

Estudio de la Excreción Urinaria y Fecal del Cromo Radioactivo Cr⁵¹ en humanos y su uso como medida de las hemorragias intestinales asociadas con la infección con Anquilostoma*

MARCEL ROCHE, MARÍA ENRIQUETA PÉREZ-GIMÉNEZ,
MIGUEL LAYRISSE Y ESTELA DI PRISCO

Instituto de Investigaciones Médicas, Fundación Luis Roche, Banco Municipal de Sangre y Hospital Vargas, Caracas, Venezuela.

Desde los trabajos de Cruz (1) y Rhoads, Castle, Payne y Lawson (2) se le ha atribuido un papel importante a la carencia de hierro en la génesis de la anemia asociada a la infección anquilostomiásica. Sin embargo, otros autores hacen responsable de ella a la toxina hemolítica del anquilostomo, a la absorción inadecuada de hierro, a la insuficiente ingesta de proteínas, a la pérdida de sangre o a una combinación de todos o de varios de los factores enumerados. A fin de aclarar estos puntos nos ha parecido indispensable hacer estudios cuantitativos en pacientes infectados con el anquilostoma humano.

Es la intención del presente trabajo hacer una evaluación cuantitativa de uno de estos factores, la pérdida de sangre debida al parásito.

Anteriormente ha sido usado el isótopo radioactivo del cromo, el Cromo 51, para marcar los eritrocitos (3,4) con el fin de estimar su sobrevivencia y de medir el volumen sanguíneo (4, 5). Antes de proceder al estudio de la pérdida intestinal de sangre producida por la uncinaria era necesario determinar:

* Publicado en inglés en el Journal of Clinical Investigation, Vol. 36, Nº 7, págs. 1183-1192, julio de 1957.

Este trabajo fué realizado gracias a una donación de la Fundación Creole.

1.—Qué cantidad del Cr 51 se absorbe a partir del tracto gastro-intestinal cuando es introducido en el estómago o en el duodeno de sujetos normales o de sujetos infectados por el anquilostoma. 2.—Si el Cromo 51 que se absorbe a partir del tracto gastrointestinal entra en los eritrocitos circulantes en cantidades significativas. 3.—Qué proporción del Cromo 51 contenido por los eritrocitos circulantes aparece diariamente en las heces y orinas de sujetos no infectados.

Con los datos obtenidos es posible mostrar que la mayor parte del cromo 51 llevado por los eritrocitos circulantes es excretada por vía renal, que se absorben cantidades prácticamente despreciables del cromo 51 introducido en el tubo digestivo, y que ese cromo 51 absorbido no entra en los eritrocitos circulantes en cantidades detectables. Además, este estudio parece mostrar que la pérdida de sangre en el humano, a pesar de ser menor a la debida por el ancylostoma caninum en el perro (6, 7), es probablemente un factor importante en la génesis de las anemias asociadas a la uncinariasis.

METODO

Todos los sujetos fueron pacientes hospitalizados en las Salas de Medicina o de Cirugía del Hospital Vargas. Con excepción de los enfermos L. M. y J. F. (Tabla II), los sujetos no infectados estaban hospitalizados para intervenciones quirúrgicas o por trastornos locales de la piel. Se llevaron a cabo por lo menos tres exámenes de heces con resultados negativos. La paciente L. M. era una mujer de 30 años, quien sufrió una hemorragia aguda por placenta previa y fué estudiada desde el día 13 hasta el 25 del puerperio. El paciente J. F. sufría de leucemia aguda.

Marcada de los eritrocitos circulantes: A aproximadamente 20 ml de sangre tomada del pliegue del codo, introducidos en una botella estéril que contenía 3 ml de solución A. C. D., se agregaron unos 80 microcuries de Cr 51. Esta mezcla se incubó a 37°C durante media hora, agitándola suavemente a intervalos de 5 minutos. Se lavó luego la sangre con suero fisiológico al 0.9% por tres veces en los experimentos en los cuales se estudió la absorción intestinal; o se reintrodujo en el torrente sanguíneo del enfermo sin más lavados, en los es-

tudios de excreción de Cr 51 a partir de los eritrocitos circulantes.

Estudio de la absorción de Cr-51 a partir del tracto gastrointestinal: Los eritrocitos lavados se resuspendieron en Dextrosa al 5%. Se colocó un tubo de Levine en el duodeno del enfermo, controlándose su posición con pantalla fluoroscópica. A través de él se introdujeron 10 ml de la suspensión medidos exactamente con una pipeta volumétrica y permitiéndose que bajaran por gravedad. Esta fué lavada seis veces seguidas, con 10 ml del fluido utilizado para la resuspensión.

Después de lavar y decontaminar completamente la pipeta se preparó un patrón para cada paciente con el mismo procedimiento utilizado para la administración. El patrón fué diluido hasta 500 ó 1.000 ml. con agua. Para los experimentos en que se utilizó radio-cromato en agua, la substancia radiactiva diluida se midió volumétricamente y se colocó en un vaso, de donde lo bebió el paciente, enjuagándose este vaso seis veces sucesivas.

Se obtuvieron luego diariamente heces, orina de 24 horas y sangre, determinándose su radiactividad y comparándola con la del patrón. Los resultados fueron expresados en términos de porcentaje del cromo administrado, excepto para la sangre donde la actividad fué dada en cuentas por minuto por ml de sangre. Estas determinaciones se llevaron a cabo hasta tanto no apareció más actividad en las heces.

Estudio de la excreción de Cr 51 a partir de los eritrocitos circulantes marcados. Después de una espera de por lo menos cuatro días a partir de la marcada de los glóbulos, se comenzó la recolección de las heces y orinas. Las heces fueron obtenidas en periodos de cuatro días, directamente en botellas de boca ancha forradas de papel de aluminio; se pesaban luego con precisión de un gramo y se homogeneizaban en un Waring con cantidades medidas de agua. Una alícuota del homogenado era entonces introducida, por medio de un aplicador especial, en el fondo de un tubo de ensayo, de tal manera que el nivel superior quedara aproximadamente a nivel de una marca calibrada a 3 ml, hecha previamente en la probeta. Esta muestra fecal era luego pesada por diferencia con precisión de 0.1 mgr. y el resultado se corregía por la proporción de agua introducida a las heces totales. La radiactividad de esta alícuota se comparó a la de 3 ml. de sangre obtenida

del paciente el día en que se comenzó ese periodo de recolección, o sea cuatro días antes. Los resultados se expresaron en término de milímetros de sangre con una radiactividad equivalente a la encontrada en las heces durante el periodo de estudio. Este valor se obtuvo, para un periodo de cuatro días, por medio de la fórmula:

$$\frac{R_b \times 4}{R_s \times Q} = B$$

En la cual,

R_s es la radiactividad en las heces de cuatro días en impulsos por minuto por gramo de heces.

R_b es la radiactividad en la sangre del mismo paciente obtenida al principio del periodo de recolección de 4 días en impulsos por minuto por milímetro de sangre.

Q es la cantidad de heces en gramos recogidos durante los cuatro días.

B es la cantidad de sangre en milímetros que contiene la cantidad de radiactividad encontrada en las heces en 24 horas.

El promedio de los estudios de tres periodos de cuatro días se da para cada sujeto. El paciente J. F. (Tabla II) tuvo que ser estudiado en otra forma debido a la necesidad. Sus eritrocitos fueron marcados el día cero y las recolecciones de heces se comenzaron el día 4; pero como el paciente estaba en condiciones muy precarias y comía poco, no fué posible obtener heces hasta el día 10, poco tiempo antes de la muerte. En la autopsia hecha 24 horas más tarde se recogió la totalidad del contenido del intestino delgado y del colon y se determinó en ella la radiactividad; dicha radiactividad fue considerada como la cantidad total de cromo 51 que había sido excretada al tracto gastrointestinal desde que se comenzaron las recolecciones de heces.

El uso de la sangre tomada al comienzo de los periodos de cuatro días de recolección de heces, como patrón para la comparación con la radiactividad fecal de los días subsiguientes, es hasta cierto punto arbitraria. La forma ideal de patrón de sangre para comparar con la radiactividad fecal,

debería ser el promedio de la actividad sanguínea durante el tiempo en que el cromo presente en las heces de cuatro días se está excretando en el tubo digestivo. Esto implicaría un conocimiento exacto de la duración del tránsito intestinal para cada paciente en particular, durante el tiempo del experimento, y el sitio del intestino en el cual se está excretando el cromo. Como no era posible obtener estos valores, nos pareció suficientemente satisfactorio lo que acabamos de describir.

La radiactividad urinaria se midió en tres milímetros de orina no diluída y la actividad se comparó con la de 3 ml de sangre obtenida ese mismo día. Los resultados se expresaron como para las heces. Estas orinas fueron obtenidas en tres muestras de 24 horas cada una y los resultados señalados son el promedio de tres determinaciones.

El volumen plasmático se midió por el método del Azul de Evans (9) y el volumen sanguíneo se calculó a partir del hematocrito venoso multiplicado por 0.9 (10) para corregir la diferencia entre el hematocrito venoso y el de la sangre total. El hematocrito se obtuvo centrifugando la sangre durante 30 minutos a 3.000 revoluciones por minuto. No se utilizó corrección para el plasma atrapado. De tal manera que el valor B en la fórmula (1) se pudo expresar en términos del porcentaje de la masa sanguínea que contiene la cantidad de radiactividad encontrada en las heces de 24 horas.

Medición de la radiactividad: La radiactividad se determinó en un contador de centelleo tipo pozo (Nuclear modelo 3037-B).

Se demostró varias veces que al mezclar una solución acuosa de cromato de sodio radiactivo de actividad conocida, con heces de consistencia variada, bajo las condiciones experimentales presentes, no había autoabsorción significativa. En la tabla I se muestran los resultados de tal experimento: aproximadamente 0.9 microcuries de cromo 51 se mezclaron con 1.000 ml de agua; se tomó una muestra de heces duras, no radiactivas, y se mezcló peso a peso con agua cromada en las proporciones señaladas en la tabla I. Como se puede ver, solamente cuando las heces fueron mezcladas con agua en proporción de 2:1 se produjo una reducción aparente del número de recuentos esperados, en un 2,7%. En estos experi-

mentos se contó un mínimo de 20.000 golpes. En todas las otras diluciones y en los experimentos en los cuales se utilizaron heces normales, semi-sólidas, no hubo auto-absorción medible. En consecuencia, en nuestros estudios de radiactividad fecal, cuando se obtuvieron heces duras, se llevó a cabo una dilución de por lo menos 1:1.

La cantidad de sangre en milímetros, que contiene la cantidad de radiactividad encontrada en las heces o en la orina de 24 horas se expresa de ahora en adelante como "milímetros de sangre por 24 horas" en las heces y en las orinas respectivamente. Se midieron, en todos los recuentos, un mínimo de 6.400 golpes para cada muestra.

Estudios en sujetos infectados por anquilostoma. Todos los sujetos de este estudio estaban también hospitalizados en las salas del Hospital Vargas. La mayoría de los pacientes, con anemia moderada o sin anemia, habían ingresado por razones no relacionadas a la anquilostomiasis y el hecho de que tuvieran huevos de anquilostoma en las heces fué un hallazgo accidental. Los que tenían anemia acentuada sí ingresaron por lo general con quejas relacionadas a ella.

La recolección de las heces, la marcada de los eritrocitos circulantes y la determinación de la radiactividad se hizo tal como en los enfermos no infectados. La hemoglobina se determinó por el método de la Cianometahemoglobina (11), los recuentos de huevos por el método de Caldwell y Caldwell (12).

Al final del estudio inicial de doce días, le fué administrado a cada paciente, tres milímetros de tetracloretileno por vía oral, seguido por un purgante de sulfato de magnesio (30 gm.) dos o tres horas más tarde. Durante los días subsiguientes se recogió la totalidad de las heces en períodos de 24 horas y se lavó con agua del chorro en una bolsa de malla fina hasta obtener un residuo finamente homogeneizado. Se buscaron entonces los vermes y se recogieron individualmente hasta que no hubiera ninguno en la preparación. Se colocaron luego en alcohol al 60% o en formol al 10% en un tubo de ensayo y en algunos casos la totalidad de los vermes fueron pesados por el contador de centelleo para determinarles la radiactividad. Las heces fueron recogidas y estudiadas en esta forma hasta tanto no se encontraran vermes. Luego se estudió un nuevo período de doce días para determinar la radiactividad fecal.

Después de agitar suave pero completamente los anquilostomas en el tubo de ensayo para asegurar una distribución uniforme, se tomó una muestra representativa de por lo menos 100 gusanos o se examinó la muestra total cuando había menos de 100. Cada animal fué aclarado con creosota e identificado para especie y sexo en el microscopio.

A pesar de que hasta ahora se había pensado que la infección por ancylostoma duodenale no existía en Venezuela (3), en cinco de los 20 casos examinados se encontró ese parásito asociado al Necator Americano (14).

En algunos pacientes en los cuales persistía un gran número de huevos después del primer vermífugo fué necesario administrar otra cura con Tetracloretileno y después se llevó a cabo un tercer estudio de doce días.

Cuando la radiactividad disminuyó por debajo de los 100 golpes por minuto por encima del fondo, se volvieron a marcar los glóbulos del paciente.

La cantidad de sangre perdida por anquilostoma por día se calculó a partir de la fórmula (2):

$$H = \frac{A - B}{N}$$

en la cual

A = Es el promedio de sangre en las heces en milímetros por día, determinado a partir de un periodo de estudio de doce días antes de la administración del vermífugo.

B = Es el promedio de sangre en las heces, en milímetros por día, determinado en la misma forma, después de la administración del Tetracloretileno y

N = El número de anquilostomas recuperado a partir de las heces después del vermífugo administrado entre los periodos A y B.

Para tratar de establecer una relación entre la oviposición y la actividad expoliatriz de los vermes se calculó la pérdida de sangre por 100.000 huevos por día en igual forma.

Debido a que no se tuvo ningún caso de infección pura por Ancylostome hubo que hacer un cálculo burdo de la cantidad de sangre perdida por la acción de este parásito suponiendo que los Necator presentes producían siempre una pér-

dida de sangre calculada a partir del promedio encontrado en la infección pura por Necator. Es así que:

$$B_a = \frac{100 B_h - (3.11 \times 10^{-2} NH)}{A H}$$

en la cual

B_a = la pérdida de sangre por Ancylostoma en mililitros por día.

B_h = la cantidad total de sangre perdida debida a uncinarias (Necator + Ancylostoma) calculada a partir de la fórmula 2.

3.11×10^{-2} = Promedio de sangre perdida por la acción de cada Necator (Tabla VI) en mililitros por día.

N = El porcentaje de Necator en la muestra estudiada.

H = El número total de uncinarias (Ancylostoma + Necator) recuperado.

A = El porcentaje de Ancylostoma en la muestra estudiada.

Se trató de estimar la pérdida de hierro en el tracto gastrointestinal aplicando la fórmula

$$Q_{Fe} = \frac{Hb \times B \times 3.40}{100}$$

en donde

Q_{Fe} = miligramos de hierro perdido, por día, en el tubo digestivo.

Hb = la hemoglobina sanguínea en gramos por 100 milímetros.

B = milímetros de sangre perdidos, por día, en el intestino.

3.40 = miligramos de hierro por gramo de hemoglobina.

Los estudios gastrointestinales, incluyendo la visualización por medio de los Rayos X de esófago, estómago, duodeno, intestino delgado y colon y la rectosigmoidoscopia se hicieron en los pacientes 1 al 6, 11, 14 y 21. Estos estudios no revelaron fuente evidente de sangramiento. Al paciente número nueve se le practicó la autopsia y tampoco fué posible ver en él causa de sangramiento aparte de la producida por la infección anquilostomiásica.

RESULTADOS

Los resultados se muestran en las tablas II a VII. En las tablas III y IV no está tabulada la radiactividad sanguínea debido a que, con una sola excepción, no estuvo por encima del fondo. En el caso de M. P., Tabla IV, la sangre contó consistentemente 14 impulsos por minuto por mililitro por encima del fondo durante todo el período de estudio. En la tabla V los pacientes fueron ordenados de acuerdo con la pérdida sanguínea la cual es aproximadamente inversa a la severidad de la infección, juzgada a partir del número total de anquilostomas recuperados y de los huevos que permanecen en las heces después de la devermifugación. En la columna 1 se muestra el promedio de los tres primeros recuentos de huevos en cada paciente. En la columna 2, el número de anquilostomos recuperados de una o dos devermifugaciones. En los pacientes 9, 10, 12 y 21 no se trataron de recuperar los vermes. La columna tres representa el valor de la hemoglobina sanguínea en la época de la admisión y la 4 la misma en el momento del estudio. Cuando los valores de estas dos últimas columnas coinciden, se debe a que el enfermo fué estudiado muy cerca de la fecha de admisión y los dos valores son iguales. En la columna 5 los valores representan el promedio de tres muestras fecales de cuatro días sucesivos cada una. Los pacientes 7, 10, 11, 13, 14, 15, 17 y 19 no fueron estudiados a la admisión sino después de una recuperación parcial de la anemia o, como en el caso 8, después de la reducción de la hemoglobina sanguínea, posiblemente debido al sangramiento producido por los vermes. En la tabla VI, el número de anquilostomos es el recuperado después del primer vermífugo, o sea solamente entre los períodos A y B. En la columna marcada "paciente" los Nos. 1 y 2 entre paréntesis indican dos estudios hechos al mismo paciente: antes y después del primer vermífugo y antes y después del segundo vermífugo, respectivamente. Así, pues, vemos catorce estudios en doce pacientes.

DISCUSION

Owen, Bollman y Grindlay (15) pudieron demostrar, en dos perros, que la mayor parte del cromo 51 que marca los eritrocitos introducidos en el estómago de estos animales, se

recupera en las heces y que la mayor parte de la radiactividad excretada a partir del Cr 51 de los eritrocitos circulantes aparece en la orina. En este respecto, el hombre parece ser igual al perro. Por otro lado, en un perro en el cual se administró una solución acuosa de radiocromato por medio de una sonda gástrica, se vió que aproximadamente la mitad del cromo era absorbida; en nuestros cuatro sujetos, por el contrario, (Tabla IV) parece como si la absorción en las mismas condiciones fuera muy escasa o nula. Ha sido sugerido (15) que marcar los eritrocitos circulantes con Cr 51 y estudiar la radiactividad sanguínea y fecal en forma comparada, podría ser una manera de determinar la cantidad exacta de sangre perdida a partir de lesiones gastrointestinales. Los mismos autores reportaron más tarde dos estudios de pérdida intestinal en pacientes humanos (16), pero no parecen haber podido determinar previamente la excreción y la absorción del cromo en el humano. De acuerdo con nuestros hallazgos (Tablas II, III y IV) parecería que el método sí es válido para el humano puesto que solamente cantidades despreciables del cromo 51 circulante ligado a los eritrocitos (promedio 1.27 mililitros de sangre por día) se excretan en las heces (Tabla II) y puesto que la mayor parte de la radiactividad administrada por duodeno o estómago se recupera en las heces (Tablas III y IV). Indudablemente, parece haber muy poca absorción del cromo; aún cuando se administra por boca en forma de cromato de sodio disuelto en agua o marcando glóbulos rojos (Tabla IV). Se pensó que el paciente M. P. (Tabla IV) dejó de recoger las heces en el día 3 y que esto explicaba la recuperación fecal incompleta de 59.2%, puesto que la radiactividad ausente no apareció ni en orina ni en sangre.

Los pacientes con anemia profunda no parecen diferir de los que no la tienen en lo que respecta a la absorción intestinal del cromo 51 (Tabla III, pacientes M. R., J. V. y A. G.) o con respecto a la excreción fecal del mismo. (Tabla II, pacientes L. M. y J. F.)

La mayor parte de la radiactividad que pasa a la orina, cuando se administra el cromo por vía digestiva, aparece por lo general en el transcurso de las primeras 24 horas después de la administración del material radiactivo. Con los siguientes datos no es posible asegurar que esto signifique que la absorción a partir de la mucosa intestinal superior sea mayor

que la que ocurre a partir de la inferior. No es probable que esta radiactividad represente el cromo 51 suspendido fuera de los eritrocitos inyectados, puesto que las células se lavaron tres veces antes de ser administradas por la vía oral o por la sonda duodenal, y puesto que la absorción del radiocromo aún diluido en agua es muy pequeña a pesar de ser significativa (Tabla IV).

En los pacientes en los cuales se administró cromo en el tubo digestivo, no fué posible detectar actividad en la sangre, excepto en uno de los casos; parece pues que la poca cantidad de cromo 51 que se absorbe no marca los eritrocitos circulantes.

De estos estudios se desprende que, dentro de ciertos límites, la medida de la radiactividad fecal y su comparación con la radiactividad sanguínea es un método válido de calcular la cantidad de sangre perdida en el tracto gastrointestinal a través de una lesión sangrante, en pacientes en los cuales los eritrocitos han sido marcados con cromo 51. Por otro lado, a pesar de que los estudios con cromo radioactivo, nos dan con bastante precisión la cantidad de la sangre que se pierde en la luz digestiva, no permiten información alguna con respecto a la reabsorción probable de los diversos componentes sanguíneos por la mucosa del mismo.

La pérdida total de sangre y de hierro por paciente: La pérdida total de sangre puede ser considerable (Tabla V) y es aproximadamente proporcional a la intensidad de la infección. Para obtener un valor más exacto, en la columna que indica la cantidad de sangre fecal (Tabla V), uno tendría que abstraer como "blanco" la pequeña cantidad de cromo 51 que sería excretada por el individuo en estudio si no estuviera infectado por el anquilostoma. Tal "blanco" parece sin embargo ser bastante variable de paciente a paciente (Tabla II) y por esta razón no parece estar justificado el usar el promedio fecal de 10 pacientes.

En los enfermos 1, 2, 3, 4 y 6, quienes ingresaron en condiciones muy pobres con una hemoglobina sanguínea muy reducida, la pérdida de sangre, poco tiempo después del ingreso (Tabla V columna 5) fué netamente mayor que después de que los pacientes fueron tratados con hierro, dieta y transfusiones. Estos pacientes serán reportados en otra oportuni-

dad con mayores detalles (17). Inversamente, algunos pacientes que tenían una infección bastante intensa, sangraron relativamente poco. Es así que el paciente 17 que alojaba por lo menos 500 vermes, sólo perdía 7.3 mililitros por día y el paciente 15 con, por lo menos, 609 vermes, 15.4 mililitros por día. El paciente 15 ingresó al Hospital con una hemoglobina de 5,2 gramos por 100 mililitros pero no fué estudiado en esas condiciones, sino cuando ya se había recuperado de la anemia y estaba en un excelente estado de nutrición. El paciente 17 que no tenía anemia significativa al entrar al Hospital presentó un valor de 15.0 gramos/100 en el momento del estudio. Contrariamente a la mayoría de los sujetos de la presente serie, su historia nutricional era excelente. Siendo pescador y agricultor al mismo tiempo comía pescado y vegetales frescos dos veces por día y tomaba leche también diariamente.

Los datos sobre la pérdida de hierro en la Tabla V son solamente aproximados puesto que *no sabemos si el hierro es en parte reabsorbido, después de caer al tubo digestivo*. En Venezuela el promedio de ingesta diario de hierro se ha calculado en los alrededores de 12 mg por día (18). Si se supone que de estos 12 mg, 3 a 4 se absorben (como máximo) es evidente que los enfermos con una infestación severa se encuentran en balance negativo con respecto al hierro, exceptuando posiblemente al enfermo 17. Es interesante que solamente aquellos 6 pacientes (del 6 al 21) cuya pérdida de hierro se ha calculado por debajo de 4 mg por día sean los únicos libres de una anemia significativa en el momento del ingreso.

La pérdida de sangre por anquilostomo por día: Los trabajos de Wells (6) y de Nishi (7) mostraron claramente que el anquilostomo del perro (*Ancylostome Caninum*), consumía cantidades considerables de sangre. Wells llegó a medir esta cantidad chupando dentro de un pipeta calibrada, la sangre que eyecta por el ano el gusano fijado en el intestino de un perro anestesiado; diluyendo esta sangre en cantidades conocidas de líquido para recuento de rojos y comparando la cantidad así obtenida con la que tiene por mililitro la sangre circulante del perro. Concluyó que si durante las 24 horas del día se mantenía el mismo ritmo de succión observado durante el experimento (20 minutos), cada *Ancylostoma* podría llegar a consumir 0,84 mililitros de sangre por día. Nishi (7), valién-

dose de métodos similares, concluyó que la pérdida de sangre por *Ancylostoma* por 24 horas era en promedio 0,144 mililitros y podría ser tan alta como 0,392 mililitros si el *Ancylostoma* continuaba chupando con su actividad máxima durante las 24 horas. Fuera de la hipótesis de rata de succión constante de estos autores, se le podrían hacer otras dos objeciones importantes a estos interesantes trabajos: 1.—Se sabe que el método de recuento de glóbulos rojos por medio de pipetas calibradas tienen un error intrínseco elevado y 2.—Estos resultados serían aplicables solo al *Ancylostoma* del perro, organismo más grande y probablemente más voraz que el parásito humano, especialmente si nos referimos al *Necator*. Si suponemos que el promedio de pérdida de sangre diaria por gusano es de 0.84 ml en el parásito humano, algunos de nuestros pacientes estarían perdiendo más de dos litros de sangre por día, cifra que parece más que improbable. Gerritsen, Heinz y Stafford (19) usando radiohierro y métodos similares a los descritos aquí, estudiaron tres pacientes con infección anquilostomiásica; no mencionan de qué especie son los parásitos pero obtuvieron respectivamente 0.026, 0.22 y 0.053 mililitros por día por verme, valores mucho más semejantes a los que aquí damos. Es posible que el valor más alto (0.22) sea debido a la presencia del *Ancylostoma* duodenal. Puesto que una cantidad desconocida de hierro es probablemente reabsorbida, los valores de Gerritsen están más cercanos al valor real de la pérdida de este elemento, mientras que los valores nuestros son más representativos de la cantidad de sangre que se pierde en el intestino por la acción expoliatriz de los gusanos.

La cantidad de sangre perdida varía, en los diversos pacientes con infección pura dentro de un rango por *Necator* de 1.18×10^{-2} y 6.35×10^{-2} mililitros por gusano por día. (Tabla VI). En cuanto al *Ancylostoma* duodenal (Tabla VII) parecería, del número limitado de pacientes que se presentan aquí, que la pérdida de sangre debida a estos gusanos es definitivamente mayor que la que se debe al *Necator*. Los datos que expresan la pérdida probable por *Ancylostoma* no son completamente fidedignos, puesto que se supone para el fin de los cálculos que los *Necator* presentes en las infecciones mixtas están consumiendo una cantidad de sangre igual al promedio de la que consumen en el parasitismo puro y se sabe (Tabla

VI) que este dato puede ser sometido a variaciones considerables, puesto que el porcentaje de *Ancylostoma* en cada paciente es generalmente bajo. En el enfermo 7 (Tabla VII) la cifra es más fidedigna puesto que en ella el 70% de los vermes fueron del género *Ancylostoma*. Es posible que el *Ancylostoma*, el cual es un gusano de mayor tamaño, consumo más sangre que el *Necator*, y la cifra de 0,2 mililitros por día por gusano parece ser una estimación bastante buena de su capacidad de succión.

En los casos en los cuales los anquilostomos recuperados se colocaron en un tubo de ensayo para medirles la radiactividad, nos sorprendió encontrar que en ninguno de los tubos hubo radiactividad mayor que el fondo. Este hallazgo indicaría que el anquilostomo eliminado contiene poca o ninguna cantidad de sangre, posiblemente porque la expela por la acción del vermífugo o durante el proceso del lavado. De acuerdo con Wells (6) varios observadores han visto que gusanos de la especie *Ancylostoma duodenale* removidos del huésped durante una autopsia expelen sangre por la boca o por el ano.

Relación entre el número de huevos en las heces y la pérdida de sangre: La cantidad de sangre perdida por día por millón de huevos es un promedio de 2,02 ml. \pm 1,12 para las infecciones puras por *Necator* (Tabla VI). Existe pues "a grosso modo" una correlación entre la pérdida de sangre y la oviposición, lo cual era de esperarse puesto que ambas son manifestaciones de la biología del parásito y por consiguiente dependen del número de ellos y de su actividad vital.

El método que acabamos de describir para calcular la pérdida de sangre es interesante desde el punto de vista biológico pero impráctico desde el de la clínica. El médico que necesita saber la cantidad de sangre que está perdiendo su paciente tiene generalmente dificultades para recoger la totalidad de las heces en períodos de cuatro días, y mucho menos en tres de estos períodos. Es por esto que hemos expresado el resultado de los tres primeros recuentos de huevos hechos en cada paciente en huevos por gramo de heces y se comparó este resultado con la cantidad de sangre perdida por día durante el mismo período de tiempo. Se encontró que el enfermo que perdía en promedio 2,74 mililitros por mil huevos por gramo de heces con un rango de 0,82 a 7,14 mililitros y una desviación standard de \pm 1.50. Es evidente que el rango es bastante

amplio, dependiendo en parte de la presencia de *Ancylostoma duodenale* en algunos casos; pero el método parece ser útil para predecir en una forma aproximada la pérdida de sangre y para juzgar si una anemia asociada con infección anquilostomiásica se debe principalmente a ella.

Contribución de la pérdida de sangre a la anemia de la infección por anquilostoma: De los datos presentes no se puede concluir que la hemorragia debida al anquilostomo sea suficiente para explicar enteramente la anemia. Sin duda, parece existir una correlación inversa entre la cantidad de sangre y la pérdida de hierro, y los valores de hemoglobina. En última instancia, el que un enfermo con infección por anquilostomo desarrolle o no anemia depende probablemente del balance entre lo que ingresa a los glóbulos rojos y lo que sale del cuerpo del paciente. Esto no implica, necesariamente, la ingesta de hierro o la pérdida de sangre solas, sino también otros factores como el balance nitrogenado, la buena o mala absorción del hierro ingerido, la destrucción de los glóbulos rojos y posiblemente la función regeneradora de la médula ósea. Hasta tanto no se estudien cuantitativamente todos estos factores no se puede llegar a una conclusión definitiva, a pesar de que parece ya probable, que el sangramiento sí juega un papel de gran importancia, si no el más importante, en la génesis de la anemia asociada a la infección anquilostomiásica.

SUMARIO

1.—A dos sujetos no infestados y a seis sujetos con infección necatoriásica se les administraron, por medio de una sonda duodenal, sus propios eritrocitos marcados con cromo radioactivo. La recuperación fecal fué en promedio de 96,7% de la dosis total administrada y la recuperación urinaria de 1,7%.

2.—En 10 sujetos no infestados, dos de ellos con anemia profunda, en los cuales los eritrocitos circulantes habian sido marcados con cromo 51, se encontró una excreción fecal de radiactividad muy pobre (en promedio 1,27 ml. de "sangre" por día). La mayor parte de la radiactividad excretada diariamente aparecía en la orina (96,3% de la actividad total re-

cuperada diariamente como promedio) en los ocho sujetos no anémicos.

3.—Comparar la radioactividad en la sangre y en las heces de enfermos con eritrocitos circulantes marcados con Cr 51 parece ser una manera rápida de estimar la pérdida de sangre intestinal.

4.—Los eritrocitos circulantes de 21 pacientes, con diversas intensidades de infección por anquilostoma, fueron marcados con cromo 51 y la pérdida de sangre intestinal debida al anquilostomo se midió comparando la radiactividad en las heces y en la sangre.

5.—La pérdida de sangre por día en las heces, se encontró que era aproximadamente de 2,0 a 251,5 mililitros; en proporción aproximada a la severidad de la infección.

6.—En doce pacientes con infección pura por *Necator americanus* la pérdida de sangre por día por verme fué en promedio de $3,11 \times 10^{-2} \pm 1,73 \times 10^{-2}$ por mililitro.

7.—En cinco enfermos con infección mixta *Anquilostomonecator*, se encontró que la pérdida de sangre producida por el *Anquilostomo duodenale* podía ser calculada en los alrededores de 0.2 mililitros por anquilostomo por día.

8.—La pérdida de hierro calculada llegó a ser desde 1,2 hasta 29,1 mg/día.

9.—Existía más o menos una correlación entre el número de huevos en las heces y la cantidad de sangre expoliada por el parásito. En promedio los enfermos perdían 2,74 mililitros de sangre por día, por 1.000 huevos por gramo de heces, con una desviación standard de $\pm 1,50$ y un rango de 0,82 a 7,14 ml.
Referencias.

RECONOCIMIENTO: Deseamos expresar nuestras gracias a la Sra. Eliodora de Figueroa por su asistencia técnica; al Dr. Feliciano Acevedo por los estudios gastrointestinales en nuestros enfermos y a los Dres. Enrique Benaim Pinto, Otto Lima Gómez, Miguel Pérez Carreño, Alfredo Borjas, Carlos J. Alarcón y Julio Omaña por habernos permitido estudiar estos casos.

TABLA I

EFFECTO SOBRE LA MEDIDA DE LA RADIOACTIVIDAD DE LA
MEZCLA DE Cr. 51 EN AGUA CON HECES DURAS

Radiactividad Cr 51 en agua/heces	Dilución de Cr 51 en agua sola	Radiactividad de Cr 51 en heces	% de diferencia
1 : 2	7,058	6,866	-2.7
1 : 1	7,058	7,056	0.0
1 : 1	7,058	7,149	+0.1
2 : 1	7,058	7,177	+0.3

TABLA II
EXCRECION FECAL Y URINARIA DE Cr. 51 UNIDO A ERITROCITOS EN PACIENTES NO INFESTADOS

Paciente Sexo	Diagnóstico	Heces		Orina		Sanguínea Hemoglob.
		ml de san- gre/día % de la masa	sanguínea/ día			
J. S. M	Leishmaniasis cutánea	0.71	1.22×10^{-2}	24.85	0.43	15.2
A. R. M	Cromoblasto- micosis	1.05	2.03×10^{-2}	38.80	0.75	15.4
J. M. M	Leishmaniasis cutánea	1.76	5.74×10^{-2}	49.09	1.40	14.4
J. R. M	Eritema indura- do de Bazin	1.04	2.01×10^{-2}	32.91	0.64	13.8
L. O. F	Bronconeumonía (en remisión)	1.54	3.45×10^{-2}	28.33	0.59	12.5
M. B. F	Colecistitis crónica	0.28		37.53		12.1
A. A. F	Eritema mul- tiforme	2.14	6.72×10^{-2}	28.30	0.89	13.8
V. S. F	Leishmaniasis cutánea	1.79	4.50×10^{-2}	26.82	0.67	14.0
L. M. F	Placenta previa (hemorragia aguda)	0.42				6.1 4.2
J. F. M	Leucemia aguda	1.98				
Average		1.27	3.67×10^{-2}	33.33	0.77	
Range		0.28	1.22×10^{-2}	24.85	0.43	
		2.14	6.72×10^{-2}	49.09	1.40	

TABLA III

PORCENTAJE DE RECUPERACION EN HECES Y ORINAS DEL Cr. 51 UNIDO A GLOBULOS ROJOS E INTRODUCIDO

Pacientes Sexo, Presen- cia de infec- ción neca- torriásica	Hemoglobi- na sanguínea Gm./100 ml.	Excreta estudiada	Porcentaje de recuperación*								Total	Total acumulativo	
			Días después de la administración										
			1	2	3	4	5	6	7	8			9
A.R. M no	15.4	Heces Orina	0 0.3	- 0	95.3 0	- 0	2.0 0	- 0	0		97.3 0.3	97.6	
J.S. M no	15.2	Heces Orina	- 1.3	0.4 0	29.8 0	- 0	42.5 0	- 0	18.0 0	0.01 0.2	90.7 1.5	92.2	
J.A. M si	15.2	Heces Orina	4.7 0.1	50.8 0.1	24.3 0.1	11.2 0	0.1 0	0			91.1 0.4	91.5	
P.B. M si	12.4	Heces Orina	32.6 0.9	58.9 0.8	11.8 0.7	0					103.3 2.4	105.7	
M.R. F si	5.9	Heces Orina	67.5 4.1	25.4 0	12.1 0	- 0	0 1.2				94.5 5.3	99.8	
J.V. M si	6.2	Heces Orina	84.2 0	14.7 0	0 0						98.9 0	98.9	
A.G. F si	5.4	Heces Orina	0 1.3	83.5 0.3	19.0 0.2	1.0 0	0 0	0			103.5 1.8	105.3	
J.J.M. M si	11.5	Heces Orina	0 0	0 0	0.8 0.8	90.8 90.8	- -	2.1 -	- -	0.5 0	94.2		
Average		Heces Orina									96.7 1.7	98.7	

* 0 = no hay radiactividad presente en la muestra.

- = no se obtuvieron heces.

TABLA IV
PORCENTAJE DE RECUPERACION EN HECES Y ORINA DEL Cr. 51 ADMINISTRADO POR VIA ORAL

Paciente infección sexo	Hemoglo- bina sanguínea	Sustancia adminis- trada*	Excreción estudiada	% de recuperación										Total	Total acu- mulativo
				días											
				1	2	3	4	5	6	7	— 13	14			
A.P. F no	Gm/100 ml 10.1	W	Heces	68.4	13.3	3.6	0.1	0.8	0					86.2	95.2
			Orina	5.1	1.4	1.7	0.6	0.2	—					9.0	
J. M. M no	14.4	W	Heces	87.8	—	6.6	3.4	0.2	0					98.0	99.8
			Orina	1.3	0.3	0.2	—	—						1.8	
L.R. F no	14.3	W	Heces	0	48.0	—	—	—	—	47.7	—	0.1	0	95.8	103.2
			Orina	5.7	0.6	0.8	0.2	0.1	0	0	0	0		7.4	
M.P. F no	13.7	W	Heces	3.9	2.7	—	52.6	0						59.2	60.2
			Orina	0.6	0.3	0.1	0							1.0	
S.B. M si	15.8	E	Heces	35.0	38.6	15.2	0							88.8	89.3
			Orina	0.5	0	0								0.5	
B.M. M si	7.1	E	Heces	0	56.3	43.2	0.2	0						99.7	101.8
			Orina	2.1	0	0	0	—						2.1	

* W = Solución acuosa de cromato sódico; E = Eritrocitos lavados y marcados con Cr
 — 0 = Ausencia de radiactividad en la muestra; — = No se obtuvieron heces

TABLA V
 PERDIDA INTESITAL DE SANGRE EN PACIENTES CON INFECCION ANQUILOSTOMIASICA

Paciente	Edad	Sexo	Huevo de an- quilstomo	Nº total de vermes recu- perados	Hemoglobina sanguínea		Pérdida fecal de sangre	Pérdida de hierro calculada
					al ingreso	al efectuarse el estudio		
			1.000/día		Gm./100 ml		ml./día	mg./día
1*	24	M	8,714	3,534	2.0	2.0	251.5	17.1
2	18	F	2,983	3,043	3.7	6.6	99.3	22.3
3	14	M	6,748	1,641	7.8	9.3	92.0	29.1
4	60	M	1,639	1,121	8.8	8.8	65.0	19.5
5	36	M	1,708	1,684	3.9	3.9	57.2	7.6
6	35	M	3,281	840	3.6	8.9	56.1	6.7
7*	24	F	1,824	258	3.1	11.4	49.8	19.3
8*	56	M	3,511	502	10.2	7.1	46.3	11.2
9	50	M	583		4.9	4.9	39.6	6.6
10	38	M	2,154		2.0	6.9	29.2	6.9
11*	14	M		700	4.6	11.5	25.2	9.4
12	70	M	447		6.2	6.2	24.1	5.1
13	35	M	440	417	7.2	11.4	29.4	11.4
14*	20	F	1,662	72	5.9	9.0	18.9	5.8
15	14	M		609	5.2	12.0	15.4	6.3
16	21	M	482	189	11.6	11.6	7.8	5.1
17	36	M	1,060	509	12.4	15.0	7.3	5.7
18	17	M	421	109	13.4	13.4	4.4	2.0
19	48	M	160	80	16.1	13.9	3.5	1.7
20	15	F	38	67	14.4	14.4	2.8	1.4
21	16	M	56		18.1	18.1	2.0	1.2

* Infección mezclada de anquilostomo duodenale-necator americanus.

TABLA VI

PERDIDA SANGUINEA POR ANQUILOSTOMA Y LA RELACION ENTRE LA PERDIDA DE SANGRE
Y EL NUMERO DE HUEVOS EN INFECCIONES PURAS POR NECATOR AMERICANUS

Paciente	Pérdida fecal de sangre periodo*		Nº de parásitos recupe- rados	Número de huevos periodo		Pérdida de sangre ml. × 10. ² / Necator/día	Pérdida de sangre ml./10 hue- vos día
	A	B		A	B		
	ml./día			1.000/día			
2 (1)	43.17	7.36	2,586	2,983	379	1.38	1.38
2 (2)	7.36	0.96	457	379	75	1.40	2.11
3	96.94	3.47	1,641	6,748	138	5.69	1.41
4 (1)	65.00	8.13	1,023	1,639	147	6.35	3.81
4 (2)	8.13	5.73	98	147	47	2.44	2.40
5	29.02	3.33	1,684	1,708	27	1.53	1.53
6	51.30	8.75	840	3,281	240	5.07	1.40
13	17.87	1.45	417	440	0	3.94	3.73
15	15.40	0.73	609			2.41	
16	7.74	1.84	189	482	0	3.12	1.22
17	7.26	1.23	509	1,060	0.9	1.18	0.57
18	4.41	0.53	109	421	1	3.55	0.92
19	3.49	0.17	80	160	0	4.15	2.08
20	2.74	1.81	67	38	13	1.39	3.72
						3.11	2.02
Promedio							
Rango						1.18-6.35	0.57-3.73
Desviación standard						±1.73	±1.12

* A = Estudio poco antes de la administración del vermífugo; B = Estudio post-vermífugo.

TABLA VII
 PERDIDA SANGUINEA CALCULADA EN LA INFECCION POR ANQUILOSTOMA DUODENALE

Paciente	Pérdida de sangre*	Número de Necator	Pérdida de sangre probable causada por Necator	Pérdida probable de sangre causada por anquilostoma	Nº de anquilostoma	Pérdida de sangre probable por cada anquilostomo
	ml./día		ml./día	ml./día		ml. × 10 ⁻² /día
1	64.18	2,987	92.90	?	124	
7	40.07	76	2.36	37.71	182	20.72
8	29.70	453	14.09	15.61	49	31.86
11	16.72	327	10.17	6.55	32	20.47
14	2.09	53	1.65	0.44	9	4.89

* Calculado según fórmula (1)

SUMMARY

1. Two non-infected and six hookworm-infected subjects were given their own chromiumtagged erythrocytes via a duodenal tube. Fecal recovery was in the average 96.7 per cent of administered radioactivity, and urinary recovery 1.7 per cent.

2. In ten non-infected subjects, two of them with marked anemia, whose circulating erythrocytes had been tagged with Cr 51, there was little fecal excretion of radioactivity (average 1.27 ml. of "blood" per day). Most of the daily excreted radioactivity appeared in the urine (96.3 per cent of the total activity recovered daily, on the average) in the eight non-anemic subjects.

3. A comparison of the radioactivity in blood and feces of patients with Cr 51-marked erythrocytes appears to be a valid way of estimating intestinal blood loss.

4. The circulating erythrocytes of 21 patients with varying severity of hookworm infection were marked with Cr 51, and intestinal blood loss due to the hookworm was measured by comparing stool and blood radioactivity.

5. Blood loss per day in the stool was found to range from 2.0 to 251.5 ml., in rough proportion to the severity of infection.

6. In twelve patients with pure *Necator americanus* infection, the blood loss per day per hookworm was on the average $3.11 \times 10^{-2} \pm 1.73 \times 10^{-2}$ per ml.

7. Five patients were found to harbor mixed *Necator-Ancylostoma* worms. Blood loss per *Ancylostoma duodenale* was estimated to lie in the neighborhood of 0.2 ml, per hookworm per day.

8. Calculated iron loss ranged from 1.2 to 29.1 mg, per day.

9. There was a rough correlation between number of ova in the stools and amount of blood lost. On the average, patients lost 2.74 ml per day per 1000 ova per gram of stool, with standard deviation of ± 1.50 and range of 0.82 to 7.14 ml.

ZUSAMMENFASSUNG

Zwei normalen und 6 mit Hakenwurm infizierten Patienten wurden ihre eigenen mit Chrom markierten Erythrocyten durch Duodenalsonde verabreicht.

Es wurden durchschnittlich 96.7% der verabreichten Radioaktivität im Stuhl und 1.7% im Urin wiedergefunden.

In 10 nicht infizierten Personen, 2 davon mit bedeutender Anaemie, wurden die zirkulierenden Erythrocyten mit Cr 51 markiert; es wurde im Stuhl nur eine unbedeutende Menge von Radioaktivität (entsprechend 1.27 cc. "Blut" täglich) aufgefunden. Die meiste Radioaktivität wurde im Urin gefunden (96.3% der gesamten täglich aufgefundenen Aktivität bei den 8 nicht blutarmen Personen).

Es wird geschlossen, dass ein Vergleich zwischen der Radioaktivität in Blut und Urin in Patienten, deren Erythrocyten mit Cr 51 markiert wurden, eine nützliche Methode der Bestimmung von intestinellem Blutverlust darstellt.

Die zirkulierenden Erythrocyten von 21 Patienten mit Hakenwurm-infektion verschiedener Schwere wurden mit Cr 51 markiert und der Blutverlust im Darm durch den Vergleich von Stuhl und Blutaktivität bestimmt.

Es wurden tägliche Blutverluste zwischen 2.0 und 251.5 cc. festgestellt, die in gewissem Verhältniss zur Schwere der Infektion standen.

Zwölf Patienten mit reiner Infektion mit *Necator americanus* hatten tägliche Blutverluste die durchschnittlich $3.11 \times 10^{-2} \pm 1.73 \times 10^{-2}$ cc. pro Parasit entsprachen.

In 5 Patienten wurden gemischte Infektionen mit *Necator* und *Anquylostomum* festgestellt. Der Blutverlust pro *Anquylostomum duodenale* wurde auf 0.2 cc Blut/Tag geschätzt.

Der errechnete Verlust an Eisen war 1.2-29.1 mg/Tag. Es wurde eine grobe Beziehung zwischen der Anzahl von Eiern im Stuhl und dem Blutverlust festgestellt. Durchschnittlich war dieser 2.74 cc/Tag/1000 Eier/gr Stuhl, mit Schwankungen von 0.82 cc. - 7.14 cc.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Cruz, W. O., Pathogenesis of anaemia in hookworm disease. II. Causes which determine regenerative and degenerative phenomena in this anaemia and contributions towards the elucidation of their inmost mechanism. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 1934, 29, 427.
- (2) Rhoads, C. P., Castle, W. B., Payne, G. C., and Lawson, H. A., Observations on the etiology and treatment of anemia associated with hookworm infection in Puerto Rico. Medicine, 1934, 13, 317.
- (3) Gray, S. J., and Sterling, K., The tagging of red blood cells and plasma proteins with radioactive chromium. J. Clin. Invest., 1950, 29, 818.
- (4) Sterling, K., and Gray, S. J., Determination of the circulating red cell volume in man by radioactive chromium. J. Clin. Invest., 1950, 29, 1614.
- (5) Ebaugh, F. G., Jr., Emerson, C. P., and Ross, J. F. The use of radioactive chromium 51 as an erythrocyte tagging agent for the determination of red cell survival in vivo. J. Clin. Invest., 1953, 32, 1260.
- (6) Wells, H. S., Observations on the blood sucking activities of the hookworm, *Ancylostoma caninum*. J. Parasitol., 1931, 17, 167.
- (7) Nishi, M., Ancylostomiasis ni miru hinketus no seiin ni kansaru jikkenteki kenkyu. Taiwan igakukai zasshi, 1933, 32, 61.
- (8) Roche, M., Letter to the Editor on Genesis of tropical anaemias. Lancet, 1956, I, 965.
- (9) Gibson, J. G., 2nd, and Evans, W. A., Jr. Clinical studies of the blood volume. I. Clinical application of a method employin the azo dye "Evans blue" and the spectrophotometer. J. Clin. Invest., 1937, 16, 301.
- (10) Gibson, J. G., 2nd Peacock, W. C., Seligman, A. M., and Sack, T., Circulating red cell volume measured simultaneously by the radioactive iron and dye methods. J. Clin. Invest., 1946, 25, 838.
- (11) Crosby, W. H., Munn, J. L., and Furth, F. W., Standardizing a method for clinical hemoglobinometry. U. S. Armed Forces Med. J., 1954, 5, 693.
- (12) Caldwell, F. C., and Caldwell, E. L., A dilution-floatation teshnic for counting hookworm ova in field surveys. Am. J. Hyg., 1926, 6, Supplement, 146.
- (13) Hill, R. B., and Benarroch, E. I., Anquilostomiasis y paludismo en Venezuela. Editorial Elite, Caracas, 1940.
- (14) Pérez-Giménez, M. E., Roche, M., and Díaz Ungria, C., Observaciones sobre la coexistencia del *Necator americano* y del *Anquilostoma duodenale* en sujetos parasitados de Venezuela. Acta Científica Venezolana, 1957, 8, 13.
- (15) Owen, C. A., Jr., Bollman, J. L., and Grindlay, J. H., Radiochromium-labeled erythrocytes for the detection of gastrointestinal hemorrhage. J. Lab. & Clin. Med., 1954, 44, 238.

- (16) Owen, C. A., Jr., Cooper, M., Grindlay, J. H., and Bollman, J. L., Quantitative measurement of bleeding from alimentary tract by use of radiochromium-labeled erythrocytes. *Surg. Forum*, 1954, 5, 663.
- (17) Roche, M., Pérez-Giménez, M. E., Layrisse, M., and Di Prisco, E., Gastrointestinal bleeding in cases of hookworm infection studied with radioactive chromium (Cr 51). *Am. J. Digest. Dis.*, In press.
- (18) Bengoa, J. M., and Liendo Coll, F., Consumo de alimentos en Venezuela durante el año 1949. *Arch. Vene. de Nutrición*, 1950, 1, 315.
- (19) Gerritsen, T., Heinz, H. J. and Stafford, G. H., Estimation of blood loss in hookworm infestation with Fe 59: Preliminary Report. *Science*, 1954, 119, 412.