Rev. Méd. Hosp. Nal. Niños, 1(2): 73-89, 1966

El Laboratorio en la Fibrosis Quística*

Dr. Luis R. Mora** Dra. Cecilia Lizano**

A nuestros hospitales ingresan constantemente muchos pacientes con diversos estados patológicos, cuya sintomatología hace pensar a los médicos, en afecciones en las cuales las secreciones externas del organismo están alteradas, o sea una posible fibrosis quística. Muchos de esos enfermos han venido muriendo sin que se haya establecido un diagnóstico preciso de su padecimiento, porque no es sino hasta ahora que contamos con métodos apropiados para el estudio de esa interesante patología. Hasta hace relativamente muy poco tiempo se desconocían esos métodos de diagnóstico.

Gracias a una creciente inquietud del Personal del Laboratorio del Hospital Nacional de Niños y del Cuerpo Médico de la Institución, empezamos a investigar y perfeccionar algunos métodos y a revisar literatura acerca de trabajos llevados a cabo en diversas partes y actualmente contamos con una serie de técnicas que nos han permitido contribuir a aclarar, en parte, estas afecciones.

Los métodos empleados no son complicados; son bastante exactos y con la aplicación de todos o de algunos de ellos, hemos llegado a obtener el diagnóstico correcto de los dos primeros casos de fibrosis quística que se han descrito en Costa Rica y a descartar ese diagnóstico en muchos otros dudosos y graves.

Nosotros desconocemos hasta el momento la frecuencia exacta o aproximada de esta enfermedad en nuestro país. Sí es evidente que son muchos los casos, la mayoría gravemente enfermos, en que la clínica aparenta este estado patológico y es necesario descartar o afirmar la afección. El problema de esta enfermedad en algunos lugares ha motivado la creación de sociedades que se dedican a estimular la investigación y a solucionar algunos problemas sobre la misma; tal es el caso de los Estados Unidos de Norteamérica, que cuentan con The National Cystic Fibrosis Research Foundation, con sede en la ciudad de New York, con quienes hemos conseguido estar en contacto para adquirir literatura y algunos informes para la realización de este trabajo.

El estudio en algunos centros de población (11) ha revelado que la frecuencia de la fibrosis quística fluctúa entre 0,7 y 1,0 caso por 1.000 niños na-

---

* Trabajo realizado en el Laboratorio del Hospital Nacional de Niños, San José, Costa Rica.

** Laboratorio Hospital Nacional de Niños.

cidos vivos. Esto significa que una de cada 16 a 20 personas son portadoras del gen anormal, el que resulta extraordinariamente común. Como los homocigotos para la fibrosis quística mueren siempre antes de llegar a la edad de la reproducción, los genetistas han planteado esta pregunta: ¿Cómo puede mantenerse esta elevada frecuencia del gen? Para responderla se han propuesto dos teorías: 1. Los heterocigotos tienen mayor capacidad de supervivencia o de reproducción, o ambas en comparación con la población general; 2. Hay elevado porcentaje de mutación para este gen. Como no hay pruebas específicas que apoyen la primera hipótesis, tenemos que suponer que la segunda es la válida.

La fibrosis quística, se trasmite como un carácter recesivo autosómico. Los portadores heterocigotos del carácter anormal se identifican de dos maneras: 1. el contenido de electrolitos de la secreción sudoral (muchos padres de los niños enfermos presentan moderadas elevaciones); 2. estudio enzimático (en algunos de ellos se encuentran disminuidas las enzimas del jugo duodenal). El primer trastorno se halla con mucha regularidad.

Según GOCHBERG & COOKE, citado en YI-YUNG (11) la causa de la enfermedad fibroquística sería la carencia genéticamente determinada de una enzima, coenzima o sustrato de las células secretoras, con la consiguiente alteración en la liberación de energía. En consecuencia, la composición de las secreciones es anormal. Sea como fuere, el trastorno generalizado de la función de las glándulas exocrinas es la causa de todos los signos y síntomas de la enfermedad. Las modificaciones del contenido de electrolitos del sudor origina la postración por el calor. La ausencia de enzimas pancreáticas produce el íleo por meconio en el recién nacido, y es la causa de la mala absorción y utilización de los alimentos en los niños mayores. Este trastorno exocrino es probablemente también la causa de las alteraciones en la composición de las mucoproteínas. La ausencia de secreciones mucosas explica las lesiones pulmonares, las que a su vez son origen del cor pulmonale.

De todo lo que antecede se deduce que las carencias de tripsina y de amilasa no son los trastornos enzimáticos fundamentales de esta enfermedad, sino simplemente reflejo de un proceso de carácter más primordial.

Los investigadores que se dedican al estudio de esta patología, continúan buscando nuevas alteraciones que permitan ser puestas en evidencia y lograr un diagnóstico más rápido y preciso.

En la literatura hasta hace muy poco tiempo se han usado, para denominar esta afección, los nombres de "enfermedad fibroquística del páncreas" y de "mucoviscidosis". Los nombres usados en las anteriores nominaciones son incorrectos, o se consideran así, porque en este estado patológico la fibrosis se presenta además del páncreas en otras vísceras y el término mucoviscidosis, no es correcto porque la enfermedad no sólo afecta las glándulas mucosas, sino también las glándulas serosas. Por esta razón, The National Cystic Fibrosis Research Foundation, recomienda y ha sido aceptado en forma general, el término "Fibrosis Quística", que será el que usaremos en este trabajo.

MATERIAL Y METODOS

MATERIAL

Los casos que sirvieron para este estudio fueron setenta niños, procedentes de diversos lugares del país y que fueron internados en el Hospital Nacional de Niños, para descartar el diagnóstico de fibrosis quística. Su distribución por edad y sexo se aprecia en el Cuadro 1.

CUADRO 1

Distribución de los casos según edad y sexo

Edad	Sexo masculino		Sexo femenino	
	Nº	%	Nº	%
2 días	0	0	1	1,4
2 días - 2 meses	0	0	1	1,4
2-4 meses	0	0	1	1,4
4-6 meses	11	15,9	3	4,3
6-8 meses	3	4,3	1	1,4
8-10 meses	0	0	0	0
10-12 meses	7	10,0	6	8,5
1-2 años	8	11,5	9	12,8
2-3 años	4	5,7	4	5,7
3-4 años	4	5,7	1	1,4
4-5 años	1	1,4	0	0
5-11 años	2	2,8	3	4,3
TOTALES	40		30	—

Los Médicos Pediatras, para escoger los casos, se basaron en la sintomatología sugestiva de fibrosis quística. El Cuadro 2, muestra los signos clínicos más frecuentes, en el grupo estudiado.

Un alto porcentaje de los casos estudiados (78 %) fueron enviados al Laboratorio con el diagnóstico de probable "mucoviscidosis" o "enfermedad fibroquística del páncreas". En el resto de los casos el diagnóstico se consideró como posible y no como probable.

METODOS:

Usamos para la investigación preliminar semicuantitativa de cloruros en sudor, la placa de agar nitrato de plata con sudor obtenido de una mano del paciente a la que se le aplicó una bolsa plástica según recomiendan SCHWACHMAN et al. (9).

Dados los inconvenientes y peligros que presenta la obtención de sudor para estudios cuantitativos (1-6-8-9), colectamos el sudor aplicando el sistema de iontoforesis que a continuación describiremos y que fue fabricado por nosotros siguiendo el esquema de GIBSON y COOCKE (5), modificado por BOZZO et al. (2).

La determinación cuantitativa propiamente dicha, de electrolitos, se hizo

CUADRO 2

Signos clínicos presentes en los casos estudiados

Signo	Nº	%
Desnutrición	37	52,8
Bronconeumonía	27	38,5
Diarrea infecciosa	26	37,1
Bronquitis	20	28,5
Desequilibrio hidro electrolítico	14	20,0
Parasitosis intestinal	12	17,1
Anemia	11	15,7
Prolapso rectal	9	7,1
Tuberculosis pulmonar	5	12,8
Síndrome pluricarencial	4	5,7
Síndrome de mala absorción	3	4,3
Enfermedad celíaca	3	4,3
Insuficiencia respiratoria	3	4,3
Insuficiencia cardíaca	3	4,3
Alergia a la leche	2	2,8
Estado gripal	2	2,8
Cianosis	1	1,4
Ileo meconial	1	1,4
Ileo paralítico	1	1,4
Megacolon	1	1,4

con el método de titulación de cloruros de WILSON y BALL (7) y para algunas cuantificaciones de sodio se usó el espectrofotómetro de llama fabricado por Baird Atomic Corp.

Las determinaciones semicuantitativas de tripsina en heces fueron realizadas en película fotográfica y las determinaciones cuantitativas por titulación, ambos con los métodos recomendados por SCHWACHMAN et al. (10).

Para determinar la presencia de mucoproteínas anormales en el jugo duodenal seguimos las recomendaciones de DI SANT'AGNESE et al. (4).

Dado que algunos de estos métodos no son muy conocidos nos permitimos hacer la descripción de algunos de ellos.

TITULACION DE CLORUROS EN MUESTRAS OBTENIDAS POR MEDIO DE IONTOFORESIS

1 — Colección de la muestra: La colección de la muestra se llevó a cabo con un aparato fabricado por nosotros siguiendo el esquema de GIBSON y COOCKE (5), modificado por BOZO et al. en Chile (2), y que puede apreciarse en la Figura 1. Este método aprovecha la propiedad de la pilocarpina de estimular la producción de sudor de las glándulas sudoríparas.

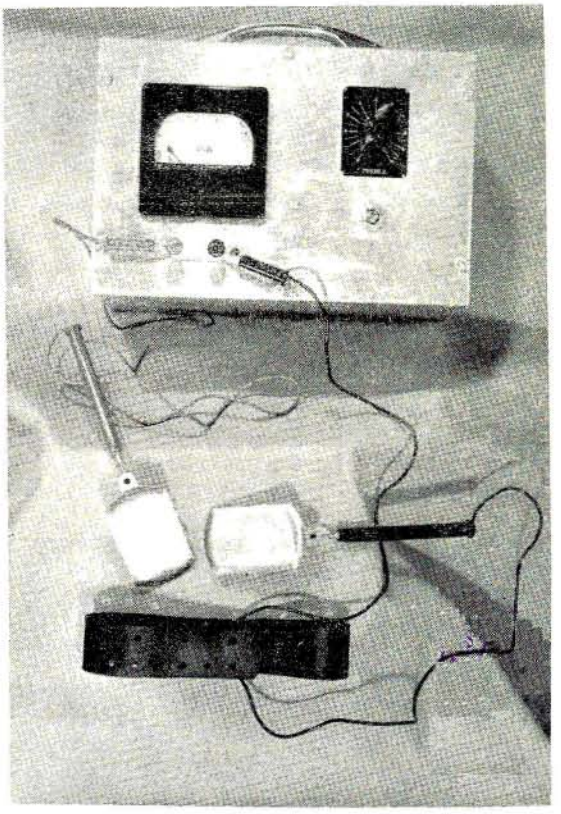


Figura 1.

Implementos preparados por nosotros para practicar la iontoforesis (fuente eléctrica, electrodos y faja de hule).

a) Descripción del aparato

Para hacer penetrar la pilocarpina en la región a estimular, se aprovechó la propiedad que tienen los iones de desplazarse dentro de un campo eléctrico, siguiendo una fuente de poder que permitiera la aplicación de un voltaje variable de corriente continua entre 0 y 22 voltios, junto con un instrumento que permitiera el control de la intensidad de la corriente aplicada.

Como fuente de energía se usó una pila de carbón y zinc de 22,5 volts.; esto permitió tener un aparato portátil.

Como electrodos se usaron, tanto para el positivo como para el negativo, electrodos corrientes de electrocardiografía, teniendo cada uno 12 cm^2 de superficie útil. Los electrodos se fijaron a los brazos empleando para ello cinta de goma de tipo corriente, de la usada en electrocardiografía.

b) Procedimiento para la colección

Con los electrodos y la fuente de poder se crea un campo eléctrico en la zona en que se va a efectuar la iontoforesis (Figura 2). Sobre el electrodo positivo se colocan dos hojitas de papel filtro de 4 cm por 3 cm y sobre ellas se dejan caer algunas gotas de solución de policarpina. En el electrodo negativo

se colocan tres hojas de papel filtro que se impregnan con solución de bicarbonato de sodio O,1 Normal.

Se elige la zona adecuada, que puede ser el antebrazo o el muslo; se limpian con agua destilada desionizada y sobre ella se aplica el electrodo positivo. El electrodo negativo se aplica en la cara opuesta y ambos electrodos se aseguran mediante la cinta de goma.

Se conecta la fuente de poder y se va moviendo el potenciómetro lentamente hasta obtener de 1 a 1,5 mA de corriente, la cual se mantiene por cinco minutos. Luego se corta la corriente, se quitan los electrodos, se limpia con agua destilada la zona que estaba cubierta con el electrodo positivo y se colocan tres hojitas de papel filtro previamente pesadas, que se cubren con un trozo de polietileno, el cual se fija a la piel con tela adhesiva.

Se deja esto por espacio de treinta minutos, más o menos, y luego se extraen con una pinza los papeles filtro y se introducen en un pesafiltros para una nueva pesada. La diferencia entre las dos pesadas corresponde a la cantidad de sudor total.

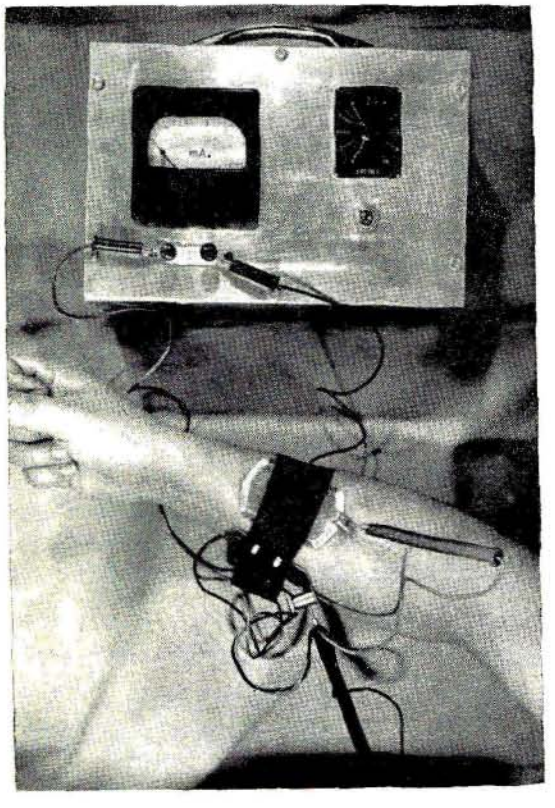


Figura 2.

Aparato fijado al antebrazo y listo para aplicar la iontoforesis.

c) Procedimiento para la titulación de cloruros

Se empleó el método de WILSON y BALL, para cloruros en sangre (7), en el que se precipitan los cloruros por adición de nitrato de plata en presencia de ácido nítrico. El exceso de nitrato de plata se determina por valoración con tio-

cianato de amonio, usando alumbre férrico como indicador.

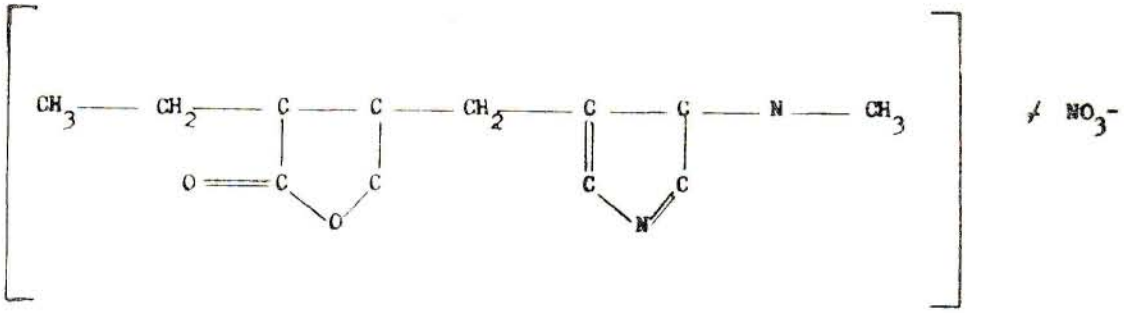
d) Interpretación.

Valores superiores a 70 - 80 mEq/L de cloruro en el sudor, son confirmatorios de fibrosis quística, junto con un cuadro clínico compatible con el mismo diagnóstico.

e) Pilocarpina

La pilocarpina empleada fue nitrato de pilocarpina al 0,5%.

El nitrato de pilocarpina C^{11} H^{16} N^2 O^2 HNO^3 es el nitrato de un alcaloide obtenido de las hojas secas del *Pilocarpus jaborandi* o del *Pilocarpus microphyllus.*



Fórmula química de la pilocarpina

Es un estimulante de los músculos lisos y células glandulares inervadas por el sistema parasimpático (colinérgico) y por lo tanto participa de muchas de las propiedades de la acetil colina y la muscarina. En la práctica se usa por su acción sobre la pupila y como estimulante de la secreción salival y sudorípara ya que provoca una diaforesis copiosa. Su efecto es antagonizado por la atropina (3).

RESULTADOS

De acuerdo con el orden lógico en que se realizaron las pruebas de laboratorio para confirmar o descartar el diagnóstico de fibrosis quística, en los casos sospechosos, hicimos la prueba semicuatitativa para electrolitos en sudor usando la placa de agar nitrato de plata. De esa manera encontramos que de los setenta casos, en cincuenta y tres se descartaba el diagnóstico, ya que este test dio negativo. Como se aprecia en el Cuadro 3, de los diecisiete casos positivos, tres presentaron 4 +; dos tuvieron 3 +; en ocho hubo 2 + y en cuatro hubo 1 +.

CUADRO 3

Resultados de las pruebas semicuantitativas para electrolitos en sudor

Resultado	Nº de casos	%
4 +	3	4,3
3 +	2	2,8
2 +	8	11,4
1 +	4	5,7
Negativo	53	75,7

Con esa base se procedió a realizar determinación cuantitativa de cloruros, en los casos más sospechosos de esos diecisiete con prueba semicuantitativa positiva, de 2 + o más.

Fueron trece los casos que tuvieron prueba semicuantitativa con más de 2 +. En el Cuadro 4, se aprecian los valores cuantitativos de sólo doce de ellos, debido a que uno murió antes de que pudiera realizarse esa determinación.

En diez de estos casos se descartó la posibilidad de una fibrosis quística, por tener valores normales de cloruros en sudor (entre 13 y 53 mEq/L).

De acuerdo con BARBERO et al. (1), son datos de valor diagnóstico solamente los de los casos 1 y 2, con más de 80 mEq/L, cifra que se considera diagnóstica. Esos casos 1 y 2, que eran hermanas, murieron en el Hospital y en su autopsia se comprobó ampliamente el diagnóstico establecido con anterioridad.

CUADRO 4

Resultados cuantitativos de electrolitos en sudor en doce casos con prueba semicuantitativa positiva 2 + o más

Caso Nº	Cloruros (mEq/L)
1	99,9
2	111,0
3	13,0
12	27,2
13	22,8
19	37,0
26	53,0
27	35,4
28	30,8
33	28,0
60	31,0
67	42,0

La determinación cualitativa de tripsina en heces practicada sobre película fotográfica, nos dio resultados contradictorios. La razón de esto fue el hecho de que es un método muy inseguro porque los resultados son difíciles de interpretar. Es de suponer que en los casos de fibrosis quística no habrá digestión de la

gelatina, pero el área de contacto del material con la película podría suavizarse y desprenderse, casi en igual forma que si hubiese digestión, lo que hace que el resultado no sea seguro.

La determinación cuantitativa de tripsina en heces dio resultados considerados como diagnósticos, en los casos diagnosticados por otros métodos y normal en todos los demás.

CUADRO 5

Resultados de las pruebas cuantitativas para tripsina en heces

Resultados	Nº de casos	%
Negativo	2	4,6
Digestión en dil. 1:10	5	7,1
Normal	62	88,5

De acuerdo con la interpretación de este método, tiene valor diagnóstico que en ninguno de los tubos haya digestión de la gelatina, por ausencia de tripsina, hecho que observamos en los casos que fueron confirmados como fibrosis quística, en estudios anatomopatológicos. La digestión en dilución 1:10, se considera de valor dudoso. En nuestro estudio esos casos correspondieron a otro diagnóstico.

Los resultados de la aplicación de este método, nos dan base suficiente para recomendarlo como de gran valor diagnóstico.

La determinación de una mucoproteína anormal en el jugo duodenal, se realizó solamente en cuatro casos ya que la técnica llegó a nuestras manos cuando ya este trabajo estaba muy avanzado. De ellos uno fue positivo. Se trató de un caso en el que el paciente murió y aunque no se le hizo autopsia, presentaba un cuadro clínico tan evidente que hizo que los pediatras aseguraran que se trataba de una fibrosis quística.

Como ya se mencionó antes, esta prueba se ha llegado a considerar patognomónica por presentarse en el 98 a 100% de los casos confirmados. Nuestra experiencia con este método no fue lo suficientemente amplia como para que podamos emitir una opinión al respecto. Esperamos que en un futuro cercano y con base en estudios más amplios podamos referirnos a la bondad y utilidad de este método.

De acuerdo con los casos anteriormente expuestos, el Laboratorio estableció el diagnóstico de fibrosis quística en dos de los setenta casos sospechosos. Estos son los casos 1 y 2, hermanas, que murieron en el Hospital y en las cuales se confirmó el diagnóstico mediante el minucioso estudio realizado postmorten.

En las Figuras 3 a 11 se pueden apreciar diferentes aspectos de varias vísceras de ambos casos, en que se observa la fibrosis y otras alteraciones que caracterizan a esta enfermedad.

Estas fotografías fueron tomadas del material que muy gentilmente nos facilitó el Departamento de Anatomía Patológica del Hospital San Juan de Dios.

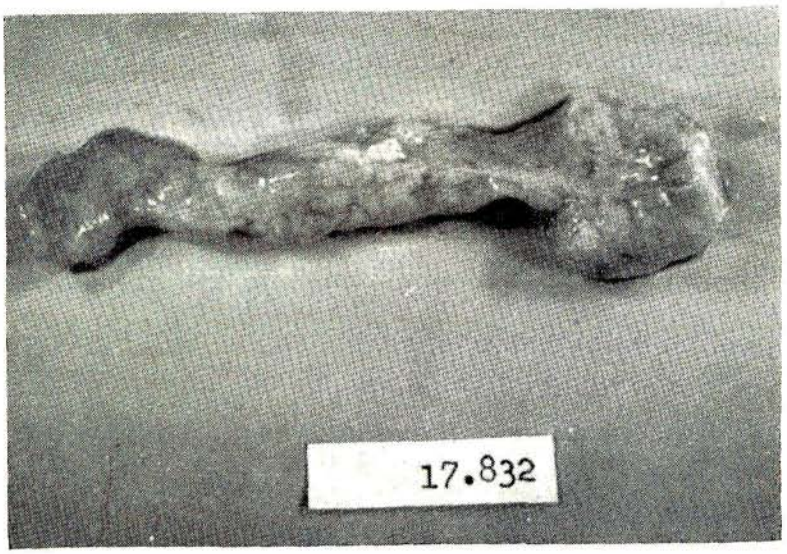


Figura 3.
Caso N° 1. Páncreas en que se aprecian fácilmente las zonas quísticas.

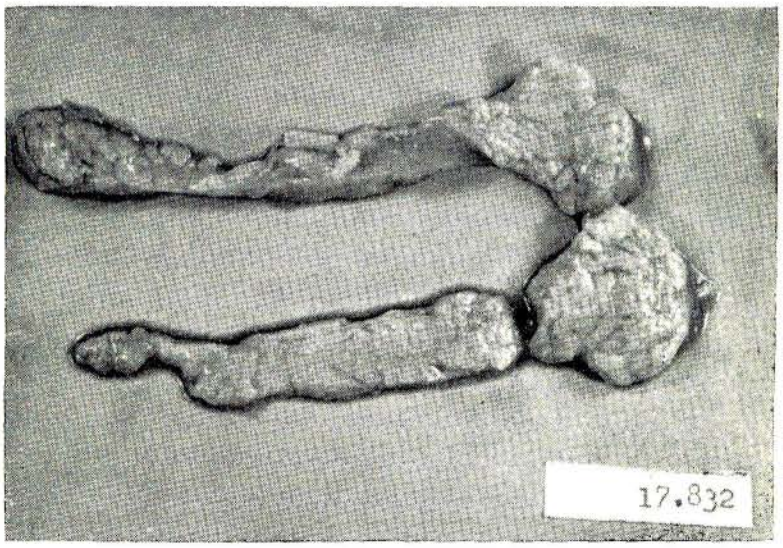


Figura 4.
Caso N° 1. Páncreas abierto mostrando claramente las zonas de fibrosis.

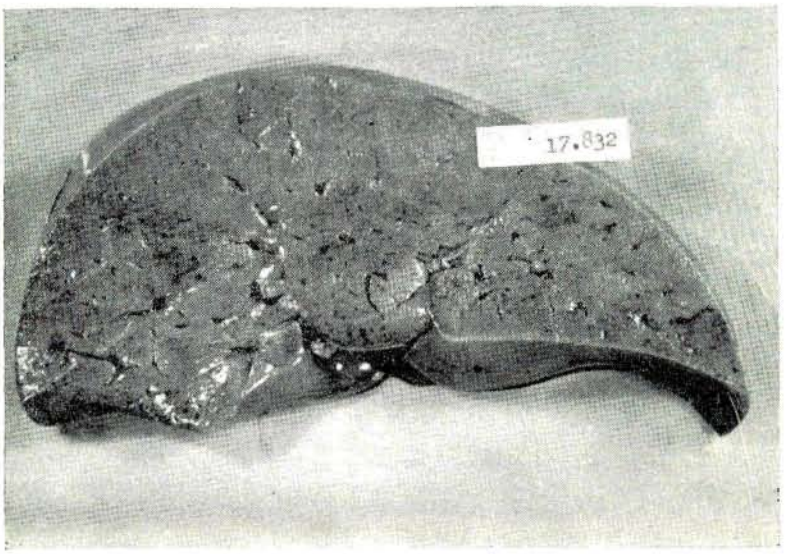


Figura 5.

Caso Nº 1. Corte de hígado en que se nota la marcada esteatosis presente en la fibrosis quística.

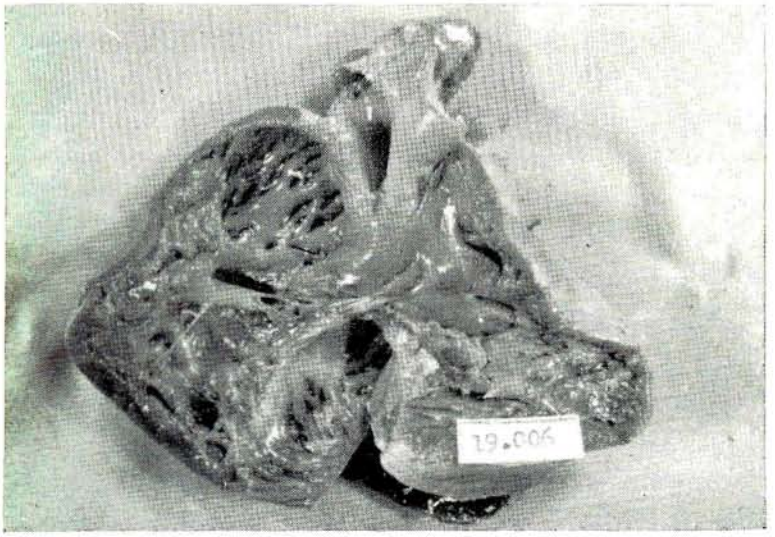


Figura 6.

Caso Nº 2. Corazón. Se observa hipertrofia del ventrículo derecho (cor pulmonale).

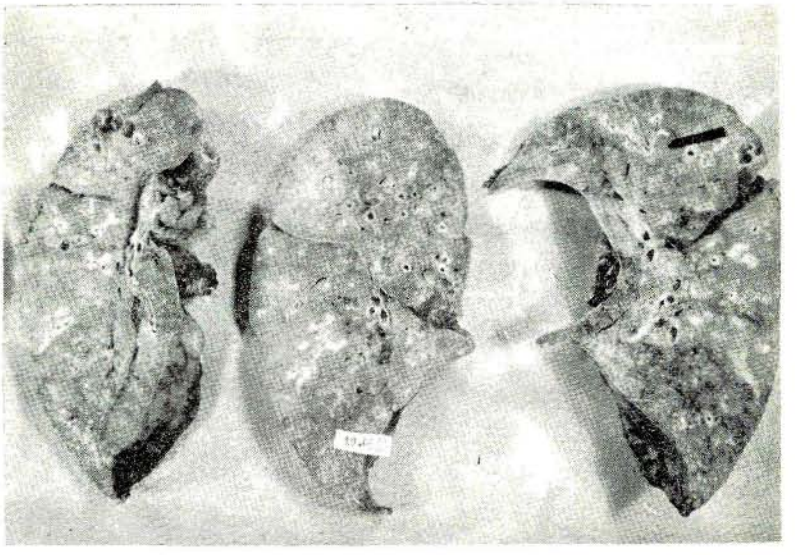


Figura 7.

Caso N° 2. Pulmones. Se aprecia cuadro de bronconeumonía con abcesos y bronquios dilatados por las secreciones espesas características de la fibrosis quística.

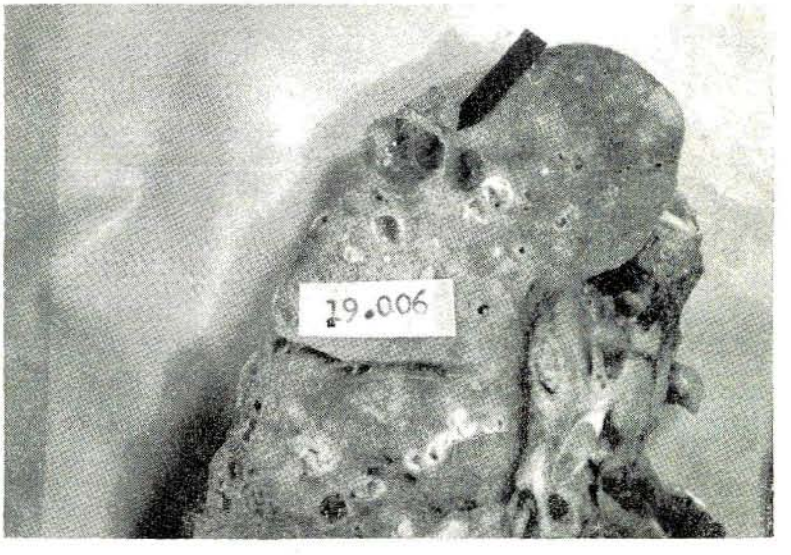


Figura 8.

Caso N° 2. Pulmón. Se aprecia enfisema. La flecha indica puntos de esa lesión.

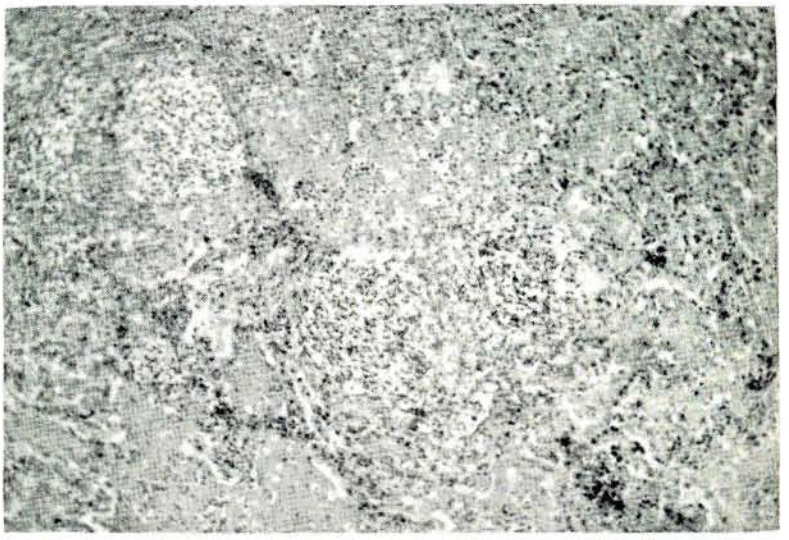


Figura 9.

Caso Nº 2. Pulmón. Corte histológico mostrando bronconeumonía, uno de los problemas más ligados a la fibrosis quística.

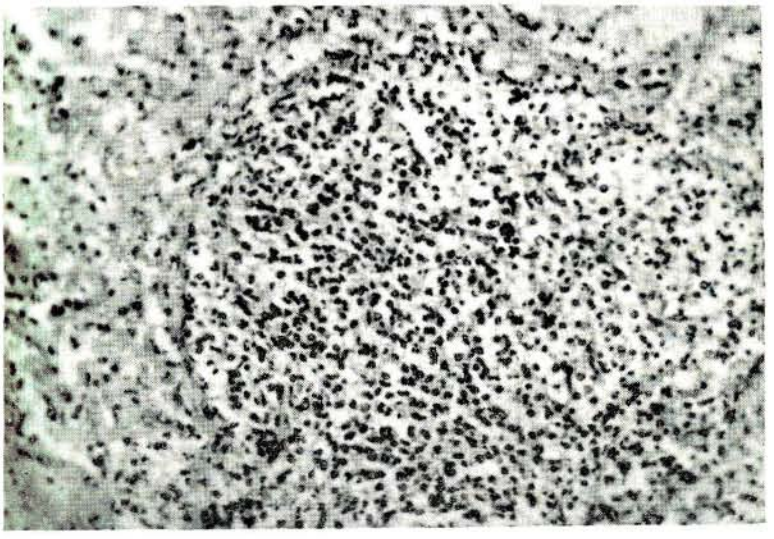


Figura 10.

Caso Nº 2. Pulmón. Corte histológico. Foco bronconeumónico.

Figura 11.

Caso Nº 2. Pulmón. Corte histológico. Foco bronconeumónico, con abcesos.

DISCUSION

De acuerdo con nuestra experiencia, adquirida a través de este estudio, creemos que el método semicuantitativo para cloruros en placa de agar nitrato de plata, es una prueba de gran valor y que puede ser el primer examen de laboratorio que se realice a un paciente cuando se sospecha una fibrosis quística.

Permite este método descartar rápidamente el caso negativo, como pudimos hacerlo nosotros en un 75 % de los casos. De esta manera reduce en esa misma proporción el número de casos a los cuales deba hacerse la determinación cuantitativa de los electrolitos en el sudor.

Esta determinación cuantitativa es la que consideramos el examen de laboratorio más exacto y de mayor valor diagnóstico. Si comparamos los dos anteriores métodos, veremos como, del grupo de doce pacientes sospechosos, por tener prueba semicuantitativa positiva, con más de 2 +, sólo se pudo hacer el diagnóstico en alrededor del 10% de esos casos, que fueron los que dieron valores diagnósticos (de más de 80 mEq/L).

Las dificultades enormes que se han presentado en la recolección del sudor, se pueden obviar usando la iontoforesis. El aparato para la aplicación de este método como ha quedado expuesto en este trabajo, puede fabricarse en el laboratorio de cualquier hospital.

La determinación cualitativa de tripsina en heces practicada sobre película fotográfica, es una técnica que no podemos recomendar porque da resultados muy inseguros. El hecho de que la gota de material a probar, conteniendo o no enzimas, suavice y desprenda la película, impide al técnico formar juicio sobre si ese desprendimiento se debió a digestión enzimática o a que se suavizó la película.

La determinación cuantitativa de la tripsina, por medio de titulación con diluciones seriadas de heces es otro de los métodos que consideramos bastante aconsejable para el diagnóstico de la escasez de esta enzima debido a la fibrosis quística. De estos dos últimos métodos, no dudamos en recomendar el método de las titulaciones.

El escaso número de determinaciones de mucoproteína anormal en jugo duodenal que se realizaron, no nos permite emitir un juicio acerca del valor diagnóstico de esta prueba, la que varios investigadores aseguran como excelente y algunos hasta como signo patognomónico.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

Nos venimos interesando desde hace algún tiempo, en la fibrosis quística, enfermedad relativamente común que provoca serios problemas en medicina, ya que su sintomatología es confundible con muchos estados patológicos, lo que hace difícil su diagnóstico.

Nos hemos preocupado también por hallar los desequilibrios que esa enfermedad presenta y que pueden ser buscados en el laboratorio por medio de análisis en diferentes fluidos orgánicos.

Hemos obtenido una información bibliográfica amplia, para poder hacer una revisión histórica, captando los hechos más importantes en este campo de la patología, bastante inexplorado.

Hemos utilizado los métodos descritos para varias técnicas orientadas hacia el diagnóstico de esta enfermedad y hemos fabricado un aparato para la aplicación de la iontoforesis como medio de colección de sudor, que es uno de los fluidos orgánicos que ha adquirido recientemente gran importancia en investigaciones clínicas.

En este estudio sobre setenta casos de pacientes con difícil diagnóstico, sospechosos de fibrosis quística, usamos el aparato fabricado por nosotros, con excelentes resultados. La aplicación de diversos métodos, usados para fines diagnósticos, nos permitió llegar a la conclusión de que son de gran utilidad diagnóstica, la determinación semicuantitativa de electrolitos en sudor, usando la placa de agar nitrato de plata; la determinación cuantitativa de cloruros en sudor, por el método de la titulación y la determinación cuantitativa por titulación de tripsina en heces. Nos parece de discutible valor la investigación de tripsina en placas de gelatina. No nos atrevemos a asegurar lo dicho por varios investigadores, de que el hallazgo de una mucoproteína anormal en jugo duodenal, es un signo patognomónico, porque, aunque en los casos en que lo practicamos nos dio resultados satisfactorios, el número de pacientes estudiados no fue lo suficientemente importante para emitir un juicio al respecto.

Por medio de los métodos usados en este trabajo, de los setenta casos de difícil diagnóstico seleccionados se fueron eleminando las posibilidades de una fibrosis quística, para que el paciente fuera sometido posteriormente a otras investigaciones que dieran el diagnóstico exacto de su padecimiento.

Diagnosticamos los dos primeros casos de esta interesante enfermedad reportados en Costa Rica, siendo nuestro diagnóstico corroborado por los hallazgos de los patólogos al realizar el estudio post-morten de los mismos.

SUMMARY

Cystic fibrosis, a relatively common disease is a very serious problem in pediatrics as its symtomatology can be confused with many other pathological states so as to make precise diagnosis difficult.

We designed an aparatus for the application of iontophoresis to test the concentration of electrolytes in sweat. In this study with 70 patients suspected of having cystic fibrosis considerable success in diagnosis was obtained with (1) the semiquantitative determination of electrolytes in sweaat using the silver nitrate plate (2), the quantitative determination of chlorides in sweat by titration, and (3) the quantitative determination by titration of tripsin in stools.

However results of the quantitative determination of trypsin using gelatin paper were contradictory.

The first 2 cases reported in Costa Rica of cystic fibrosis were diagnosed in our laboratories; the diagnosis being confirmed pathologically at post mortem.

AGRADECIMIENTO

Deseamos expresar nuestra gratitud al Personal del Laboratorio del Hospital Nacional de Niños por su colaboración en la realización de este trabajo. Asimismo a los doctores Jorge Arguedas Soto, Rodrigo Loría Cortés y Francisco Mirambell, quienes gentilmente nos facilitaron parte de la literatura consultada y nos ayudaron a seleccionar los casos estudiados y al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital San Juan de Dios, por habernos cedido algún material del estudio post-morten hecho a varios de los casos incluidos en este trabajo.

BIBLIOGRAFIA

1. Barbero, G., I Im & G. Mc Gavran
   1956. A simplified technique for the sweat test in the diagnosis of fibrocystic disease of the pancreas. *Pediatrics* 18 (1): 189.

2. Bozzo, S., Margarita Figueroa & Olivia López
   1960. Determinación de los electrolitos en el sudor. Aplicación de la iontoforesis de la pilocarpina. *Revista Chilena de Pediatría* 3:41.

3. Coock E. F. & E. W. Martin
   1953. Farmacia Práctica de Remington. 1ª Ed. XVIII + 1786 pp. *Unión Tipográfica Editorial Hispano Americana* (UTEHA). México.

4. Di Sant'Agnese, P. A., Z. Dische & A. Danilczeko
   1957. Physicochemical differences of mucoproteins in duodenal fluid of patients, with cystic fibrosis of the pancreas and controls. *Pediatrics* 19 (2): 252.

5. Gibson, L. E. & R. E. Coocke
   1959. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 23 (3): 545.

6. GLUCK, L.

1959. A patch test for chloride in sweat as a simple screening method for detecting cystic fibrosis of the pancreas. Preliminary report. *Pediatrics* 23 (4): 731.

7. HEPLER, OPAL E.
1965. Manual Práctico de Análisis Clínicos. *Editorial Labor,* Barcelona XVI - 472 pp.

8. MISCH, K. A. & H. M. HOLDEN
1958. Sweat test for the diagnosis of fibrocystic disease of the pancreas; report of a fatality. *Archives of Diseases Childhood* 33:160.

9. SCHWACHMAN, H., H. LEUBNER & P. CATZEL
1955. Mucoviscidosis. *Advances in Pediatry* 7: 149.

10. SCHWACHMAN, H., P. PATTERSON & J. LAGUNA
1949. Studies in pancreatic fibrosis: a simple diagnostic gelatin test for stooltrypsin. *Padiatrics* 4 (2): 222.

11. YI-YUNG HSIA, D.
1959. Errores innatos del Metabolismo. *Editorial Interamericana S. A.,* México