



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NICARAGUA
CENTRO DE INVESTIGACION Y ESTUDIOS DE LA SALUD
MAESTRIA EN SALUD PÚBLICA 2008 – 2010 EL SALVADOR

Tesis para Optar al Título de Maestra en Salud Pública

**“EVALUACIÓN DE LA PRUEBA RÁPIDA DE REAGINA
PARA DETECCIÓN DE SOSPECHOSOS DE SÍFILIS
EN MUESTRAS ENVIADAS A CONFIRMAR A LA UNIDAD DE VIGILANCIA
LABORATORIAL DEL MINISTERIO DE SALUD EN EL 2010.”**

Autora:

Lidia María Argueta Osorio

Tutor:

Msc. Pablo Cuadra Ayala

Especialista en Epidemiología.

El Salvador, Noviembre de 2011

INDICE

<i>Dedicatoria</i>	i
<i>Agradecimientos</i>	ii
<i>Resumen</i>	iii
<i>Introducción</i>	1
<i>Justificación</i>	3
<i>Objetivos</i>	4
<i>Marco de Referencia</i>	5
<i>Diseño Metodológico</i>	19
<i>Variables</i>	21
<i>Operacionalización de Variables</i>	23
<i>Descripción y Análisis de Resultados</i>	24
<i>Conclusiones</i>	33
<i>Recomendaciones</i>	34
<i>Bibliografía</i>	35
<i>Referencias Bibliográficas</i>	37
<i>Anexos</i>	38

RESUMEN

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual que se ha mantenido latente por muchos años y las principales causas de enfermedad en el mundo, con consecuencias económicas, sociales y sanitarias de gran repercusión en muchos países. Las complicaciones afectan principalmente a mujeres y niños. En el caso de la sífilis, ésta puede afectar a la mujer gestante y transmitirse al feto. Se estima que dos terceras partes de las gestaciones resultan en sífilis congénita o aborto espontáneo, complicaciones que podrían ser totalmente prevenibles.

En nuestro país el diagnóstico de Laboratorio Sífilis se realiza con dos pruebas de laboratorio La de tamizaje que es la RPR que es una prueba rápida NO treponémica y el FTA-ABS que es una prueba serológica Treponémica utilizada para la Confirmación de los casos.

En el año 2010, 1546 muestras de pacientes fueron enviadas a confirmar FTA-ABS a la unidad de Vigilancia Laboratorial de los Cuales 1144 casos se confirmaron como Reactivos y 402 como No reactivos, el País no cuenta con un flujograma Diagnósticos adoptados por todos los establecimientos por tanto es necesario evaluará la capacidad de de detección de sospechosos de Sífilis de la prueba de Tamizaje para mejorar el diagnóstico oportuno de los Pacientes

INTRODUCCION

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual (ETS) causada por una bacteria conocida como: ***Treponema pallidum***, que ha afectado al hombre durante siglos.

Las ETS se encuentran entre las principales causas de enfermedad en el mundo, con consecuencias económicas, sociales y sanitarias de gran repercusión en muchos países. Las complicaciones afectan principalmente a mujeres y niños. En el caso de la sífilis, ésta puede afectar a la mujer gestante y transmitirse al feto. Se estima que dos terceras partes de las gestaciones resultan en sífilis congénita o aborto espontáneo, complicaciones que podrían ser totalmente prevenibles.

La sífilis a menudo se le ha llamado “la gran imitadora” porque muchos de sus signos y síntomas no se distinguen fácilmente de otras enfermedades. Y a diferencia de otras no se diagnostica por el aislamiento e identificación del germen etiológico. Juegan, en cambio, un rol fundamental la epidemiología, clínica y serología ya que su diagnóstico es complejo.

La primera prueba serológica para el diagnóstico de la sífilis, fue el test de **Wassermann**, que se desarrolló en 1906, valiéndose de una extracción alcohólica a partir de tejidos sifilíticos. Pero fue sustituido debido a su inespecificidad, años después se purificó dos sustancias reactivas, a partir de músculo de corazón de vacunos que son la cardiolipina y la lecitina, lo cual condujo a la obtención de un antígeno más específico, que se ha utilizado desde 1946 en la prueba de **VDRL** (Venereal Disease Research Laboratory) en base al fundamento de esta prueba se creó el **RPR**.

Para el diagnóstico de la sífilis hoy en día, tradicionalmente, se cuenta con tres grupos de pruebas. Por examen directo mediante microscopía en campo oscuro y por fluorescencia directa, mediante serología y por cultivo en células epiteliales de conejo. Por serología se tienen dos tipos de pruebas, las pruebas no treponémicas como **VDRL** y **RPR** (Prueba Rápida de Reaginas) y las pruebas treponémicas como **FTA-ABS** (Fluorescent treponemal antibody absorption) o como **MHA-TP** (Microhemaglutinación para *T. pallidum*) y nuevas pruebas diagnóstica, como **ELISA** (enzimoinmunoensayo), **Western blot** y **PCR** (Reacción en cadena a la polimerasa).

En nuestro país el diagnóstico de Laboratorio para Sífilis en la red de laboratorios del Ministerio de Salud se realiza principalmente con dos pruebas serológicas las cuales son: **RPR** que es la prueba de tamizaje en los laboratorios y bancos de sangre, y el **FTA-ABS** que es la prueba confirmatoria o el gold estándar en nuestro país y solo es realizada en la Unidad de Vigilancia Laboratorial.

En nuestro país está normado que las muestras que dan resultado reactivas a **RPR**, se envían a confirmación a la Unidad de Vigilancia Laboratorial con FTA-ABS. Y a estas muestras a las cuales se les realizara el estudio.

Se espera que este estudio ayude a la toma de decisiones en cuanto a las pruebas de tamizaje para detección de sífilis, ya que en noviembre de 2011 se ejecutara la validación del logaritmo de diagnóstico para sífilis y se probará una prueba rápida treponémica, por ello los resultados que arroje este estudio servirán para comparación y así mejorar de una manera eficiente y rápida el diagnóstico de sífilis.

Por tanto este estudio se pretende evaluar la capacidad de detección de los verdaderos casos de Sífilis detectados por la prueba de tamizaje (RPR) utilizada en los laboratorios y bancos de sangre de la red del Ministerio de Salud y para ello se utilizará como prueba confirmatoria el **FTA-ABS**, para determinar sensibilidad y especificidad de dicha prueba.

El **RPR** al ser una prueba no treponémica, no es específica para el diagnóstico de sífilis, Por tanto se plantea el siguiente problema:

¿Cuál es la sensibilidad y especificidad de la prueba de RPR utilizada para la detección de sospechoso de Sífilis en muestras enviadas por los laboratorios de la red del Ministerio de Salud a confirmar a la Unidad de vigilancia Laboratorial en el año 2010.

JUSTIFICACION

Este estudio se lleva a cabo con el fin de verificar la capacidad de de detección de sospechosos de sífilis, así también se espera que sea útil para la toma de decisiones sobre el flujograma diagnostico de sífilis, el cual el plan piloto iniciaría en noviembre de 2011 y este lleva como fin mejorar la capacidad de respuesta a nivel local y central de la Red de Laboratorios, y contribuir al logro del objetivo de mejora la notificación de casos y la intervención oportuna en embarazadas y sus parejas para la prevención y erradicación de la sífilis congénita, también servirá para comparar la efectividad de la introducción del uso de la prueba rápida treponémica, para combinarla con la prueba serológica que actualmente se realiza en los laboratorios locales.

OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar la prueba rápida para detección de sospechosos de Sífilis utilizada por la red de laboratorios del Ministerio de Salud.

Objetivos Específicos

- Determinar la sensibilidad de la prueba rápida de reagina utilizada para la detección de sospechoso de sífilis por la red de laboratorios del Ministerio de Salud
- Determinar la especificidad de la prueba rápida de reagina utilizada para la detección de sospechoso de sífilis por la red de laboratorios del Ministerio de Salud.
- *Precisar los valores predictivos positivo y negativo estimados para la prueba rápida no treponémica.*
- Evaluar los resultados de la prueba rápida de reagina con FTA-ABS en relación a la prueba RPR.

MARCO DE REFERENCIA

La Sífilis es una enfermedad treponémica de transmisión sexual, aguda y crónica, caracterizada por una lesión cutánea primaria, una erupción secundaria que afecta la piel y a las mucosas, largos períodos de latencia y lesiones tardías en piel, huesos, vísceras, sistema nervioso central y sistema cardiovascular. Causada por la espiroqueta Treponema



Figura 1. Treponema pallidum.

pallidum. (Ver Figura 1).

La infección por objetos es muy poco frecuente porque el microorganismo muere por desecación en poco tiempo. La madre gestante puede transmitir la enfermedad al feto, originándose la llamada sífilis congénita, diferente, desde el punto de vista clínico, de la afección por transmisión sexual, además ansfusional. (2)

Historia

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual (ETS), que ha afectado al hombre durante siglos. En la Europa medieval parecían existir enfermedades por espiroquetas mucho más benignas. Se cree que la sífilis se introdujo en Europa desde América a partir de 1493 y ya en el siglo XVI constituía un problema de salud pública de primer orden. Durante el Renacimiento ésta enfermedad tuvo varios nombres, como la gran maldición, enfermedad venérea, enfermedad francesa o Morbus Gallicus, enfermedad italiana, española, alemana o polaca. Lo cierto es que ningún país aceptaba ser el origen de la nueva plaga y cada cual la adjudicaba a sus enemigos, para los turcos por ejemplo, era la enfermedad de los cristianos. Según John Hunter (1728-1793), la sífilis y la gonorrea eran una sola enfermedad y no fue hasta 1838, que Philippe Ricord demostró que eran entidades diferentes; además propuso clasificar la sífilis en primaria, secundaria y terciaria. Fueron Fritz Schaudinn y Paúl Hoffman, microbiólogos alemanes, quienes en 1905

realizaron las primeras observaciones al microscopio del Treponema pallidum, a la que originalmente se le denominó *Spirochaeta pallida*, con coloración de Giemsa modificada y demostraron que la espiroqueta era el agente causal de la sífilis. (1)

En 1906 el microbiólogo alemán August Von Wassermann desarrolló la primera prueba de detección en la sangre de la enfermedad, esta fue el test de Wassermann, utilizó una extracción alcohólica a partir de tejidos sifilíticos (hígados de recién nacidos fallecidos por sífilis). Lo que se pretendía demostrar con esta prueba, era la presencia de anticuerpos séricos mediante una técnica de fijación de complemento, más tarde se demostró que estas reacciones eran inespecíficas y se producían con extractos de otros tejidos.

En ese mismo año, se le atribuye a Karl Landsteiner y a Viktor Mucha el desarrollo de la microscopía de campo oscuro. Landsteiner también demostró que en la reacción de Wassermann se podían usar otros tejidos, especialmente corazón bovino, luego se le añadió a la técnica original de Wassermann, colesterol y lecitina para incrementar la sensibilidad de los antígenos.

En 1912 Nichols y Hough aislaron el Treponema pallidum, subespecie *pallidum* del líquido cefalorraquídeo (LCR) de un paciente con neurosífilis y lo inocularon en testículos de conejos adultos, logrando mantener esta cepa viable, la que se denominó cepa Nichols. Fue recién en 1941, que Mary Pangborn purificó la cardiolipina del corazón bovino, mediante repetidas precipitaciones con cloruro de bario, ésta se mezcla con colesterol y lecitina para formar un antígeno estable usado, desde 1946, en la detección de anticuerpos contra la sífilis en la prueba de VDRL (Venereal Disease Research Laboratory). Nelson y Mayer desarrollaron en 1949, la primera prueba con anticuerpo treponémico, denominada prueba de inmovilización del treponema (TPI), que usaba como antígeno la cepa Nichols y complemento sérico para inmovilizar los treponemas vivos, luego se observa al microscopio de campo oscuro, su inconveniente es que es laboriosa, costosa, poco sensible y con una especificidad del 50%.

Poco después en 1957, apareció la prueba de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA), esta prueba tenía el inconveniente de alto porcentaje de reacciones inespecíficas con la flora normal humana y fue modificada por Deacon y Hunter en 1962, usando un sonicado de cultivos de espiroquetas de la cepa Reiter a los que se le removieron los antígenos comunes por absorción, lo que llevo al desarrollo del FTA-ABS, más sensible y específico. (1)

Rathlev en 1965 aplicó la prueba de hemaglutinación al estudio de la sífilis, utilizando eritrocitos de carnero sensibilizados con un ultrasonicado de la cepa Nichols, luego la técnica fue modificada con el uso de un sorbente como el usado para el FTA-ABS. Inicialmente esta prueba se realizaba en tubo, luego evolucionó al uso de microvolúmenes denominándose microhemaglutinación para *T. pallidum* (MHA-TP). (1)

Epidemiología

La sífilis es una afección infectocontagiosa de distribución mundial, en comparación con otras enfermedades humanas no debería ser difícil de erradicar ya que su agente etiológico no es vehiculizado por el agua, aire, alimentos o insectos, además el único reservorio es el hombre. El *Treponema pallidum* es patógeno para el humano exclusivamente, y la única forma de infectarse es por contacto íntimo con alguna persona que padezca la enfermedad y que se encuentre en el periodo primario o secundario que son los infecciosos por las secreciones de las lesiones mucocutáneas. No es hereditaria pero si es posible la transmisión por vía placentaria durante el embarazo. El aumento de incidencia de transmisión sexual ha aumentado también, como es previsible, el número de casos de sífilis congénita, causa de morbilidad y mortalidad infantil. El periodo de incubación es de 10 días a 3 meses, por lo común 3 semanas. (1)

La población de más alto riesgo son los adultos jóvenes con edades que van desde los 15 hasta los 25 años, principalmente en clases socioeconómicas bajas; entre los factores de riesgo están el consumo de drogas ilícitas, la prostitución, el VIH-SIDA y el inicio de la vida sexual a edad temprana. La sífilis por lo común es más prevalente en zonas urbanas que

en las rurales, y en los hombres más que en la mujeres. Las diferencias raciales en la incidencia reflejan más bien factores sociales que biológicos. En forma excepcional se puede transmitir mediante transfusiones de sangre ya que la sangre vehiculiza al treponema que puede permanecer en sangre total o en plasma almacenado a 4° C. (1)

Agente Causal

Treponema pallidum.

La palabra treponema significa hilo que gira, son bacterias móviles en formas de espirales finas, ondulantes o tirabuzón que se dividen transversalmente.(6) Pertenecen a la orden *Spirochaetales*, a la familia *Spirochaetaceae* que está formada por los géneros:

a) *Borrelia*

b) *Leptospira*

c) *Treponema*

El género *Treponema* comprende las especies:

- ⊙ *Treponema pallidum*; agente etiológico de la sífilis.
- ⊙ *Treponema carateum*; agente etiológico de pinta o mal de pinto.

Asimismo, existen subespecies:

- *T. pallidum* subespecie *pallidum*, agente etiológico de la sífilis congénita y transmitida sexualmente.
- *T. pallidum* subespecie *pertenue* agente etiológico de la frambesia tropical.
- *T. pallidum* subespecie *endemicum* agente etológico de la sífilis endémica no venérea o bejel.

Las especies aparecen morfológicamente idénticas y provocan la misma respuesta serológica en el hombre (por ejemplo positividad de las pruebas VDRL, MHA – TP) y se

muestran susceptibles a la penicilina. Se distinguen por la epidemiología y las manifestaciones clínicas de las enfermedades que producen. (2)

Morfología

La forma del *Treponema* es espiral, presenta una longitud de 5 a 20 milimicras por 0.2 milimicras de diámetro, tiene de 8 a 15 espiras regulares, uniformes, separadas por una distancia de 1 micrón entre cada una, son móviles, delgados, gramnegativos. Ya que son espirales muy delgados su visualización resulta difícil, por lo cual debe de realizarse con el microscopio óptico para poder observar al *Treponema*. (1)

Fases de la enfermedad

Con fines prácticos es dividida en:

1. Sífilis precoz:

- Sífilis Primaria
- Sífilis Secundaria

2. Sífilis tardía:

- Sífilis Serológica
- Sífilis Terciaria

La Sífilis Primaria

Se manifiesta tan sólo por el chancro sífilítico inicial, aparece en el lugar de la inoculación entre 18 y 21 días después de la infección. La lesión comienza como una pápula pero después erosiona para formar una úlcera indolora con bordes elevados. La mayoría de los pacientes desarrollan adenopatías regionales, también indoloras, 1 a 2 semanas después de aparecer el chancro, lo que representa un foco para la proliferación de espiroquetas.

La cicatrización espontánea al cabo de unos 2 meses, proporciona una sensación falsa de alivio, este es el chancro no complicado, que recibe el nombre de chancro Hunte. (3)

La Sífilis Secundaria

Se caracteriza por una sucesión de erupciones generalizadas cada vez más manifiestas, que habitualmente comienzan entre 3 y 6 semanas después de la aparición del chancro. Va acompañada de linfadenopatías generalizadas y dispersas, por lo general hay también lesiones mucosas. La serología es reactiva de forma constante con títulos que aumentan rápidamente. La contagiosidad en este estadio es altamente infecciosa. Esta fase se caracteriza por un síndrome de tipo gripal, con molestias faríngeas, cefalea, fiebre, mialgias, anorexia, adenopatías generalizadas y exantema mucocutáneo difuso.

El síndrome gripal y las adenopatías suelen aparecer primero, seguidos al cabo de pocos días por las lesiones cutáneas diseminadas. El exantema puede ser muy variable (macular, pápular, pústular), cubrir toda la superficie cutánea (incluyendo las palmas de las manos y las plantas de los pies) y resolverse poco a poco a lo largo de semanas o meses y al igual que el chancro primario es muy contagioso. El exantema y los síntomas se resuelven espontánea y gradualmente, y el paciente entra en la fase latente o sin actividad clínica de la enfermedad. (3)

Sífilis Tardía

Comprende la sífilis serológica y la sífilis terciaria. Una pequeña proporción de pacientes progresan hacia la parte terciaria de la enfermedad que puede aparecer de 4 a 60 años después de la infección. La inflamación difusa y crónica característica de la sífilis tardía puede causar destrucción devastadora de prácticamente cualquier órgano o tejido (por ejemplo artritis, demencia, ceguera). Es común la presencia de infartos isquémicos producidos en vasos sanguíneos pequeños. Cavidades de lesiones llamadas gomas, las cuales son muy destructivas, se acumulan en varios tejidos como huesos, piel, tejido nervioso, corazón y arterias. (3)

Sífilis Congénita

Se caracteriza cuando una mujer sífilítica embarazada puede transmitir en *T. pallidum* al feto a través de la placenta; la infección se inicia entre las semanas 10 y 15 de la gestación. Algunos fetos infectados mueren y el resultado es el aborto; otros nacen muertos a término. Otros más nacen vivos, pero desarrollan los signos de la sífilis congénita en la infancia: queratinitis intersticial, dientes de Hutchinson, nariz en silla de montar, periostitis y varias anomalías del sistema nervioso central. El tratamiento adecuado de la madre durante el embarazo evita la sífilis congénita. Con la infección activa aumenta el título de la reagina en la sangre del niño, pero desaparece con el tiempo si el anticuerpo fue transmitido pasivamente por la madre. En la infección congénita el niño elabora anticuerpos del tipo IgM contra el treponema. (3)

Diagnóstico de Laboratorio.

Métodos Directos (etapa primaria)

- *Microscopia De Campo Oscuro*

La microscopía de campo oscuro es la prueba de elección para la sífilis primaria sintomática. Los treponemas, morfológicamente, son espiroquetas muy delgadas y helicoidales, que no pueden ser observadas en un microscopio de luz en campo normal, y es necesario un microscopio que tenga campo oscuro. El *T. pallidum* se diferencia de otros microorganismos espiralados porque son más delgados, sus espirales son muy regulares y presentan un movimiento característico en tirabuzón. Cuando se obtiene hallazgos positivos al campo oscuro, se debe reportar como organismos con morfología y características de *T. pallidum*, debiéndose realizar obligatoriamente pruebas serológicas confirmatorias. Se debe tener en cuenta que el campo oscuro puede ser positivo antes que las pruebas serológicas.

Un examen de campo oscuro negativo no descarta la sífilis, ya que, podría haber muy pocos gérmenes en la lesión o haberse producido alteraciones debido a algún tratamiento

recibido ya sea tópico o sistémico, y, por último, se debe considerar otra enfermedad de transmisión sexual.(II)

- Inmunofluorescencia Directa

Mediante este examen, se puede detectar la presencia de subespecies de T. pallidum en tejidos, fluidos corporales, secreciones y exudados de lesiones. Se necesita un microscopio de fluorescencia, equipado con condensador de campo oscuro y con lámpara para iluminación de fluorescencia. La prueba permite diferenciar treponemas patógenos de no patógenos, por una reacción de antígeno-anticuerpo.

Un hallazgo positivo se reporta como treponemas inmunológicamente específicos para T. pallidum, observados por Inmunofluorescencia directa. Esta prueba es comparable en sensibilidad con la microscopia de campo oscuro, pero con una mayor especificidad. (II)

- Inoculación De Animales

A este método, se le denomina RIT (Rabbit infectivity test) y consiste en la inoculación del T. pallidum en los testículos de un conejo. Esta prueba es el estándar de oro, que determina la sensibilidad y especificidad de las otras pruebas para el diagnóstico de sífilis. Además es el método más antiguo para detectar una infección por T. pallidum. Este método no se utiliza de rutina porque es costoso y representa una dificultad técnica mayor.

- Cultivo

El cultivo de T pallidum sólo se ha logrado en células epiteliales de conejo, La multiplicación de los gérmenes es muy lenta, siendo el tiempo promedio de duplicación de 30 a 33 horas, aunque algunos autores comunican que a temperatura de 33° C, el crecimiento es más rápido. El T pallidum se ha tratado de cultivar en medios acelulares microaerófilicos con poco éxito. Este método no es adecuado para el trabajo de rutina del laboratorio pero sí se realiza en los laboratorios de referencia. (II).

Métodos indirectos

- **Pruebas Serológicas**

Las pruebas serológicas son de dos tipos: no-treponémicas y treponémicas. Las pruebas no treponémicas son usadas para tamizaje, son económicas y, también, sirven para evaluar la eficacia del tratamiento. Sus limitaciones consisten en baja sensibilidad en sífilis primaria temprana, con prueba de campo oscuro positiva, en sífilis tardía y la posibilidad de fenómeno de prozona o de resultados falsos positivos. Las pruebas treponémicas emplean como antígeno al *T. pallidum* subespecie *pallidum* y detectan anticuerpos específicos antitreponémicos. Se le utiliza para verificar cuando las pruebas no-treponémicas son reactivas o como pruebas confirmatorias cuando el cuadro clínico es sugestivo, pero la serología es negativa, como ocurre en la sífilis tardía. En el 85% de los pacientes con sífilis con tratamiento exitoso, estas pruebas se mantienen reactivas por varios años. (II)

- **Pruebas No Treponémicas**

Las pruebas No-treponémicas incluyen el VDRL (Venereal Disease Research Laboratory, RPR (Rapid plasma reagin), USR (Unheated-serum reagin) y TRUST (Toluidine red Unheated-serum test), de estas las más usadas son RPR y VDRL.

Todas estas pruebas están basadas en antígenos en solución alcohólica, que contienen cardiolipina, colesterol y lecitina purificada en cantidad adecuada para producir reacciones estándares.

Se denomina reagina a una proteína similar a un anticuerpo, que se une a un antígeno, como pueden ser la cardiolipina y la lecitina en las pruebas no-treponémicas, y se denomina anticuerpos reagínicos a anticuerpos no-treponémicos, producidos por un individuo infectado con *T. pallidum*, contra sus propios tejidos o contra células de mamíferos. Estos anticuerpos reagínicos, no son exclusivos de la sífilis y también son producidos en otras enfermedades infecciosas como son el sarampión, varicela, hepatitis, mononucleosis infecciosa, lepra, tuberculosis, malaria, leptospirosis, tripanosomiasis,

linfogranuloma venéreo, o por personas con enfermedades autoinmunes, drogadictos, individuos que han recibido alguna inmunización recientemente, embarazo y en edad avanzada. (II)

VDRL

En la prueba de VDRL, el suero del paciente es inactivado a 56° C por 30 minutos, si se usa líquido cefalorraquídeo (LCR) sólo se debe centrifugar. Luego la muestra se mezcla con un antígeno, que es una solución buffer salina de cardiolipina y lecitina adosadas a partículas de colesterol. Esta prueba se puede realizar en lámina y ser observadas al microscopio como un precipitado de partículas finas (floculación), o se puede realizar en tubo y ser leída macroscópicamente.

Los resultados de VDRL en lámina son comunicados como no reactivos (no hay floculación, débilmente reactivos (ligera floculación), y reactivos floculación definitiva. Todos los sueros reactivos se diluyen seriadamente, a cada dilución se le realiza la prueba de VDRL y se registra el título máximo obtenido. Rara vez se tiene un paciente con título elevado en las diluciones y con VDRL no reactivo en la muestra sin diluir (fenómeno de prozona), si ocurriera es más frecuente en la sífilis secundaria. (II)

RPR

El RPR es una prueba diseñada para detectar reagina en el suero de manera rápida, no requiere inactivación por calor. La muestra se mezcla con una suspensión que posee cardiolipina, lecitina y colesterol en partículas de carbón. Si la muestra es positiva se observa pequeños grumos negros (floculación). El resultado cualitativo se reporta como reactivo o no reactivo; todos aquellos reactivos deben ser diluidos seriadamente para realizar la titulación, y se reporta la dilución más alta que exhibe reacción. Esta prueba se conoce como semicuantitativa y es la que sirve para evaluar el tratamiento del paciente. (Ver Anexo 2). Se ha desarrollado variantes de esta prueba en las que la muestra puede ser plasma sin que se pierda su sensibilidad y especificidad. (II)

TRUST Y USR

Estas pruebas son menos usadas que el VDRL y la RPR. El TRUST (Toulidine red unheated serum test) es una prueba desarrollada para el despistaje de la sífilis, el principio es similar al del VDRL, pero no es necesario inactivar el suero y el rojo de toluidina se encarga de dar color a la reacción. La sensibilidad y especificidad son similares a la prueba de RPR.

La USR (Unheated serum reagin) tiene la ventaja que es poco costosa, tampoco requiere de inactivación de suero por calor y, al igual que otras pruebas no treponémicas, tiene buena sensibilidad y especificidad. (II)

○ Pruebas Treponémicas

Las pruebas treponémicas comprenden FTA-ABS (Fluorescent treponemal antibody absorption), y sus variantes FTA-ABS-DS (FTA-double staining), 19S-IgM-FTA-ABS; MHA-TP (Microhemaglutinación para *T. pallidum*), y TPI (*T pallidum* immobilization), de los cuales el último es obsoleto por su baja sensibilidad en la sífilis primaria. (II)

FTA-ABS

La FTA-ABS es un método de observación directo, que se utiliza como confirmación cuando una de las pruebas no-treponémicas es positiva. Es el método de elección para el diagnóstico de la sífilis primaria a partir de las dos semanas después del contagio.

Se utiliza suero inactivado por calor, el que se coloca sobre una lámina donde se encuentra el *Treponema pallidum* es suspensión (por lo menos 30 microorganismos por campo). El conjugado consiste en antiglobulina humana (IgG o IgM) con isotiocianato de fluoresceína, el que se diluye seriadamente hasta 1/800 ó más. Luego de un tiempo de incubación, se observa al microscopio de fluorescencia en una habitación oscura. La reacción se reporta en cruces de 1+ a 4+.(Ver Figura 2)

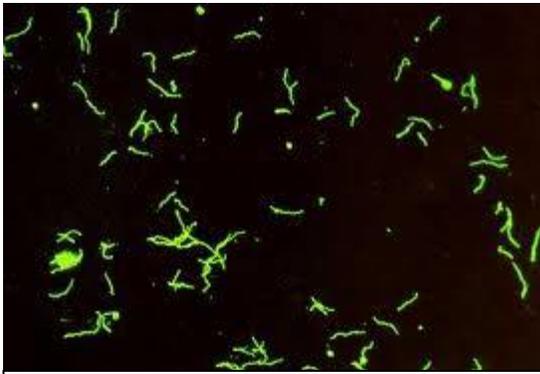


Figura.2. Observación de Inmunofluorescencia.

La 19S-IgM-FTA-ABS es una variante de la FTA-ABS que usa IgM de 19S que es obtenida por ultracentrifugación y tiene como ventaja una mayor especificidad. La 19S-IgM permanece por corto tiempo en la sangre después del tratamiento y su reaparición determina una reinfección, en cambio, la IgM total se puede detectar hasta un año después. La 19S-IgM-FTA-ABS es de gran utilidad en los siguientes casos: confirmación de

la sífilis muy temprana, determinar el éxito terapéutico y diagnosticar una reinfección; no es de utilidad en la sífilis terciaria, porque da falsos negativos. (II)

La FTA-ABS-DS tiene una sensibilidad de 100% para la sífilis secundaria y la sífilis latente, y 95% para la sífilis tardía porque utiliza en su proceso doble conjugado fluorescente; (Ver Figura 3) el primero anti-IgG humana conjugada con rodamina y el segundo fluoresceína anti-treponémica que tiene función de contracolor y facilita la visualización.(II) (Ver Anexo 3).

Tabla 1. Criterio para el diagnóstico de sífilis ⁶¹					
Prueba	% sensibilidad				% especificidad
	Primaria	Secundaria	Latente	Tardía	No sífilis
No treponémica					
VDRL	78(74-87)	100	95(88-100)	71(37-94)	98(96-99)
RPR	86(77-100)	100	98(95-100)	73	98(93-99)
USR	80(72-88)	100	95(88-100)		99
TRUST	85(77-86)	100	98(95-100)		99(98-99)
Treponémicas					
FTA-ABS	84(70-100)	100	100	96	97(94-100)

Figura 3. Tabla de Criterio Diagnostico para Sífilis

Hemaglutinación

Este método utiliza glóbulos rojos de pollo o carnero como fase sólida los cuales están sensibilizados con *Treponema pallidum*, que se encuentran adheridos a la membrana del hematíe. Tiene la ventaja de alta especificidad, la cual es comparable con FTA-ABS, da pocas reacciones falso positivas, es una prueba semicuantitativa al usar diluciones seriadas, se puede utilizar suero y LCR, y además el requerimiento de equipos es mínimo, La desventaja de esta prueba es que tiene menor sensibilidad en sífilis temprana, sífilis

latente y sífilis tratada. Se puede realizar bajo dos modalidades, MHA-TP (Microhemaglutinación de *Treponema pallidum*) que utiliza eritrocitos de carnero y HATTS o TPHA (Hemaglutination treponemal test), ambos de sensibilidad y especificidad similar.(II)

Nuevas Pruebas En El Diagnóstico De La Sífilis

ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay)

Durante la infección por *Treponema pallidum* se producen anticuerpos inespecíficos, contra antígenos comunes a todas las espiroquetas y anticuerpos específicos contra *Treponema pallidum*. En la enfermedad temprana los anticuerpos son IgM, luego rápidamente aparecen anticuerpos IgG que son los predominantes durante el tiempo. La técnica de ELISA es un método de cuantificación inmunológica que evalúa la reacción antígeno-anticuerpo mediante una reacción enzimática, de acuerdo al diseño de la prueba se puede detectar una o más inmunoglobulinas o se puede detectar antígenos específicos- para lo cual se utiliza un conjugado, formado por un anti-anticuerpo o un antígeno, el cual se ha marcado con una enzima (peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa, etc.) y que es cuantificado con un lector de ELISA que es un espectrofotómetro modificado. (II)

Western Blot

El Western Blot, también denominado inmunoblot, es una técnica que detecta anticuerpos para epítopes específicos en antígenos, previamente separados por electroforesis de alta resolución. La electroforesis separa los componentes antigénicos por sus diferentes pesos moleculares. Luego estos son transferidos a una membrana de nitrocelulosa reteniendo su posición electroforética y reaccionan con el suero del paciente, si los anticuerpos específicos estuviesen presentes, estos son revelados usando un anti-anticuerpo conjugado con una enzima a la que se le agrega un sustrato cromogénico, dando como resultado bandas coloreadas en la tira de nitrocelulosa. Esta técnica se utiliza para confirmar.(II)

Reacción en Cadena a la Polimerasa (PCR)

La técnica de reacción en cadena a la polimerasa (PCR), amplifica o replica varias veces secuencias específicas de ADN de una muestra, Se utiliza dos porciones cortas de ADN denominados cebadores o iniciadores o "primers", estos son oligonucleótidos sintéticos de ADN o ARN cuya secuencia es conocida, que luego de fusionarse (hibridizarse) a un ADN complementario, actúan como una plantilla para sintetizar nuevo ADN, esto es un proceso enzimático repetido en varios ciclos térmicos La ventaja del PCR es que al amplificar ADN específico de Treponema pallidum, se elimina la posibilidad de detectar falsos positivos, además que puede realizarse en gestación temprana, mediante el estudio del líquido amniótico.(II)

Otros

Existen dos pruebas rápidas de látex para el diagnóstico de sífilis, la primera denominada FAST que usa tres antígenos recombinantes y tiene una sensibilidad mayor al 99%; y la otra prueba denominada MCA-TP (Microcapsule agglutination for Treponema pallidum), utiliza microcápsulas sensibilizadas con antígeno de Treponema pallidum y es muy sensible para detectar sífilis primaria⁵⁹. También se desarrolló una prueba de Radioinmunoensayo (RIA) para la detección de Treponema pallidum. Ninguna de estas pruebas logró amplia difusión. (II)

En nuestro país solo se realizan la prueba de RPR que es la de tamizaje y la confirmatoria que es el FTA-ABS no se cuenta con un flujograma diagnóstico como el de VIH socializado pero se manejaba un interno por parte los establecimientos del Ministerio de Salud aun que no se sigue al Pie de la letra ya que si un resultados es negativo y el Medico indica que se realice el FTA-ABS se le hace ya que debido a la complejidad del diagnóstico y el cuadro clínico de la enfermedad se puede negatización de los anticuerpos reagínicos pero los treponémicos como la IgG se mantienen de por vida. (Ver Anexo 1)

METODOLOGIA

Tipo de Estudio

Evaluativo y Descriptivo retrospectivo se evaluara y describirá la sensibilidad y especificidad de una prueba de laboratorio y el estudio será realizado en las muestras enviadas a confirmación en la unidad de Vigilancia Laboratorial en el año 2010

La Población

Todas las muestras enviadas a confirmar para Sífilis al La Unidad de Vigilancia Laboratorial del Ministerio de Salud que se le haya realizado la prueba de RPR y FTA-ABS en el año 2010.

Criterios de Inclusión:

Todos las muestras que se les haya realizado la prueba de RPR y FTA-ABS.

Criterios de Exclusión:

Todas las muestras que no se les haya realizado la prueba de RPR y FTA-ABS.

Fuente y Obtención de Datos:

Para poder tener acceso a la información del año 2010 de la sección de Inmunología se solicito permiso a la dirección de Vigilancia Sanitaria del Ministerio de Salud este permiso tardo aproximadamente un mes y se hizo atreves de la Jefatura de La Unidad de Vigilancia Laboratorial. Se hizo énfasis en este permiso que lo único que nos interesaba era el resultado de las pruebas por tanto la información personal de los pacientes no es necesaria y se mantendría la confidencialidad de esta.

El acceso a la base interna de datos de la sección de Inmunología es exclusiva del personal de la sección esta base se encuentra ubicada en la computadora de la sección por tanto no es de uso público, tampoco se puede encontrar en la web. Y debe de contar

con el permiso de la dirección de Vigilancia sanitaria para poder a la información que esta contiene.

FORMULAS:

TABLA 2X2

RESULTADO	ESTADO REAL DE ANTICUERPOS		TOTAL
	PRESENTE	AUSENTE	
REACTIVO	POSITIVO VERDADERO (A)	FALSO POSITIVO (B)	TODAS LAS POSITIVAS (A+B)
NO REACTIVO	FALSO NEGATIVO (C)	NEGATIVO VERDADERO (D)	TODAS LAS NEGATIVAS (C+D)
TOTAL	TOTAL CON ANTICUERPOS (A+C)	TOTAL SIN ANTICUERPOS (B+D)	TOTAL (A+B+C+D)

SENSIBILIDAD = $A / (A+C) \times 100$

ESPECIFICIDAD = $D / (B+D) \times 100$

VALOR PREDICTIVO POSITIVO (VPP) = $A / (A+B) \times 100$

VALOR PREDICTIVO NEGATIVO (VPN): = $D / (C+D) \times 100$

VARIABLES

La Sífilis

Es una enfermedad de transmisión sexual, aguda y crónica, causada por la espiroqueta *Treponema pallidum*.

RPR

Prueba Rápida de Reaginas para determinación anticuerpos reagínicos que se detectan con un antígeno: cardiolipina-lecitina altamente purificado.

Reactivo en Prueba No Treponémica.

Resultado que demuestra la presencia de anticuerpos reagínicos en el suero del paciente.

No Reactivo en Prueba No Treponémica

Resultado que demuestra la ausencia de anticuerpos reagínicos en el suero del paciente.

FTA-ABS

Prueba de Anticuerpos Fluorescentes Absorbidos por Inmunofluorescencia indirecta. Se considera como la Prueba confirmatoria en El Salvador.

Sensibilidad

Es la probabilidad que el resultado de la prueba sea positivo, al ser aplicado a personas que en realidad tienen el anticuerpo.

Reactivo en Prueba Treponémica.

Resultado que demuestra la presencia de anticuerpos anti- *Treponema pallidum* en el suero del paciente.

No Reactivo en Prueba Treponémica

Resultado que demuestra la ausencia de anti- Treponema pallidum en el suero del paciente.

Especificidad

Es la probabilidad que el resultado de la prueba sea negativo, al ser aplicado a personas que no tienen el anticuerpo.

Valor Predictivo Positivo (VPP):

Probabilidad de que una persona con resultado de prueba de tamizaje positivo en realidad tenga el anticuerpo.

Valor Predictivo Negativo (VPN)

Probabilidad de que una persona con resultado de prueba de tamizaje negativo en realidad no tenga el anticuerpo.

OPERACIONALIZACION DE LAS VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN	VALORES	INDICADOR	ESCALA
SIFILIS	Enfermedad causada una bacteria llamada <u>Treponema pallidum</u> .	Prueba Rápida de Reaginas (RPR)	Sensibilidad	Reactivo
		NoTreponemica	Especificidad	No Reactivo
		Resultados de FTA-ABS	VPP	Reactivo
		(Prueba Treponémica)	VPN	No Reactivo

DESCRIPCION Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Plan de Tabulación y Análisis

La base en Excel se depuro primero se eliminaron todos los nombres de los pacientes y sus expedientes, posteriormente se eliminaron todo registro que contenía resultados de RPR o FTA-ABS, de 1551 registro que contenía la base fueron eliminados cinco cuatro por no tener resultado de FTA-ABS y el otro por no tener resultado de RPR la muestra era escasa y el nivel no reporto el resultado por tanto no se le pudo realizar el RPR. (Ver figura.4)

	A	B	I	J	K
1	NUMERO	ESTABLECIMIENTO	FTABS	RPR UVL	
2	1	UNIDAD DE SALUD DE POPOTLAN	NO REACTIVO	REACTIVO 1:8	
3	2	HOSPITAL MILITAR CENTRAL	REACTIVO	REACTIVO 1:4	
4	3	HOSPITAL NACIONAL DE GOTERA (U.S. DE OSICALA)	REACTIVO	REACTIVO 1:4	
5	4	UNIDAD DE SALUD DE MEJICANOS	REACTIVO	REACTIVO 1:4	
6	5	UNIDAD DE SALUD DE QUEZALTEPEQUE	REACTIVO	REACTIVO 1:4	
7	6	UNIDAD DE SALUD DE LOURDES COLON	REACTIVO	REACTIVO 1:32	
8	7	UNIDAD DE SALUD DE LOURDES COLON	REACTIVO	REACTIVO 1:2	
9	8	UNIDAD DE SALUD DE QUEZALTEPEQUE	NO REACTIVO	REACTIVO DEBIL	
10	9	HOSPITAL NACIONAL DE CHALCHUAPA	NO REACTIVO	REACTIVO 1:2	
11	10	HOSPITAL NACIONAL DE SANTA ANA	NO REACTIVO	REACTIVO 1:4	
12	11	UNIDAD DE SALUD DE SAN JACINTO	REACTIVO	REACTIVO 1:16	
13	12	HOSPITAL NACIONAL DE LA UNION (U.S. DE OMEGA)	NO REACTIVO	NO REACTIVO	
14	13	UNIDAD DE SALUD DE SAN MARCOS	REACTIVO	REACTIVO DEBIL	
15	14	HOSPITAL NACIONAL ROSALES	REACTIVO	REACTIVO 1:2	
16	15	HOSPITAL NACIONAL ROSALES	NO REACTIVO	NO REACTIVO	
17	16	HOSPITAL NACIONAL ROSALES	REACTIVO	REACTIVO 1:4	

Figura.4. Muestra de la Base de Confirmaciones de FTA-ABS 2010 ya depurada.

Se hicieron dos tablas una para trabajar los resultados con títulos de RPR y la otra solo para hacer el cruce de las variables. Los datos de ambas tablas se introdujeron en una tabla dinámica en Excel y se cruzaron en una tabla 2x2 para poder determinar la sensibilidad, la especificidad, el VPP Y el VPN para evaluar la prueba rápida de reagentes para la detección de sospechosos de sífilis.

Los datos se trabajaron en una tabla dinámica en Excel Después los datos serán introducidos en una tabla 2x2 para determinar sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de la prueba. Los resultados se presentaran en cuadro y tablas según sea necesario.

Análisis de los Resultados

De 1546 muestra enviadas a confirmar por FTA-ABS se les realizo un control de calidad interno a todas se les hizo la prueba de RPR y los resultados obtenidos fueron que 1,034 pacientes dieron reactivo y 512 no reactivo en la prueba cualitativa por lo que equivaldría 67% de los pacientes confirmados en La Unidad de Vigilancia Laboratorial del Ministerio de Salud fueron reactivos y 33% no reactivos. (Ver Tabla 1 y Grafico1)

De los 1034 de pacientes con resultados Reactivos a RPR los títulos con mayor porcentaje de frecuencia son reactivo 1:2 con el 30%, reactivo 1:4 con 22%, reactivo débil con 20% y reactivo 1:8 con el 14% quiere decir el rango anduvo entre reactivo débil y 1:8. (Ver Grafico 2).

De los 1546 resultados de FTA-ABS que se confirmaron 1144 se confirmaron con un resultado Reactivo y 402 como No reactivo. (Ver Tabla 2). Del 74% de resultados confirmados positivos por FTA-ABS el 24.48% obtuvieron un resultado negativo a RPR y mayor porcentaje de títulos de RPR que obtuvieron con mayor frecuencia son de reactivo débil hasta reactivo 1:4 y con porcentaje casi nulos los títulos más altos arriba de 1:32.(Ver Grafico 2 y 3).

De los 1144 resultados confirmado reactivo por FTA-ABS el 75.5% se obtuvo un resultado reactivo y el otro 24.5 % obtuvo un resultado No reactivo a RPR. Los Resultados que se confirmaron como no reactivos fueron 402 de los cuales 280 son no reactivos a la prueba de RPR y 170 con un resultado Reactivo a RPR. (Ver tabla 5 y 6).

Utilizando los datos de la Tabla 4 se obtuvieron los siguientes Resultados:

VERDADEROS POSITIVOS (A) = 864

FALSOS POSITIVOS (B) = 170

FALSOS NEGATIVOS(C) = 280

NEGATIVOS VERDADEROS (D) = 232

Sensibilidad

$$S = A / (A + C)$$

$$S = 864 / (864 + 280) = 0.7552$$

$$0.7552 \times 100 = 75.52\%$$

Especificidad

$$E = D / (B + D)$$

$$E = 232 / (170 + 232) = 0.5742$$

$$0.5742 \times 100 = 57.42\%$$

Valor Predictivo Positivo

$$VPP = A / (A + B)$$

$$VPP = 864 / (864 + 170) = 0.8356$$

$$0.8356 \times 100 = 83.56\%$$

Valor Predictivo Negativo

$$VPN = D / (C + D)$$

$$VPN = \frac{232}{280 + 232} = 0.4531$$

$$0.4531 \times 100 = 45.31\%$$

DISCUSIÓN

Según los datos arrojados por la tabla 2x2 la sensibilidad de la prueba de RPR al ser comparada con el FTA-ABS fue de 75.5% y una Especificidad 57.4%.(ver tabla 4) Según la revista **Dermatología Peruana Vol. 10 Suplemento 1 de Diciembre de 2000 “PRUEBAS DE LABORATORIO EN EL DIAGNÓSTICO DE LA SÍFILIS” autora: Sanguinetti-Díaz, Cecilia**, muestra una tabla de Criterios para Diagnostico de Sífilis (Ver Figura 3.).

La Prueba de RPR tiene un rango de sensibilidad de 71-100%, e incluso los insertos de las pruebas manejan ese rango de sensibilidad y hasta más alto, pero en cuanto a la especificidad si comparamos los datos de la tabla de criterios con los obtenidos son muy bajos la sensibilidad anda en el rango de lo normal en cuanto a la capacidad de detectar a Positivos verdaderos; pero la especificidad de la prueba es muy baja y por ello se ve reflejada en la gran cantidad de falso Negativos detectados

Valor predictivo positivo es de 83.6% y Valor predictivo Negativo es de 45.31% su bajo Valor Predictivo Negativo indica una capacidad muy baja de detección de los verdaderos negativos y en una prueba de tamizaje que también es utilizada en bancos de sangre es muy aflictivo ya que por lo que ha demostrado esta prueba no sería la idónea para ese tamizaje, aunque el RPR demostró muy baja especificidad es una prueba que no se puede eliminar del flujograma diagnostico ya que es necesaria y la única que sirve para el control del tratamiento de los paciente diagnosticados con Sífilis. Pero es necesario ir buscando nuevas alternativas para el tamizaje de sospechosos de Sífilis tanto en los bancos de Sangre como en los Laboratorios de la Red del Ministerio de Salud para el diagnostico adecuado y oportuno principalmente en embarazadas para evitar la transmisión vertical y así disminuir o eliminar la sífilis congénita.

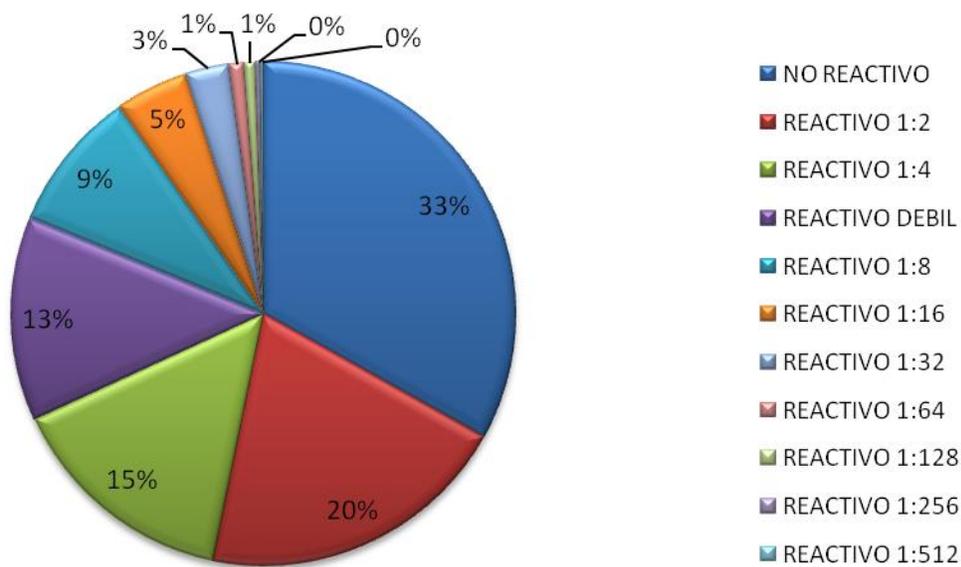
CUADROS Ó GRÁFICAS DE RESULTADOS.

TABLA 1. *“Frecuencia y Porcentaje de Resultados Cualitativos de RPR de pacientes confirmados en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”*

RESULTADO DE RPR	FRECUENCIA	PORCENTAJE
REACTIVO	1034	67%
NO REACTIVO	512	33%
TOTAL	1546	100%

FUENTE: PROPIA

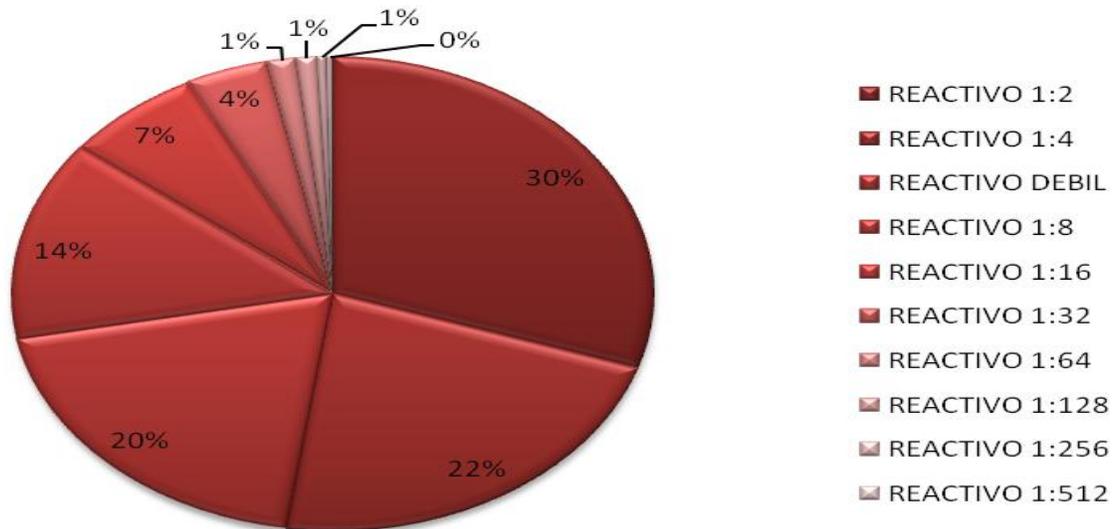
Grafico 1. *“Porcentaje de Resultados Cualitativos y Semicuantitativos de RPR de pacientes confirmados en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”*



FUENTE: PROPIA.

FUENTE: PROPIA.

Grafico 2. “Porcentaje de Resultados Semicuantitativos de RPR de muestras de pacientes enviadas a confirmar el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”



FUENTE: PROPIA.

TABLA 2. “Frecuencia y Porcentaje Resultados de FTA-ABS de pacientes enviados a confirmación en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”

RESULTADO DE FTA-ABS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
REACTIVO	1144	74%
NO REACTIVO	402	26%
TOTAL	1546	100%

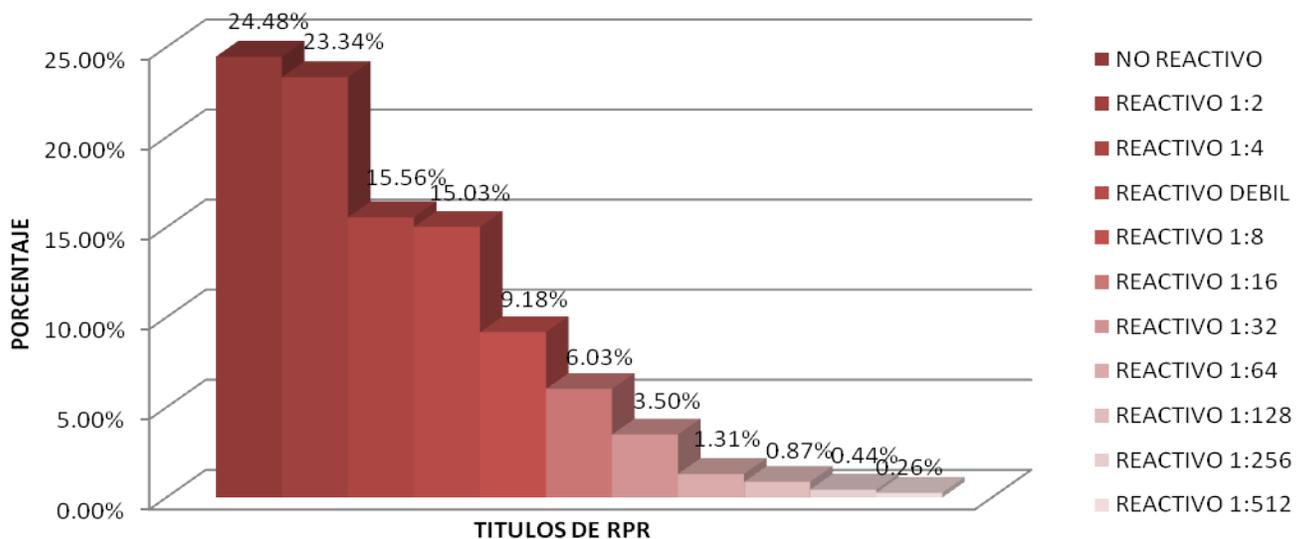
FUENTE: PROPIA

TABLA 3. “Frecuencia y Porcentaje Cruzada de Resultados de RPR y FTA-ABS de pacientes confirmados en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”

RESULTADOS DE TITULOS DE RPR	RESULTADOS DE FTA-ABS			
	NO REACTIVO	%	REACTIVO	%
REACTIVO 1:512	0	0	3	0.26
REACTIVO 1:256	0	0	5	0.44
REACTIVO 1:128	1	0.25	10	0.87
REACTIVO 1:64	0	0.0	15	1.31
REACTIVO 1:32	3	0.75	40	3.5
REACTIVO 1:16	3	0.75	69	6.03
REACTIVO 1:8	36	8.96	105	9.18
REACTIVO DEBIL	31	7.71	172	15.03
REACTIVO 1:4	52	12.94	178	15.56
REACTIVO 1:2	44	10.95	267	23.34
NO REACTIVO	232	57.71	280	24.48
TOTAL	402	100%	1144	100%

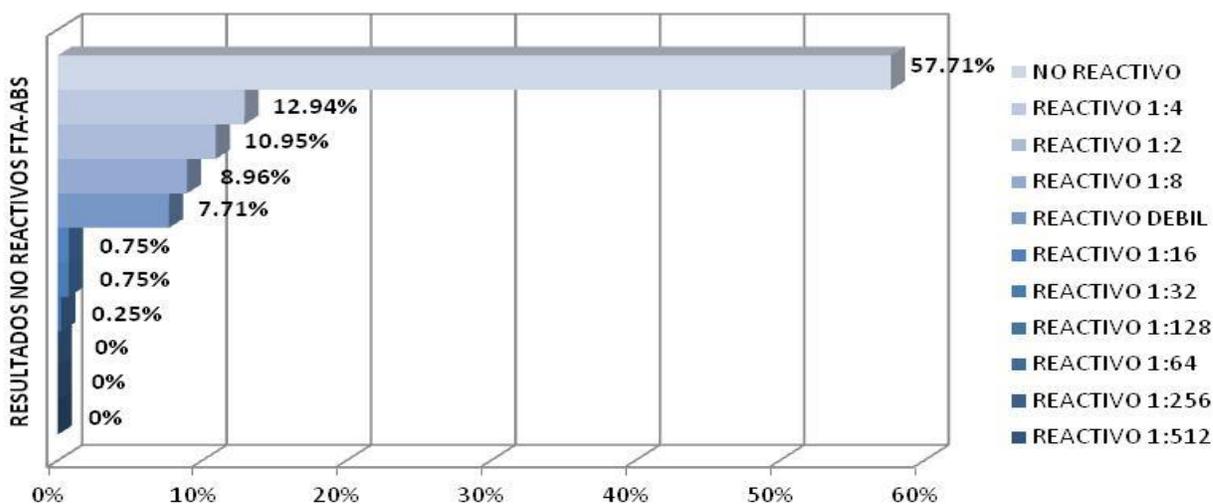
FUENTE PROPIA

Grafico 2. “Porcentaje de Resultados Cualitativos y Semicuantitativos de RPR de pacientes confirmados Reactivos por FTA-ABS en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”



FUENTE: PROPIA

Grafico 3 “Porcentaje de Resultados Cualitativos y Semicuantitativos de RPR de pacientes confirmados Reactivos por FTA-ABS en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”



FUENTE: PROPIO

TABLA 4. “Frecuencia Cruzada de Resultados de RPR y FTA-ABS de pacientes confirmados en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”

RESULTADO DE RPR	ESTADO REAL DE LOS ANTICUERPOS (RESULTADOS DE FTA-ABS)		
	REACTIVO	NO REACTIVO	TOTAL
REACTIVO	864	170	1034
NO REACTIVO	280	232	512
TOTAL	1144	402	1546

FUENTES: PROPIO

TABLA 5. “Frecuencia y Porcentaje de Resultados de RPR confirmados Reactivos por FTA-ABS en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”

RESULTADO DE RPR	RESULTADOS DE FTA-ABS REACTIVOS	
	FRECUENCIA	%
REACTIVO	864	75.5%
NO REACTIVO	280	24.5%
TOTAL	1144	100%

FUENTE: PROPIA

TABLA 6. “Frecuencia y Porcentaje de Resultados de RPR confirmados No Reactivos por FTA-ABS en el año 2010 en la Sección de Serología de La Unidad Vigilancia Laboratorial”

RESULTADO DE RPR	RESULTADOS DE FTA-ABS NO REACTIVOS	
	FRECUENCIA	%
REACTIVO	170	42.3%
NO REACTIVO	232	57.7%
TOTAL	402	100%

FUENTE: PROPIA

CONCLUSIONES

- Se determino que la sensibilidad de la prueba rápida de reagina (RPR) está en el rango que se podría decir normal pero para ser una prueba de tamizaje su sensibilidad debería ser mayor.
- Se detecto que la especificidad de la prueba es muy baja y es por ello que tiene una baja capacidad de detección de los verdaderos negativos.
- El Valor predictivo Positivo de la prueba no es muy bajo por tanto la capacidad de detección de los verdaderos positivos no es baja, pero el Valor Predictivo Negativo si se determino en un porcentaje muy bajo para ser una prueba de tamizaje.

RECOMENDACIONES

- Se debe de analizar y buscar nuevas prueba con una sensibilidad y especificidad mayor para la detección de los sospechosos de Sífilis tanto en los laboratorios como en los Bancos de Sangre.
- Se debe de mejorar o implementarse un flujograma Diagnostico de Sífilis que inicie con una prueba más sensible y específica como una prueba treponémica para disminuir los falsos positivo y los falsos negativos.
- Como la prueba de RPR no puede ser eliminada porque es la única prueba que evalúa el tratamiento de los diagnosticado con Sífilis , esta prueba debe ser utilizada en conjunto con una prueba treponémica para el diagnostico de Sífilis,

BIBLIOGRAFIA

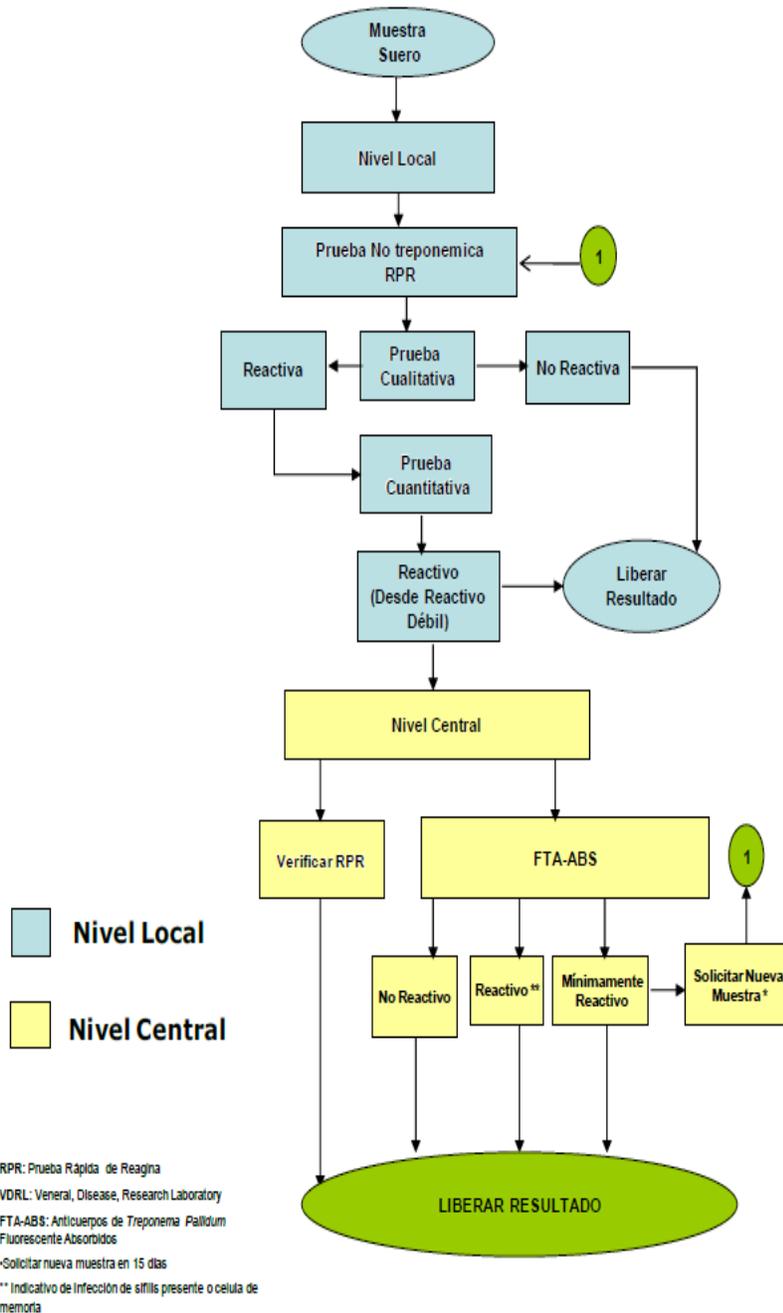
1. BASUALDO, JUAN ANGEL; COTO, CELIA E.; DE TORRES, RAMÓN ALBERTO. 1996. **Microbiología Biomédica: bacteriología, micología, virología, parasitología e inmunología**. Buenos Aires, Argentina. Editorial Atlante s.r.l. Pág. 400-40.
2. JAWETZ, MELNICK Y ADELBERG. 2005. **Microbiología médica**. 18ª edición. Colombia. Editorial El Manual Moderno. Pág. 325-336.
3. KONEMAN, ALLEN, JANDA Y OTROS. 1992. **Diagnóstico Microbiológico**. 3ª edición. Buenos Aires, Argentina. Editorial Médica Panamericana. Pág. 838-854
4. MARÍA HERNÁNDEZ-TREJO, BERNARDO HERNÁNDEZ-PRADO, FELIPE URIBE-SALAS,* LUIS JUÁREZ-FIGUEROA, CARLOS J. CONDE-GONZÁLEZ. **Sífilis Materna Y Congénita En Dos Hospitales Mexicanos: Evaluación De Una Prueba Diagnóstica Rápida**.
5. AURORA SALAZAR J., CECILIA PERRET, ANA CHAVEZ, PATRICIA GARCIA, ZUNILDA MILLAN, MANUELA GOYCOOLEA, JACQUELINE PARADA, LILIANA URRÁ, EUGENIA AHUMADA, TERESA YOMA, CLARA DUQUE, ODETTE HERMAN, TERESA QUIROGA. **Evaluación de métodos diagnósticos para sífilis congénita**.
6. NAYRAH VILLAZÓN-VARGAS, CARLOS J CONDE-GLEZ, LUIS JUÁREZ-FIGUEROA, FELIPE URIBE-SALAS. **Prevalencia de sífilis materna y evaluación de una prueba diagnóstica rápida en Cochabamba, Bolivia**
7. MAYE BERNAL RIVERA, MAURICIO ZÚÑIGA, MIGUEL GUZMÁN, MARCO ANDRÉS GORDILLO FORERO, MARTHA ÁLVAREZ. **Frecuencia De Sífilis En Una Población Altamente Vulnerable. Evaluación De Dos Tipos De Antígenos Para Su Diagnóstico**
8. **Evaluación del antígeno-RPR elaborado por la Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay"** Ciudad de La Habana, 20 de febrero de 1998.

9. HERNÁNDEZ-TREJO M, HERNÁNDEZ-PRADO B, URIBE-SALAS F, JUÁREZ-FIGUEROA L, CONDE-GONZÁLEZ CJ. **Sífilis Materna Y Congénita En Dos Hospitales Mexicanos: Evaluación De Una Prueba Diagnóstica Rápida**". Rev. Invest. Clin. 2006; 53: 375-7.
10. ANTONIO FUERTES. **Diagnóstico Serológico De La Sífilis**. Servicio de Microbiología. Hospital Doce de Octubre. Madrid.
11. HERNANDO GAITÁN-DUARTE, JORGE ANDRÉS RUBIO-ROMERO, MARGARITA GÓMEZ-CHANTRAINE. **Interpretación del desempeño operativo de las pruebas de tamiza je y de diagnóstico en enfermedades en obstetricia y ginecología**.
12. Dr. RAMÓN A. CUSTODIO LÓPEZ. **Reacciones Serodiagnósticos en la Sífilis y Reacciones Biológicas Falsamente Reactivas (RBFR) en Tegucigalpa, Honduras (1972 = 1975)**.
13. **Costos Operacionales De La Ampliación Del Tamizaje Prenatal De Sífilis Mediante Sistemas Rápidos En Bolivia Y Mozambique**. *Rev Panam Salud Publica/Pan Am J Public Health 22(2), 2007*.
14. **Protocolo De Vigilancia De Sífilis Gestacional Y Congénita**. Instituto Nacional de Salud - Subdirección de Vigilancia y Control 2007.
15. S. GARCÍA CISNEROS, M. OLAMENDI PORTUGAL, A. MÉNDEZ HERRERA, M. VELÁSQUEZ MEZA, C. PORTUGAL GARCÍA, S. BAHENA REYES, V. GUERRERO LEMUS, M. A. SÁNCHEZ ALEMÁN, C. J. CONDE GONZÁLEZ. **Sensibilidad Y Especificidad De Dos Pruebas Treponémicas Para El Diagnóstico Serológico De La Sífilis**.
16. SANGUINETI-DÍAZ, CECILIA. **Pruebas De Laboratorio En El Diagnóstico De La Sífilis**. Dermatología Peruana - Vol. 10, Suplemento Nº 1, Diciembre 2000.

ANEXOS

ANEXO 1

ALGORITMO PARA EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE SIFILIS UTILIZADO ACTUALMENTE EN LA RED DE LABORATORIOS DEL MINSAL.



PROCEDIMIENTOS DE RPR (Prueba Rápida de Reagina para detección de Sífilis)

ASI RPR (Arlington Scientific Inc)

- **Principio del Procedimiento**

La prueba de tarjeta ASI RPR, es un ensayo de floculación no treponémicos macroscópico, que se desarrolla en 8 minutos y sirve para la detección de reaginas. Las micropartículas de antígeno de carbón RPR mejoran la discriminación visual entre los resultados reactivo y no reactivo. Los anticuerpos tipo reaginas se unen con los antígenos formando un complejo de cardiolipina, lecitina y partículas de colesterol con carbón activado. El resultado es una reacción antígeno-anticuerpo que se muestra como una floculación macroscópica.

- **Muestra Requerida**

1. Pueden utilizarse muestras de suero tanto inactivadas como no inactivadas y muestras de plasma conteniendo EDTA, CPD o CPDA-1 como anticoagulantes. Las muestras de plasma deben ser obtenidas de tubos o unidades de sangre que hayan sido recolectadas con el volumen adecuado y la proporción adecuada de muestra y de anticoagulante. **Esta prueba no debe ser utilizada con muestras de líquido cefalorraquídeo.**
2. Las muestras deben de estar libres de contaminación bacteriana, hemólisis marcada o lipemia. Una muestra con hemólisis marcada se conoce ya que no será posible leer letra impresa a través de ella.
3. Las muestras de suero deben de ser procesadas dentro de las 72 horas de haber sido obtenidas si han sido guardadas de 2 a 8°C. Las muestras que requieran un periodo de tiempo más largo de almacenaje, deberán ser separadas del paquete de glóbulos rojos y podrán ser guardadas por 5 días de 2 a 8°C o congeladas a -20°C hasta que sean procesadas.
4. Muestras de plasma almacenadas por más de 48 horas a temperatura ambiente no deberán ser utilizadas para realizar el ensayo debido al riesgo potencial de resultados falsos reactivos.
5. Si es necesario, antes de realizar la prueba, centrifugue las muestras lo suficiente para sedimentar los componentes celulares.
6. Las muestras que sean enviadas para su procesamiento, deberán ser puestas en hielera y empacadas como cualquier otro material bioinfeccioso que pueda potencialmente transmitir una infección.

- **Reactivos y/o Materiales**

- Antígeno de carbono: Cardiolipina 0.003%, lecitina 0.020-0.022%, colesterol 0.09%, carbón activado como agente facilitador para la mejor visualización de la reacción, Buffer fosfato, timerosal como preservante y estabilizadores.

- Controles (reactivo, reactivo débil, y no reactivo): suero humano o plasma sin fibrina (liquido) con 0.1% de azida sódica como preservante.
- Gotero de 3 ml.
- Aguja Dispensadora (60 gotas x ml)
- Tarjetas para RPR de 10 Pozos
- Pipetas Dispensadoras Descartables de 0.05 ml.
- Solución Salina al 0.85%.
- Suero No reactivo.
- Controles Internos reactivos y no reactivos.
- Tubos 12x75mm.
- Gradillas de 12x75mm.
- Jeringa descartable de 1 o 3 ml, con una precisión de +- 5%.
- Papel Toalla.
- Guantes.

- **Equipos.**

- Rotador mecánico a 100+-5 RPM con un diámetro de ¾ de pulgada y una cubierta humidificante.
- Cronometro.
- Pipetas de 10 µl., 50 µl, 150 µl, y 1000µl.

- **Procedimientos**

1. Permita que todos los reactivos y muestras estén a temperatura ambiente (de 20 a 30°C) antes del uso.
2. Elabore su protocolo de ensayo para la ubicación de las muestras y los controles en la tarjeta, anote la localización de cada muestra usando los números ubicados abajo y a la izquierda de cada círculo.
3. Suavemente mezcle los reactivos antes de su uso, evitando la formación de espuma.
4. Agite vigorosamente el ANTIGENO CARBON por 20-30 segundos antes de usarse para asegurar su homogeneidad.

Ensayo Cualitativo

1. Usando una pipeta mezcladora, dispense una gota (50 µl) de cada muestra (suero o plasma) dentro de cada círculo de la tarjeta, Utilizando una pipeta mezcladora por cada muestra. Cuando use la pipeta mezcladora, mantenga la pipeta en posición vertical para asegurar el dispensado preciso.

2. Repita el procedimiento agregando una gota de **controles** reactivo, reactivo débil y no reactivo directamente por medio de los goteros suministrados.
3. Usando el extremo plano de la pipeta mezcladora, disperse la muestra sobre todo el área dentro del círculo. No raye la superficie del área de prueba.
4. Coloque la aguja en el gotero. Mezcle bien la suspensión **antígeno Carbón**. Apriete la botella del gotero y aspire del frasco de antígeno la cantidad de antígeno que será utilizada, Dispense algunas gotas en la cubierta de la aguja para confirmar que el paso de la aguja esta libre.
5. Antes de dispensar el antígeno carbón agite la botella del gotero por unos pocos segundos para asegurar su homogeneidad. Dispense una gota en caída libre en cada uno de los círculos, manteniendo la botella en posición vertical. No mezcle la muestra con el antígeno. Aspire cualquier antígeno sobrante en la tapadera de la cubierta de la aguja.
6. Colocar la tarjeta en un **Rotador automático** y cubra para mantener la humedad. Rote a 100+- 5 RPM por 8 minutos. Luego de la rotación debe realizarse una rotación a mano unas 3 o 4 veces,
7. Inclinar la tarjeta para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de los débilmente reactivos.
8. Leer inmediatamente los resultados macroscópicamente en estado húmedo bajo una fuente de luz intensa.
9. Remover y lavar la aguja al final de cada corrida.

Ensayo Semicuantitativo.

1. Utilizar una pipeta mezcladora (o pipeta volumétrica capaz de dispensar 50 µl.), dispensar una gota de solución salina dentro de los círculos numerados del 2 al 5. No la esparza fuera del círculo.
2. Utilizar una pipeta mezcladora (o pipeta volumétrica capaz de dispensar 50 µl.) dispense una gota de suero o plasma dentro del círculo número 1. No la esparza fuera del círculo.
3. Utilizar una pipeta volumétrica, dispense 50 µl de la muestra dentro del círculo número 2. Inserte la punta de la pipeta dentro de la mezcla resultante y mezcle cuidadosa y repetidamente de arriba abajo 5 o 6 veces. Evite cualquier formación de espuma.
4. Transferir 50 µl de la mezcla del círculo 2 al círculo 3 y mezcle. Repita este procedimiento y dilución seriada al círculo 4 y luego al círculo 5; descarte 50 µl del último círculo. Los círculos del 1 al 5 ahora representan una dilución en serie como sigue:

Círculo	1	2	3	4	5
Dilución	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

5. Usando la parte plana de la pipeta mezcladora, esparza las muestras diluidas sobre el área de cada círculo, iniciando en el círculo número 5 (la dilución más alta). Repita el procedimiento de esparcir las muestras en todos los círculos de a partir del círculo 4 al 1.
6. Colocar la aguja en el gotero. Mezcle bien la suspensión antígeno Carbón. Apriete la botella del gotero y aspire del frasco de antígeno la cantidad de antígeno que será utilizada, Dispense algunas gotas en la cubierta de la aguja para confirmar que el paso de la aguja esta libre.
7. Colocar la tarjeta en un rotador automático y cubra para mantener la humedad. Rote a 100+- 5 RPM por 8 minutos. Luego de la rotación debe realizarse una rotación a mano unas 3 o 4 veces, inclinando la tarjeta para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de los débilmente reactivos.
8. Leer Inmediatamente, los resultados macroscópicamente en estado húmedo bajo una fuente de luz intensa.
9. Remover y lavar la aguja al final de cada corrida.

MUESTRAS CON TITULOS MAYORES DE 1:16

10. Prepare una dilución 1:50 con un suero no reactivo utilizando solución salina. Esta será usada para hacer la dilución 1:32 o diluciones más altas de las muestras a ser tituladas. Dispense 0.05 ml de esa solución dentro de los círculos marcados 2 al 5. No la esparza fuera del círculo.
11. Prepare una dilución 1:16 de la muestra agregando 0.1 ml de suero a 1.5ml de solución salina. Mezcle completamente. Dispense 0.05ml de esta solución diluida dentro de los círculos 1 y 2. No la esparza fuera del círculo.
12. Mezcle la solución en el círculo 2 Utilizando una pipeta volumétrica aspire la mezcla y devuelva la muestra al círculo 5 o 6 veces para asegurar una mezcla completa. Evite la formación de burbujas.
13. Transfiera 0.05 ml de la mezcla del círculo 2 al círculo 3 y mezcle tal como lo hizo en el círculo 2. Continúe las diluciones seriadas hasta el círculo No. 5 y descarte 0.05ml del último círculo después de mezclar. Los círculos del 1 al 5 representan una dilución en serie tal como se observa a continuación.

CÍRCULO	1	2	3	4	5
DILUCION	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256

14. Usando la parte plana de la pipeta mezcladora, esparza las muestras diluidas sobre el área de cada círculo, iniciando en el círculo número 5 (la dilución más alta). Repita el procedimiento de esparcir las muestras en todos los círculos de a partir del círculo 4 al 1.

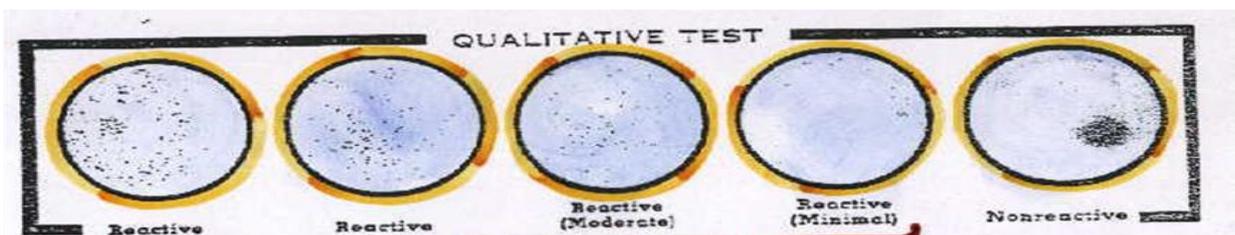
15. Colocar la aguja en el gotero. Mezcle bien la suspensión antígeno Carbón. Apriete la botella del gotero y aspire del frasco de antígeno la cantidad de antígeno que será utilizada, Dispense algunas gotas en la cubierta de la aguja para confirmar que el paso de la aguja esta libre.
16. Colocar la tarjeta en un rotador automático y cubra para mantener la humedad. Rote a 100+- 5 RPM por 8 minutos. Luego de la rotación debe realizarse una rotación a mano unas 3 o 4 veces, inclinando la tarjeta para ayudar a diferenciar los resultados no reactivos de los débilmente reactivos.
17. Leer Inmediatamente, los resultados macroscópicamente en estado húmedo bajo una fuente de luz intensa.
18. Remover y lavar la aguja al final de cada corrida.
19. Continúe con diluciones adicionales según sea requerido hasta que alcance el punto de titulación.

- **Interpretación de Resultados**

Un resultado reactivo es indicado por la presencia de agregados en el centro y la periferia del círculo de la prueba. Observándose un rango de intensidad de ligero a fuerte e intenso. Un resultado no reactivo dará una apariencia gris suave dentro del círculo o un botón de partículas de carbón no agregadas en el centro del círculo, Si no presenta ninguna aglutinación, es un resultado reactivo.

Los resultados para la prueba ASI RPR deberán ser reportados solamente como reactivos o no reactivos, independientemente del grado de reactividad. Reactividad mínima o moderada deberá siempre reportarse como reactivo.

Reacciones granulares ligeras o gruesas deberán ser repetidas usando un procedimiento alternativo. Para tamizaje de donante, estas deberán ser reportadas como “indeterminadas”, pendientes para posterior evaluación. Vea la sección



- **Limitaciones y/o Interferencias y/o Precauciones**

- Las reacciones de prozona ocurren en pacientes con sífilis secundaria. Los resultados falsos negativos de las pruebas no treponémicas, que son vistas en el fenómeno de prozona son también vistas en periodos tempranos de sífilis ASI como en etapas tardías de sífilis. El patrón no reactivo es ligeramente granular o grueso con muestras que presentan el fenómeno de prozona. Cuando este patrón está

presente, una dilución de la muestra debe ser preparada. Titule la muestra diluida hasta que alcance el punto de titulación o hasta que no se observe reactividad. Todas las pruebas que muestren una apariencia gruesa deben ser nuevamente evaluadas posteriormente.

- Reacciones biológicas falsas positivas pueden ocurrir ocasionalmente con el antígeno de carbón. Tales reacciones ocurren a veces en muestras de individuos con una historia de abuso de drogas, o con enfermedades como lupus eritematoso, malaria, vacunación, monucleosis, lepra, neumonía viral y después de la vacunación contra la varicela.
- Otras enfermedades que producen reacciones positivas a este test son, la pinta, yaws, bejel.
- Sueros hemolizados, lipémicos o contaminados no deben de ser utilizados porque pueden producir reacciones no específicas. Se puede saber cuándo una muestra está muy hemolizada cuando no se puede leer letra impresa a través del mismo.
- Los tiempos de reacción más largos que los especificados pueden causar resultados falsos positivos debido al efecto de la deshidratación.
- Las muestras que sean reactivas para RPR deben ser confirmadas utilizando una prueba confirmatoria tal como se recomienda en el “Manual de pruebas para sífilis”
- La temperatura de los reactivos y muestra es crucial para la realización de la prueba; deben estar entre 20°C a 30°C.
- En concordancia con todos los métodos diagnósticos, un diagnóstico final no debe de ser dado con el resultado de una sola prueba, deberá estar basado en la correlación de los resultados de la prueba y otros hallazgos clínicos.

- **Falsos Positivos**

- Paludismo
- Lepra
- Embarazo
- VIH
- Narcóticos
- Otros
- No atemperar las muestras y los reactivos

- Lupus eritematoso
- Mononucleosis infecciosa
- Neumonía viral
- Hepatitis
- Temperaturas altas arriba de 30°C en muestras y reactivo.

- **Falsos Negativos**

- El fenómeno de prozona
- Etapa primaria de la sífilis

ANEXO 3

PROCEDIMIENTO DE FTA-ABS

- ⊙ Inactivar el suero en baño de maría a 56º C durante 30 minutos. Hacer el protocolo de trabajo.
- ⊙ Preparar la solución salina tamponada con fosfato (PBS), en un volumétrico de 1000 ml decantar el contenido de las sales para PBS y llevarlo a la marca con agua destilada.
- ⊙ Rotular los tubos del 1-5 que contendrán los controles y las muestras con su respectivo número para su dilución.

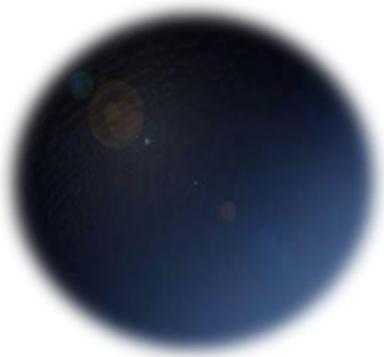
Número de Tubos	PBS	Diluyente o sorbe	Suero Reactivo	Suero No Especifico	Dilución	Lectura esperada
1	200 ul	-	50 ul	-	1: 5	R(4+)
2	-	200 ul	50 ul	-	1: 5	R(3+ a 4+)
3	3990 ul	-	10 ul	-	1: 400	R(1+)
4	200 ul	-	-	50 ul	1: 5	R(4+)
5	-	200 ul	-	50 ul	1: 5	NR
6	10 ul	-	-	-	Puro	NR
7	-	10 ul	-	-	Puro	NR
muestra	-	200 ul	-	-	1: 5	-

- ⊙ Hacer diluciones siguiendo las indicaciones del cuadro anterior y mezclarlos.
- ⊙ Sacar las láminas del congelador y prepararlas para su montaje.
- ⊙ Coloque 10 ul en cada pozo se cada una de las diluciones siguiendo el protocolo de trabajo en las láminas de FTA-ABS.
- ⊙ Incubar las láminas en la estufa a 37º C por 30 minutos (cámara húmeda).
- ⊙ Lavar las láminas con PBS por 10 minutos (dos veces con PBS y la última con agua destilada).
- ⊙ Dejar secar a temperatura ambiente.
- ⊙ Colocar el conjugado (10 ul) a cada pozo.
- ⊙ Incubar las láminas en la estufa a 37º C por 30 minutos (cámara húmeda).
- ⊙ Lavar las láminas con PBS por 10 minutos (dos veces con PBS y la última con agua destilada).
- ⊙ Dejar secar a temperatura ambiente.

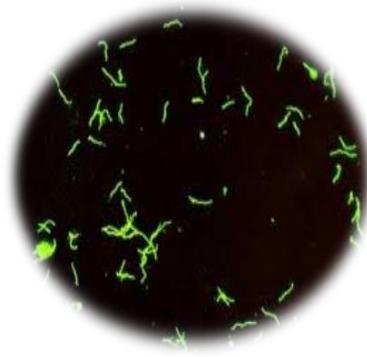
- Colocar el medio de montaje cinco gotas pequeñas en el centro de cada lámina y colocar un cubreobjetos de 24x60.
- Guardar las láminas en oscuridad para ser leídas en un Microscopio de Luz Ultravioleta.

INTERPRETACION DE RESULTADOS

NO REACTIVOS



REACTIVO



La intensidad Inmunofluorescencia emitida es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en el suero la reactividad en el protocolo se reporta 4+ hasta 1+.