1%

Raza Ladina:

Sexo Masculino	14.1%
Sexo Femenino	19.8%

Raza Indígena:

Sexo Masculino	18.7%
Sexo Femenino	17.3%

Pre-natal:	3.9%
------------------	------

Otro dato que llama la atención es el que, con excepción de la raza indígena, el sexo femenino presenta un porcentaje de positividad siempre mayor que el sexo masculino.

DETALLE

Grupo:	Negativos:	Positivos:	Total
Escolares (Niños)	90.	5.	95.
Escolares (Niñas)	78.	3.	81.
Ladinos (Hombres)	67.	11.	78.
Ladinas (Mujeres)	109.	27.	136.
Raza Negra (Hombres)	35.	4.	39.
Raza Negra (Mujeres)	41.	11.	52.
Pre-natales	73.	3.	76.
Indígenas (Hombres)	13.	3.	16.
Indígenas (Mujeres)	19.	4.	23.
<hr/>		<hr/>	
SUMA:	525.	71.	596.

CONCLUSIONES

- 1^a—En general, la Sífilis es una enfermedad que desarrolla lentamente cierto grado de inmunidad.
- 2^a—Actualmente el diagnóstico de la Sífilis no constituye ningún problema para el Médico especializado, pero el Médico General tropieza con una serie de problemas diagnósticos en lo que respecta a las "Reacciones Positivas Falsas".
- 3^a—La Sifilología ha avanzado en sus conocimientos, tanto desde el punto de vista serológico como terapéutico.
- 4^a—Las reacciones serológicas modernas han llegado hasta un 95% de exactitud en sus resultados reduciendo así, a un 5% los casos de reacciones "Positivas Falsas".
- 5^a—La serología constituye un factor digno de tomarse en cuenta en el diagnóstico correcto de la Sífilis.
- 6^a—En la población de Livingston, la Sífilis se presentó en 71 de los 596 pacientes que se sometieron a la prueba serológica, grupo que constituye el 13.5%.
- 7^a—La incidencia serológica de los habitantes de Livingston fue mayor en las personas del sexo femenino en un 20% que en las del sexo masculino.
- 8^a—La mayor incidencia de casos positivos se presentó entre las edades de 30 a 50 años.
- 9^a—Entre todos los grupos examinados, fue el del sexo femenino de la raza negra, el que presentó el mayor grado de infección sifilitica.

RECOMENDACIONES

- 1^a—Intensificar el plan de lucha en la campaña contra la Sífilis, especialmente en los puertos, donde es muy fácil el contagio y la prostitución se ejerce en gran escala.

- 2^a—Exigir la tarjeta pre-nupcial no sólo para los matrimonios amparados por la Ley, sino también entre las uniones de hecho, ya que son estos últimos mucho más frecuentes que los primeros.
- 3^a—Extender la campaña a los escolares, no sólo como control serológico sino que también de tratamiento adecuado.
- 4^a—Hacer exámenes serológicos de rutina en todas las unidades sanitarias y centros de consulta de la República.

JOHN ARTHUR RENEAU.

Vº Bº,

Dr. F. A. Cordero.

Imprimase,

Dr. José Fajardo,
Decano.

BIBLIOGRAFIA

- "El Diagnóstico de la Sífilis para el Médico General".—*
John Earle Moore, M. D.
- "Una Década de Reorientación en el Tratamiento de la Sífilis Venérea".—*O. Idsoe, M. D.; T. Guthe, M. D., M. P. H.; Sven Christian, M. D.; P. Krag, M. D.; J. C. Cutle, M. D., M. P. H. 1954.