

EVALUACION DE SEROLOGIA PARA SIFILIS EN PACIENTES TUBERCULOSOS

F. MONTOYA, A. ARANA, M. ALVAREZ, N. MARQUEZ

Con el objeto de reevaluar la frecuencia de falsos positivos de serología para sífilis en pacientes tuberculosos, se estudiaron 125 pacientes de ambos sexos, con edades que fluctuaron entre los 15 y los 78 años, 78 de ellos con un año o menos de evolución de la tuberculosis y 47 de más de un año con su enfermedad. Como controles se estudiaron 3.866 sueros de pacientes sin evidencia clínica, actual o pasada, de sífilis o tuberculosis (TBC). Los pacientes tuberculosos y el grupo control fueron sometidos a las pruebas no treponémicas VDRL (venereal disease research laboratory) y RPR (rapid plasma reagin), así como a la prueba treponémica MHA-TP (microhemaglutinación para *Treponema pallidum*). Los resultados obtenidos, 1,3% de falsos positivos en la población control

versus 1,6% en los pacientes tuberculosos, confirman nuestra creencia de que la tuberculosis no es causa importante de falsos positivos en serología no treponémica.

INTRODUCCION

Lo ideal de toda técnica serológica es que sea lo más sensible y específica posible. Sin embargo, en el caso de la sífilis, tanto las técnicas que utilizan antígenos no treponémicos como las que utilizan los treponémicos, presentan el problema de la relativa falta de especificidad, debido en parte a que, en última instancia, no se están utilizando antígenos exclusivos del *Treponema pallidum*. Desafortunadamente, hasta el presente no ha sido posible cultivar el *T. pallidum* y por lo tanto no se ha logrado purificar un antígeno que sea exclusivo de dicho germen y pueda usarse en procedimientos serológicos de rutina.

Existe una amplia gama de enfermedades que pueden causar positividad en las pruebas serológicas para sífilis con antígenos no treponémicos (1-4). Algunos autores han informado hasta un 30% de tales "falsos positivos" (5). Estos casos,

Dr. Fernando Montoya Maya: Profesor Asociado III, Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; Dr. Abraham Arana Chacón: Residente II, Departamento de Medicina Interna, Sección Neurología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia; Srta. Marleny Alvarez Molina: Estudiante de Licenciatura, Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia; Srta. Nelly Márquez Aguilar: Estudiante de Licenciatura, Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad de Antioquia, Medellín.

Solicitud de separatas al Dr. Montoya.

dependiendo de la enfermedad y del tiempo de evolución de la reactividad serológica (menores o mayores de 6 meses), se han catalogado como falsos positivos agudos o falsos positivos crónicos (6).

Los casos falsos positivos agudos se han encontrado en: bronquitis, chancro blando, coccidioidomicosis, difteria, hepatitis, influenza, leptospirosis, linfogranuloma venéreo, malaria, sarampión, mononucleosis infecciosa, parotiditis, pelagra, neumonía viral o bacteriana, fiebre por mordedura de rata, escarlatina, septicemia, dermatomicosis, tripanosomiasis, tifus, tuberculosis, embarazo, vaccinia, varicela, angina de Vincent e inmunizaciones (6).

Los falsos positivos crónicos se presentan en: enfermedad de Addison, envejecimiento, dermatitis atópica, brucelosis, cirrosis, epilepsias avanzadas, histoplasmosis, lepra, narcomanía, anemia perniciosa, infarto del miocardio, tuberculosis, crioglobulinemia, disproteinemias, dermatomiositis, eritema nodoso, glomerulonefritis, tiroiditis de Hashimoto, anemias hemolíticas, púrpura trombocitopénica idiopática, lupus eritematoso, periarteritis nudosa, pénfigo vulgar, fiebre reumática, artritis reumatoidea, sarcoidosis, escleroderma, diabetes mellitus, leucemia linfoide, linfosarcoma, mieloma múltiple, carcinoma metastásico y endocarditis bacteriana subaguda (6).

Los datos específicos de falsos positivos en cada una de las anteriores enfermedades son relativamente antiguos y realizados en una época en que los antígenos disponibles eran extractos lipóideos muy impuros. Así, por ejemplo, en 1952 Moore y Mohr (7), estimaron que el 5% de los pacientes con neumonía neumocócica, tuberculosis, endocarditis, sarampión, varicela y fiebre escarlatina, daban falsos positivos. Los mismos autores estimaban que el 20% de los pacientes con mononucleosis infecciosa daban falsos positivos; en cambio, Cabrera y Carlson (8) no detectaron ni un solo paciente positivo al VDRL en un grupo de

128 y Hoagland (9) encontró solo dos casos positivos al VDRL en 300 individuos con mononucleosis infecciosa. Tuffanelly y col. (10) informaron alrededor de un 30% de falsos positivos en mujeres embarazadas; sin embargo, Salo y col. (11) informaron que menos de uno en dos mil casos de mujeres embarazadas, tienen pruebas falsas positivas, sobre la base de más de 14.100 sueros estudiados. En Colombia, Guzmán (4) en 1976 encontró 1,5% de falsos positivos en embarazadas, utilizando el VDRL. Otras causas comunes de falsos positivos han sido reevaluadas y así tenemos que la vacunación antivariolosa produce de 1% a 2%, la neumonía atípica 2%, la lepra (sobre todo la lepromatosa) 8% a 28%, la narcomanía 20% a 25% y los ancianos de más de 70 años, alrededor del 10% (12).

El propósito de esta investigación es reevaluar el problema de las pruebas falsas positivas en pacientes tuberculosos. La TBC es una importante enfermedad en nuestro medio y en el paciente que la sufre y que presenta serología positiva, si ésta no se interpreta bien, existen dos riesgos: primero, que siendo sifilítico no reciba tratamiento y, segundo, que reciba un tratamiento antisifilítico innecesario.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 125 pacientes tuberculosos de ambos sexos, de diferentes edades y en diferentes estados evolutivos de su enfermedad. Los pacientes provenían del Hospital La María de Medellín (hospital antituberculoso) y llenaron todos los criterios clínicos, radiológicos y microbiológicos para el diagnóstico de la enfermedad. Sólo se incluyeron en el trabajo los pacientes en quienes, por la historia clínica y por el examen físico, se descartó una sífilis previa o actual, obviamente sintomática. Simultáneamente con los casos anteriores se estudiaron 3.866 sueros de pacientes sin evidencia clínica, actual o pasada, de sífilis o TBC, que sirvieron de población control.

Todos los sueros fueron procesados para RPR y VDRL (pruebas no treponémicas cuantitativas); a los sueros reactivos se les practicó la prueba confirmatoria para sífilis MHA-TP (prueba treponémica). Controles reactivos y no reactivos se incluyeron en cada grupo de pruebas y, a su vez, la reactividad de los controles se verificó por FTA-ABC (fluorescent treponemal antibodies in absorbed serum).

Describimos a continuación las técnicas ejecutadas.

VDRL. La prueba utiliza un antígeno no treponémico que consiste en una preparación balanceada de colesterol, lecitina y cardiolipina en alcohol. Se incuban las muestras y sueros controles a 56° C en baño de María durante 30 minutos. Los sueros se reparten en círculos trazados sobre láminas de vidrio; se pipetea 0,05 ml de suero previamente inactivado en cada círculo y se agrega el antígeno con jeringa y aguja calibrada a 60 gotas/ml. Se agitan las láminas en un rotador mecánico ajustable a 180 rpm que circunscriben un círculo de 3/4 de pulgada de diámetro en un plano horizontal, durante 4 minutos. Se lee a continuación con microscopio y aumento de 100x. Grumos grandes o medianos indican un resultado "reactivo", grumos pequeños un resultado "reactivo débil" y ausencia de grumos o ligera rugosidad corresponden a "no reactivo" (13-16).

RPR. Corresponde a la prueba no treponémica denominada "reaginas plasmáticas rápidas". El antígeno es el mismo VDRL estabilizado con fosfatos de sodio y potasio, mertiolate, clorhidrato de colina, EDTA y partículas de carbón. Se reparten las muestras y los sueros controles sobre círculos de 18 mm en tarjetas desechables Brewer mediante dispensadores de plástico que suministran 0,05 ml por gota. Los sueros no requieren inactivación previa y se trabaja a temperatura ambiente. Mediante aguja calibrada a 60 gotas/ml se agrega

una gota de antígeno RPR y se agita con rotador mecánico a 100 rpm durante 8 minutos (16-18). Se hace lectura macroscópica. Una reacción "reactiva" es aquella donde se aprecian grumos pequeños o grandes; en ausencia de grumos la reacción es "no reactiva", aún cuando haya una ligera rugosidad.

MHA-TP. Es una prueba de aglutinación de eritrocitos de carnero sensibilizados con el correspondiente antígeno, producido por anticuerpos contra *T. pallidum*. El suero se mezcla con el diluyente absorbente para remover la mayoría de anticuerpos no específicos. Una vez absorbidos, el suero reacciona con los glóbulos rojos de carnero sensibilizados formando una película de aglutinación homogénea sobre una microcubeta. Las reacciones negativas se ven en forma de anillo o sedimento compacto de células en el fondo de la microcubeta. Se utilizan controles positivos y negativos y se trabaja tanto con células sensibilizadas, como no sensibilizadas para descartar los falsos positivos (19-22).

Consideramos como falsos positivos a aquellos sueros que fueron reactivos por las pruebas no treponémicas y no reactivos por la treponémica. Los análisis de significancia estadística se hicieron mediante la prueba del chi cuadrado (χ^2).

Los reactivos para VDRL fueron adquiridos en la casa Hyland, División de Laboratorios Travenol, Costa Mesa, California, U.S. A.

Los reactivos para RPR fueron adquiridos de la Wescott, Dunning and Hynson, Subsidiary of Becton, Dickinson and Company. Baltimore, Maryland 21201, U.S.A.

Los juegos de reactivos para MHA-TP fueron obtenidos de Ames Company, División of Miles Laboratories, Elkhart, Indiana, U.S.A.

RESULTADOS

Se estudiaron 125 pacientes tuberculosos, 74 hombres y 51 mujeres, cuyas

Tabla 1. Distribución de los pacientes estudiados de acuerdo a sexo y edad.

GRUPOS DE EDAD	SEXO		TOTALES
	Masculino	Femenino	
10-29	33	29	62 (49,6%)
30-49	22	16	38 (30,4%)
50-69	16	5	21 (16,8%)
70 y más	3	1	4 (3,2%)
Totales	74 (59,2%)	51 (40,8%)	125 (100%)

Tabla 2. Distribución de los pacientes de acuerdo al sexo y a la evolución de su TBC.

TIPO DE TBC	SEXO		TOTALES
	Masculino	Femenino	
Aguda	49	29	78 (62,4%)
Crónica	25	22	47 (37,6%)
Totales	74 (59,2%)	51 (40,8%)	125 (100%)

Tabla 3. Distribución de las mujeres de acuerdo al tipo evolutivo de su TBC y a los resultados serológicos.

TIPO DE TBC	SEROLOGIA		TOTALES
	Reactiva	No reactiva	
Aguda	3	26	29 (56,9%)
Crónica	1	21	22 (43,1%)
Totales	4 (7,8%)	47 (92,2%)	51 (100%)

edades fluctuaron entre los 15 y los 78 años; hubo franco predominio de los menores de 50 años (Tabla 1); 78 casos fueron agudos (un año o menos de evolución de su enfermedad) y 47 crónicos (más de un año de evolución); los casos agudos predominaron tanto en el grupo femenino como en el masculino (Tabla 2). El examen físico o el interrogatorio no permitieron establecer la sospecha clínica de sífilis reciente o antigua.

De los 51 pacientes del sexo femenino sólo cuatro dieron resultados serológicos reactivos, por uno cualquiera de los métodos utilizados; dos de ellos sólo por la prueba de microhemaglutinación y los dos restantes por todos los métodos ensayados. Obsérvese que no se presentaron falsos positivos ya que ningún caso fue reactivo exclusivamente por las pruebas no tre-

Tabla 4. Distribución de los hombres de acuerdo al tipo evolutivo de su TBC y a los resultados serológicos.

TIPO DE TBC	SEROLOGIA		TOTALES
	Reactiva	No reactiva	
Aguda	12	37	49 (66,2%)
Crónica	4	21	25 (33,8%)
Totales	16 (21,6%)	58 (78,4%)	74 (100%)

ponémicas. De los cuatro pacientes reactivos tres fueron casos agudos y sólo uno crónico; sin embargo, esta diferencia de distribución no tuvo significancia estadística (Tabla 3).

Dieciséis de los setenta y cuatro pacientes del sexo masculino, dieron resultados reactivos por uno cualquiera de los métodos: tres de ellos sólo por la microhemaglutinación, dos sólo por las pruebas no treponémicas y los once restantes por todos los métodos utilizados. De los dieciséis pacientes reactivos doce fueron casos agudos, incluidos los que dieron exclusivamente pruebas no treponémicas reactivas (falsos positivos) y los cuatro restantes, crónicos. Esta diferencia, como en el caso de las pacientes de sexo femenino, no tuvo significancia estadística (Tabla 4). Los pacientes reactivos a las pruebas no treponémicas lo fueron tanto por el método VDRL como por el RPR.

Condensando la información de las Tablas 3 y 4, sin diferenciar por sexo, se obtuvieron veinte casos reactivos (16%), al menos por uno de los métodos ensayados, de los cuales quince correspondieron a casos agudos y sólo cinco a crónicos. Trece pacientes (10,4%) fueron reactivos por

Tabla 5. Distribución de los pacientes de acuerdo a los resultados de sus serologías treponémicas (MHA-TP) y no treponémicas (VDRL y RPR).

SEROLOGIA TREPONEMICA	SEROLOGIA NO TREPONEMICA		TOTALES
	Reactiva	No reactiva	
Reactiva	13 (10,4%)	5 (4%)	18 (14,4%)
No reactiva	2 (1,6%)	105 (84%)	107 (85,6%)
Totales	15 (12%)	110 (88%)	125 (100%)

los tres métodos ensayados. Cinco (4%) fueron reactivos sólo por microhemaglutinación y los dos restantes (1,6%) sólo por pruebas no treponémicas (Tabla 5).

De los quince casos que dieron pruebas no treponémicas reactivas, nueve tuvieron un título de dos diles (incluyendo en éstos a los que dieron resultados falsos positivos) y seis de cuatro diles. Estas diferencias tampoco fueron estadísticamente significativas (Tabla 6).

Ciento setenta y tres individuos de la población control fueron reactivos a ambas pruebas no treponémicas (VDRL y RPR) con títulos inferiores a ocho diles. De éstos, 123 también fueron reactivos por microhemaglutinación y cincuenta (que corresponden al 1,3% del total de 3.866) no lo fueron (Tabla 7).

Este resultado, 1,3%, es muy similar a los falsos positivos de la población tuberculosa, 1,6%, y el análisis estadístico no reveló diferencias significativas (Tabla 8).

DISCUSION

Actualmente se dispone en Colombia de cuatro métodos serológicos para el diagnóstico de la sífilis. Dos de ellos detectan anticuerpos no treponémicos y reaccionan con un antígeno a base de cardiolipina y colesterol. Estos anticuerpos se pueden determinar mediante la técnica del VDRL o por la de RPR (13, 14, 18). Las otras dos técnicas, la FTA-ABS y la MHA-TP detectan anticuerpos específicos y reaccionan con un antígeno treponémico (19-22).

Se trabajó simultáneamente con la VDRL y la RPR para evaluar el comportamiento de la RPR frente a la VDRL, debido a que en nuestro medio se inició la utilización de este reactivo, que a pesar de ser más costoso, brinda facilidades metodológicas, tales como la de no necesitar inactivación de los sueros, estar listo para uso inmediato y poder hacer una lectura

Tabla 6. Distribución de los pacientes de acuerdo al tipo evolutivo de su TBC y al título de su serología no treponémica.

TIPO DE TBC	TITULO		TOTALES
	2 diles	4 diles	
Aguda	7	4	11
Crónica	2	2	4
Totales	9	6	15

Tabla 7. Distribución de los individuos de la población normal con serología no treponémica reactiva de acuerdo a la reactividad de su serología treponémica.

SEROLOGIA TREPONEMICA	SEROLOGIA NO TREPONEMICA REACTIVA
Reactiva	123 (71,1%)
No reactiva	50 (28,9%)
Totales	173 (100%)

Tabla 8. Falsos positivos en población normal y tuberculosa.

TIPO DE POBLACION	FALSOS POSITIVOS		POBLACION TOTAL ANALIZADA
	Nº	%	
Tuberculosa	2	1,6	125
Normal	50	1,3	3.866

macroscópica de los resultados. La OMS reconoce este reactivo y lo incluye en su último manual de procedimientos serológicos para el diagnóstico de la sífilis (23).

El estudio demostró el comportamiento paralelo del RPR frente al VDRL, tanto cualitativa como cuantitativamente; nuestros resultados se asemejan, al menos en la parte cualitativa, al trabajo de Urrea y col. (24) donde la coincidencia fue de un 97,7% entre el VDRL y el RPR, pero de sólo 66,7% en el procedimiento cuantitativo.

Se utilizó como prueba treponémica al MHA-TP, también por sus facilidades metodológicas, menor costo y la lectura de los resultados más objetiva que con el FTA-ABS. Además, actualmente se reconoce que este procedimiento, excepto en la sífilis primaria, es tan sensible como el FTA-ABS y la OMS también la incluye en el manual ya aludido (23, 25, 26). La Tabla

Tabla 9. Sensibilidad comparada del FTA-ABS y el MHA-TP en los diferentes estadios de la sífilis (29).

PRUEBA	ESTADIO DE LA ENFERMEDAD		
	Primaria	Secundaria	Terciaria latente (cardiovascular o neurosífilis)
FTA-ABS	85 %	99 %	98 %
MHA-TP	65 %	96 %	95 %

9 nos muestra la sensibilidad comparada del FTA-ABS y el MHA-TP en los diferentes estadios de la sífilis.

Garner y col. (27) y Kilmaly y col. (28), sin embargo, han demostrado la menor especificidad del MHA-TP frente a sueros reconocidos previamente como falsos positivos. En el estudio de Garner con 274 sueros falsos positivos, no reactivos tanto por FTA-ABS como por TPI (inmovilización del *Treponema pallidum*), 31 casos (11,3%) dieron resultados positivos con el MHA-TP. A pesar de lo anterior, la población normal analizada se comportó en forma similar a la población tuberculosa (1,3% vs. 1,6%) y estos datos son similares a los referidos por Bracero y col. (29) donde se consignan niveles de falsos positivos en población normal, utilizando MHA-TP, no mayores del 1,5%. Esto nos confirma, por lo tanto, la hipótesis de que la tuberculosis no es causa de falsos positivos.

Este trabajo demostró además, que el sexo o la cronicidad de la enfermedad tuberculosa tampoco son factores predisponentes a falsos positivos biológicos. En conclusión, a un paciente tuberculoso que presente una serología no treponémica reactiva, hay que hacerle una buena evaluación clínica y el adecuado seguimiento serológico, antes de descartar la sífilis, por considerar que sus resultados son falsos positivos biológicos. Se puede aceptar la microhemaglutinación (MHA-TP) como una buena prueba confirmatoria en presencia de pacientes tuberculosos y con serologías no treponémicas reactivas y el RPR se puede utilizar como prueba tamiz de

sífilis en pacientes tuberculosos ya que se relaciona exactamente con los resultados obtenidos por VDRL.

SUMMARY

Treponemal (MHA-TP) and non-treponemal (VDRL and RPR) serologic tests were performed in 125 sera from patients with active pulmonary tuberculosis. Sera from 3866 healthy donors without a previous history of syphilis or TBC were studied. The frequency of BFP was 1.6% in the tuberculosis patients and 1.3% in the control group. Results showed that tuberculosis can not be considered as a cause of non-treponemal false-positive reactions.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— CATTERRALL RD. Systemic disease and biological false positive reaction. Br J Vener Dis 1972; 48: 1.
- 2.— DANDOY S. Initial serological reactions in infectious syphilis. Br J Vener Dis 1967; 43: 105.
- 3.— GOLDMAN JN, LANTZ MA. FTA-ABS and VDRL slide test reactivity in a population of nuns. JAMA 1971; 217:53.
- 4.— GUZMAN AM. Procedimientos de laboratorio. En: Sífilis. Diagnóstico y manejo serológico. Series Manuales de Bacteriología Médica N° 2. Bogotá: INS 1976; 89.
- 5.— TOOD DI, SANFORD HJ. Clinical diagnosis by laboratory methods. W.B. Saunders Company, 5 th. ed. Barcelona: Salvat Editores S.A.; 1972:1063-1064.
- 6.— CAVE VG, NIKITAS JA. Venereal diseases. Clinical and laboratory diagnosis. Mount Sinai J Med 1976; 43:796-829.
- 7.— MOORE JE, MOHR CHF. Biologically false positive serologic test for syphilis: type, incidence and cause. JAMA 1952; 150: 467-473.
- 8.— CABRERA HA, CARLSON J. Biologic false-positive reactions and infectious mononucleosis. Amer J Clin Path 1968; 50: 643-645.
- 9.— HOAGLAND RJ. False positive serologic in mononucleosis. JAMA 1963; 185: 783-785.
- 10.— TUFFANELLY DL, WEPPEP KD, PUTFER J et al. Fluorescent treponemal-antibody test: studies of false positive reactions to test for syphilis. New Eng J Med 1976; 276:258-262.
- 11.— SALO OP et al. False positive serological tests for syphilis in pregnancy. Acta Dermatovener (Stockholm) 1969; 49:332-335.
- 12.— GROSMAN U, PEERY TM. Biologically false positive serologic tests for syphilis due to smallpox vaccination. Amer J Clin Path 1969; 51: 375-378.
- 13.— HARRIS A, ROSEMBERG AA, RIEDEL IMA. Microflocculation tests syphilis using cardiolipin antigen. Preliminary report. J Ven Dis Inform 1946; 27: 169-174.

- 14.— HARRIS A, ROSEMBERG AA, DEL VECCHIO ER. The VDRL slide flocculation test for syphilis. II A supplementary report. *J Ven Dis Inform* 1948; 29: 72-75.
- 15.— PANGBORN MC. A new serologically active phospholipid from beef heart. *Proc Soc Exp Biol Med* 1941; 48: 484-486.
- 16.— U.S. Department of Health, Education and Welfare. Manual of tests for syphilis. Washington: 1969.
- 17.— PORTNOY J, GARSON W, SMITH CA. Rapid plasma reagin test for syphilis. *Public Health Rep* 1957; 72: 761-766.
- 18.— PORTNOY J, GARSON W. New and improved antigen suspension for rapid reagin tests for syphilis. *Public Health Rep* 1960;75:985-988.
- 19.— TOMISAWA T, KASAMATSU S. Hemagglutination test for diagnosis of syphilis: a preliminary report. *Jap J Med Sc Biol* 1966; 19: 305.
- 20.— JOHNSTON NA. *Treponema pallidum* hemagglutination test for syphilis: evaluation of a modified micro-method. *Br J Vener Dis* 1972; 48:474-478.
- 21.— LESINSKI J, KRACH-KACZMARCZYK J. Evaluation of *Treponema pallidum* hemagglutination test (TPHA) for syphilis: a comparison with an FTA-ABS test in syphilis and problem sera. *WHO/VDT/RES* 1973; 73: 298.
- 22.— LESINSKI J, DUDZISZ B, KADZIEWICS E, KRACH J, SZYMACZAK M. Investigation on the specificity of TPHA test and its value as a screening and verification test in syphilis diagnosis. *WHO/VDR/RES* 1974; 74: 317.
- 23.— Organización Mundial de la Salud. Manual de reacciones para el diagnóstico de la sífilis. Publicación científica N° 311, 1975.
- 24.— URRA L, GONZALEZ C, GUZMAN V, LOBOS H. Estudio comparativo de las técnicas RPR (Rapid Plasma Reagin) círculo en tarjeta y VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) en lámina para el diagnóstico serológico de la sífilis. *Bol Inst Bact Chile* 1975; 17(1-2): 21-30.
- 25.— LESINSKI J, KRACH J, KADZIEWICZ E. Specificity, sensitivity and diagnostic value of the TPHA test. *Br J Vener Dis* 1974;50:334-340.
- 26.— RUDOLPH AH. The microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies (MHA-TP), a new treponemal test for syphilis, where does it fit? *JAM Vener Dis Assoc* 1976; 3: 3-8.
- 27.— GARNER MF, BACKHOUSES JL, DASKALOPOVLOUS G, WALCH JL. The *Treponema Pallidum* hemagglutination (TPHA) test in biological false positive and leprosy sera. *J Clin Pathol* 1973; 26: 258-260.
- 28.— KILMALY K, PRERAV H. Evaluation of the *T. pallidum* hemagglutination (TPHA) test for syphilis on "problem sera". *Acta Derm Vener* 1974; 54: 303-310.
- 29.— BRACERO L, WORMSER G, BOTTONE E. Serologic test for syphilis: a guide to interpretation in various stages of diseases. *Mount Sinai J. Med* 1979; 46 (3): 289-292.