

REACCIONES SEROLOGICAS PARA SIFILIS
PRESUNTAMENTE POSITIVAS FALSAS
EN LA AMERICA CENTRAL

II. RELACION CON EL ACIDO ASCORBICO, RIBOFLAVINA,
FOSFATASA ALCALINA, CAROTINA Y VITAMINAS A Y E
EN EL SUERO SANGUINEO*

POR GENEVIEVE STOUT, M.A.,¹ MIGUEL GUZMÁN,²
Y NEVIN S. SCRIMSHAW, Ph.D., M.D.^{3, 4}

Guatemala, Guatemala

Del Laboratorio de Enfermedades Venéreas y Centro de Adiestramiento⁵ y el Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá⁶

En un trabajo anterior (1) discutimos la incidencia y distribución de las reacciones biológicas positivas falsas en las pruebas serológicas para sífilis. No cabe duda que las reacciones de este tipo son frecuentes en la población de la América Central. No se ha encontrado ninguna explicación satisfactoria del fenómeno. La alimentación complementaria con un refrigerio rico en proteína de buena calidad (1) no pareció afectar la incidencia entre los escolares. Sin embargo, se consideró posible que las variaciones en el nivel del suero de una o más de las vitaminas quizás revelaran alguna correlación con las reacciones biológicas positivas falsas.

En este trabajo se describen los estudios de la concentración del ácido ascórbico, riboflavina, fosfatasa alcalina, carotina y vitaminas A y E en el suero en relación con este fenómeno, y se establecen correlaciones significativas para tres de dichas substancias. En los trabajos siguientes discutiremos la relación de las reacciones biológicas positivas falsas con la proteína, albúmina y globulina del suero, y con las reacciones a la prueba de floculación de cefalina colesterol (Hanger).

* Manuscrito recibido en julio de 1951.

¹ Jefe, Servicio Asesor y Consultivo, Laboratorio de Investigación de Enfermedades Venéreas del Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos, Chamblee, Georgia; ex-Seróloga Consultora, Oficina Sanitaria Panamericana.

² Jefe, Sección de Microanálisis, Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

³ Jefe, Sección de Nutrición, Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina Regional de la Organización Mundial de la Salud, y Director del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.

⁴ Las Srtas. Carlota Aguirre, Bethli Peter, Marta González Pinto, y Ana María Padilla ayudaron en la determinación de las vitaminas.

⁵ Proyecto Cooperativo de la Oficina Sanitaria Panamericana, Oficina de Zona de Centro América, y el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala.

⁶ Instituto Cooperativo de los Ministerios de Sanidad de Costa Rica, El Salvador, Guatemala, Honduras, Panamá y la Oficina Sanitaria Panamericana, con la cooperación de la Fundación Kellogg.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio sólo se han incluido los escolares de 7 a 12 años de los países centroamericanos de Costa Rica, El Salvador, Guatemala y Honduras. La mayoría de dichos niños fueron examinados en dos o tres ocasiones durante 1950 y de nuevo durante la primera mitad de 1951. En general las muestras sanguíneas se extrajeron por la mañana, pero no forzosamente en ayunas. Todas las muestras fueron refrigeradas poco después de extraerlas, y se mantuvieron continuamente en refrigeración hasta poder ejecutar los exámenes serológicos. Las muestras de suero procedentes de Costa Rica, El Salvador, y Honduras se guardaron en una congeladora comercial hasta el momento de enviarlas a Guatemala. Este procedimiento no pareció afectar la distribución de las reacciones biológicas positivas falsas en los sueros de los distintos países (1).

Todas las determinaciones de vitamina se ejecutaron en una balanza ultramicroscópica de conformidad con los siguientes métodos ya publicados: ácido ascórbico (2, 3), riboflavina (4), fosfatasa alcalina (5), vitamina A (6) y carotina y vitamina E (7). En los análisis del ácido ascórbico se reemplazó el sulfato de cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) al 0.6% por el mineral descrito en el método original (8). En todos los casos se analizaron las muestras antes de ocurrir ningún deterioro por almacenamiento.

La serie de pruebas en que se basan las clasificaciones serológicas incluyen la Kahn, Mazzini, Kolmer, VDRL y la cardiolipina de Kline (9). El Grupo I contiene reacciones dudosas a las pruebas de Kahn y/o Mazzini o reacciones positivas a una de ellas. El Grupo II, las presuntamente positivas falsas, dieron reacciones positivas tanto a la Kahn como a la Mazzini, o reacción positiva con una de dichas pruebas y dudosa con la otra. En ambos Grupos I y II fueron negativas las reacciones de Kolmer, VDRL y Kline. No se discute el Grupo III presuntamente sífilítico (positivo o dudoso a todas las pruebas). Los sueros se consideran negativos cuando todas las cinco pruebas dan reacciones negativas. Ya se ha discutido la base de esta clasificación (1).

La desviación estándar, los valores t y las probabilidades se determinaron por métodos estadísticos estándar (10, 11).

RESULTADOS

En el Cuadro I aparecen las cifras medias de la química del suero para los varios grupos reactivos serológicos. En otra parte se discutirá el significado de estas cifras. No se observan diferencias manifiestas en los niveles de ácido ascórbico, riboflavina y fosfatasa alcalina en los varios grupos reactivos. Esto lo confirma el Cuadro II en que no se observa ninguna diferencia significativa por el uso de la prueba cuando se comparan los componentes sanguíneos en esos grupos. Las probabilidades calculadas no indican ninguna diferencia sistemática entre los grupos del Cuadro II.

CUADRO I.—*Cifras medias de la química del suero para los grupos reactivos serológicos en la América Central*

Reactor	Grupo	Vitamina C	Riboflavina libre	Fosfatasa alcalina	Carotina	Vitamina A	Vitamina E
Tipo I	N	53	56	56	56	56	56
	Media	1.79	1.62	5.22	87.2	24.7	.64
	σ	1.11	.90	1.52	53.4	9.0	.22
Tipo II	N	20	20	20	20	20	20
	Media	1.55	1.72	4.92	71.0	21.9	.64
	σ	.91	1.36	1.31	43.9	8.9	.20
Tipo IV	N	135	141	141	141	130	141
	Media	1.70	1.51	5.10	104.2	28.2	.79
	σ	1.02	.85	1.87	71.6	10.8	.10

N = Número de observaciones. σ = Desviación estándar.

Cuando se examinan los valores de las vitaminas liposolubles, carotina, vitamina A y vitamina E, los Grupos reactivos I y II parecen diferenciarse del Grupo IV negativo. Esto lo confirma el Cuadro III, en que se prueban las diferencias estadísticamente, aunque no aparece ninguna diferencia significativa entre los grupos reactivos I y II con respecto a esas vitaminas. Por las cifras del Cuadro I y las probabilidades muy significativas del Cuadro II es claro que ambos grupos difieran marcadamente en vitamina A y vitamina E del Grupo negativo IV.

CUADRO II.—*Probabilidad de diferencias significativas en los niveles de vitamina E, riboflavina y fosfatasa alcalina en el suero entre los grupos reactivos serológicos*

Comparación	Vitamina C		Riboflavina libre	Fosfatasa alcalina
	gl			
Grupo I comparado con II	gl	73	76	76
	t	.96	.31	.83
	P	.33	.76	.42
Grupo I comparado con IV	gl	188	197	197
	t	.50	.78	.47
	P	.60	.39	.65
Grupo II comparado con IV	gl	155	161	161
	t	.68	.68	.54
	P	.50	.50	.60

gl = grado de libertad. P = Probabilidad.

En el caso de la carotina, la diferencia entre el Grupo II y el IV reviste también importancia estadística. Sin embargo, la diferencia entre los Grupos I y IV, aunque fuertemente indicativa, no alcanza un nivel ni de 5% (probabilidad inferior a .05).

Como no se observan diferencias entre los grupos I y II, pueden combinarse ambos y compararse con el Grupo IV. Este procedimiento sólo serviría para recalcar la validez estadística ya muy elevada de la relación de los niveles inferiores en el suero de vitamina A y E a los

CUADRO III.—*Probabilidad de diferencias significativas en los niveles de carotina, vitamina E y vitamina A en el suero entre los grupos reactivos serológicos*

Comparación	Carotina		Vitamina E	Vitamina A
Grupo I comparado con II	gl	76	76	76
	t	1.3	0	1.2
	P	.20	1.0	.23
Grupo I comparado con IV	gl	197	197	186
	t	1.83	3.5	2.3
	P	.068	.0005	.02
Grupo II comparado con IV	gl	161	161	150
	t	2.9	3.75	2.2
	P	.004	.0002	.025

gl = grado de libertad. P = probabilidad.

grupos reactivos I y II. Cuando se combinan para comparación con el Grupo IV las cifras de carotina de los Grupos I y II, la diferencia tiene un significado bien definido (Probabilidad —.007).

DISCUSION

Cuando se establecieron en un principio los tipos de reacción, no se sabía si el tipo I debía considerarse como un grupo débil positivo falso o un grupo dudoso de composición tan heterogénea que resultaría de poco valor para facilitar información sobre la relación de las positivas falsas con otras observaciones. Los resultados anteriores indican que el Grupo I es en realidad muy distinto del grupo negativo con respecto a las vitaminas A y E del suero, dos vitaminas en que también difieren los reactivos del Grupo II, las positivas presuntamente falsas. Además, la diferencia entre el Grupo I y IV en la carotina del suero, aunque no de significado desde el punto de vista estadístico, revela la misma tendencia que entre el Grupo II y el Grupo IV. En contraposición, los Grupos I y II no difieren en forma significativa con respecto a la vitamina A, la vitamina E o la carotina. Estos datos parecen indicar que, por lo menos consideradas como grupo, hasta las reacciones dudosas y las positivas que sólo se observan en una prueba revisten con frecuencia importancia.

En la actualidad no es manifiesto el significado de estos niveles inferiores de carotina, vitamina A y vitamina E en los grupos de positivas presuntamente falsas. En vista de que la alimentación (1) no produjo

una disminución de las positivas biológicas falsas, ni mostró relación alguna con los otros componentes del suero comprobados, es muy poco probable que estos hallazgos sean indicativos de una relación primaria. Aunque en otra parte se discutirá el significado nutricional de estos datos, no existe indicación alguna de que los niveles sanguíneos de estas sustancias en los Grupos I y II sean inferiores a los promedios normales.⁷ Tampoco parece probable que la ingestión de carotina, vitamina E o A tenga de por sí ninguna relación con el fenómeno a discusión. Es más probable que algún factor común sea el responsable de las observaciones paralelas (12).

La vitamina A, la vitamina E y la carotina son factores liposolubles y deben llevarse en la sangre en relación con los lípidos o lipoproteínas del suero. Volkin (13) ha comunicado que la extracción con solventes adiposos tiende a reducir la actividad de las fracciones de suero que inhiben el desarrollo de reacciones biológicas positivas falsas. También se ha comunicado que las fracciones de lecitina del suero humano son más eficaces que las fracciones de suero íntegro para inhibir la actividad hacia las fracciones de euglobulina de origen biológico positivo falso (14). Neurath y colaboradores sugieren que la actividad serológica quizás varíe con la especificidad y actividad del inhibidor en el suero íntegro (15). No es imposible que las vitaminas A y E del suero, debido a su relación con los lípidos del plasma, reflejen en alguna forma la cantidad de inhibidor presente.

También se sabe que las dietas de estos niños son escasas en grasa (16). En esas circunstancias quizás no sea normal la absorción de grasa del aparato gastrointestinal y el metabolismo de la misma en el organismo. No se sabe si esto tiene alguna relación con el fenómeno descrito. Los datos sí ponen de manifiesto que debe existir alguna relación entre los componentes liposolubles determinados, aunque sea indirecta.

SUMARIO

Se presentan niveles en el suero de vitamina C, riboflavina, fosfatasa alcalina, carotina, vitamina A y vitamina E para grupos de reactores negativos, dudosos, y biológicos presuntamente positivos en escolares de la América Central, de 7 a 12 años de edad. En los cuadros aparece un mínimo de 130 en el grupo negativo, 53 en el dudoso, y 20 en el presuntamente positivo falso. La clasificación se basa en las reacciones a las pruebas de Kahn estándar, Mazzini, Kolmer, VDRL y Kline para sífilis.

No se observa entre los varios grupos ninguna diferencia significativa en relación con el ácido ascórbico, la riboflavina, y la fosfatasa alcalina del suero. El grupo presuntamente positivo falso revela una diferencia en carotina y vitaminas A y E de importancia estadística al compararlo

⁷ Algunas autoridades considerarían bajos los niveles de carotina.

con el grupo serológicamente negativo. La diferencia fué también significativa para las vitaminas A y E en el caso del grupo dudoso comparado con el negativo. No se descubrió ninguna diferencia significativa entre las cifras medias de carotina, vitamina A y vitamina E de los grupos dudoso y presuntamente positivo falso. No se expone ninguna relación nutricional primaria con las vitaminas A y E, pero se discuten otras ciertas posibilidades.

REFERENCIAS

- (1) Stout, G.; Guzmán, M., y Scrimshaw, N. S.: Reacciones serológicas para sífilis presuntamente positivas falsas en la América Central. I. Incidencia y distribución, *Bol. Of. San. Pan.*, 206, mzo. 1942.
- (2) Lowry, O. H.; López, J. A., y Bessey, O. A.: The Determination of Ascorbic Acid in Small Amounts of Blood Serum, *Jour. Biol. Chem.*, 160:609, 1945.
- (3) Goodland, R. L.; Sealock, R. R.; Scrimshaw, N. S., y Clark, L. C.: Interference with the Ultramicro Ascorbic Acid Method of Lowry, López and Bessey, *Science* 109:494, 1949.
- (4) Burch, H. B.; Bessey, O. A., y Lowry, O. H.: Fluorimetric Measurements of Riboflavin and its Natural Derivatives in Small Quantities of Blood Serum and Cells, *Jour. Biol. Chem.*, 175:457, 1948.
- (5) Bessey, O. A.; Lowry, O. H., y Brock, M. J.: A Method for the Rapid Determination of Alkaline Phosphatase with Five Cubic Millimeters of Serum, *Jour. Biol. Chem.*, 164:321, 1946.
- (6) Bessey, O. A.; Lowry, O. H.; Brock, M. J., y López, J. A.: The Determination of Vitamin A and Carotene in Small Quantities of Blood Serum, *Jour. Biol. Chem.*, 166:177, 1946.
- (7) Quaife, M. L.; Scrimshaw, N. S., y Lowry, O. H.: A Micromethod for Assay of Total Tocopherols in Blood Serum, *Jour. Biol. Chem.*, 180:1229, 1949.
- (8) Lowry, O. H.: Comunicación personal, 1948.
- (9) Manual of Serologic Tests for Syphilis, Supplement No. 22, *Ven. Dis. Inf.*, U. S. Government Printing Office, Washington, D. C., 1949.
- (10) Wilks, S. S.: "Elementary Statistical Analysis," Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 1949.
- (11) Fisher, R. A., y Yates, F.: "Statistical Tables for Biological Agricultural and Medical Research," Hafner Publishing Company, Inc., New York, 1949.
- (12) Scrimshaw, N. S.; Greer, R. B., y Goodland, R. L.: Serum Vitamin E Levels in Complications of Pregnancy, *Ann. New York Acad. Sc.*, 52:312, 1949.
- (13) Volkin, E.; Neurath, H.; Erickson, J. O., y Craig, H. W.: Biologic False Positive Reactions in Serologic Tests for Syphilis III. Preparation and Properties of Serum Protein Fractions which Inhibit Biologic False Positive Reactions, *Am. Jour. Syph., Gonor. & Ven. Dis.*, 31:397, 1947.
- (14) Volkin, E.: The Isolation of a Serum Lipid which Inhibits Serologic Reactions, *Jour. Immunol.*, 61:143, 1949.
- (15) Neurath, H.; Volkin, E.; Craig, H. W., y Erickson, J. O.: Biologic False Positive Reactions in Serologic Tests for Syphilis V. A Preliminary Survey Analysis with the Euglobulin-Inhibition Method for the Serologic Differentiation Between True and Biologic False Positive Reactions, *Am. Jour. Syph., Gonor. & Ven. Dis.*, 31:436, 1947.
- (16) Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá: Datos inéditos.