

10
24



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**EVALUACION DE TECNICAS TREPONEMICAS Y NO
TREPONEMICAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA
SIFILIS EN UNA POBLACION DE DONADORES
DE SANGRE**

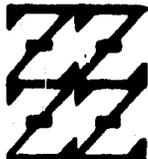
T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO**

P R E S E N T A :

OSCAR CORONA CARBAJAL

**U N A M
F C B
ZARAGOZA**



**LO HUBIERO EGO
DE NUESTRA FACULTAD**

MEXICO, D. F.

1996

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

**EVALUACION DE TECNICAS TREPONEMICAS Y NO
TREPONEMICAS PARA EL DIAGNOSTICO DE LA SIFILIS EN UNA
POBLACION DE DONADORES DE SANGRE.**

presenta:

OSCAR CORONA CARRAJAL

Asesores de tesis:

DR. RUBEN MARROQUIN SEGURA

Q.F.B. ENRIQUE SANCHEZ MONTERO

MEXICO, D.F.

1996

Le dedico esta tesis a mis padres y hermanos, por su apoyo y comprensión durante toda mi formación profesional.

A mi esposa e hija, por su amor y ser la principal motivación para seguir adelante día con día en mi superación personal.

A todos aquellos familiares y amigos que de alguna manera han sido parte de ello, en especial a Gerardo y Elena por su colaboración en la elaboración de este proyecto.

A todos mis profesores, que me fueron formando durante todos mis ciclos escolares, especialmente a mis asesores de tesis por todas sus orientaciones.

Y sobre todo le doy gracias a Dios, por haberme dado la vida y permitido lograr que este sueño sea ahora una realidad.

Agradesco al Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, al Instituto Nacional de Salud Pública y a Payer Diagnóstica, especialmente a la Dra. Pauline Bush H. por haberme permitido la realización de este trabajo y apoyado en todo momento.

OSCAR CORONA CARBAJAL.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCION	1
2. FUNDAMENTACION TEORICA	4
2.1 HISTORIA	
2.2 DEFINICION DE LA ENFERMEDAD	
2.3 AGENTE ETIOLOGICO	
2.3.1 Mecanismos de patogenicidad	
2.3.2 Mecanismos de defensa del huésped	
2.4 SINTOMATOLOGIA	
2.5 DIAGNOSTICO	
2.5.1 Hallazgos clínicos	
2.5.2 Demostración directa de las espiroquetas	
2.5.3 Pruebas serológicas	
2.5.3.1 Pruebas no treponémicas	
2.5.3.1.1 VDRL	
2.5.3.1.2 RPR	
2.5.3.1.3 USR	
2.5.3.2 Pruebas treponémicas	
2.5.3.2.1 Hemaglutinación (MHA-TP)	
2.5.3.2.2 Aglutinación pasiva (MA-TP)	
2.5.3.2.3 Inmunofluorescencia (FTA-ABS)	
2.5.3.3 Diagnóstico de sífilis congénita	
2.5.3.4 Pruebas serológicas para evaluación del tratamiento	
2.5.3.5 Diagnóstico de neurosífilis	
2.5.3.6 Dificultades en el diagnóstico	
2.5.3.6.1 Ventajas y desventajas de las técnicas serológicas	
2.5.3.6.2 Falsos negativos	
2.5.3.6.3 Falsos positivos	
2.6 EPIDEMIOLOGIA	
2.7 TRATAMIENTO	
2.8 PROFILAXIS	

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	51
4. OBJETIVOS	52
5. HIPOTESIS	53
6. DISEÑO DEL ESTUDIO	54
6.1 TIPO DE ESTUDIO	
6.2 POBLACION OBJETIVO	
6.3 CRITERIOS DE INCLUSION	
6.4 CRITERIOS DE EXCLUSION	
6.5 TAMAÑO DE MUESTRA	
7. MATERIAL.	57
7.1 MATERIAL BIOLOGICO	
7.2 MATERIAL DE LAS TECNICAS SEROLOGICAS	
7.2.1 Técnicas no treponémicas	
7.2.1.1 RPR Interdiagnóstica	
7.2.1.2 RPR Interbiol	
7.2.1.3 USR Interbiol	
7.2.1.4 VDRL Látex Pasteur	
7.2.2 Técnicas treponémicas	
7.2.2.1 Serodia TP Fujirebio	
7.2.2.2 Serodia TP PA	
7.2.2.3 Syphilam Pasteur (FTA-ABS)	

8. METODOLOGIA	62
8.1 OBTENCION DEL MATERIAL BIOLOGICO	
8.2 METODOS DE LAS TECNICAS SEROLOGICAS	
8.2.1 Técnicas no treponémicas	
8.2.1.1 RPR Interdiagnóstica	
8.2.1.2 RPR Interbiol	
8.2.1.3 USR Interbiol	
8.2.1.4 VDRL Látex Pasteur	
8.2.2 Técnicas treponémicas	
8.2.2.1 Serodia TP Fujirebio	
8.2.2.2 Serodia TP PA Fujirebio	
8.2.2.3 Syphilam Pasteur	
8.3 TRATAMIENTO ESTADISTICO	
9. RESULTADOS	72
10. DISCUSION DE RESULTADOS	110
11. CONCLUSIONES	115
12. SUGERENCIAS	116
13. REFERENCIAS	117

1. INTRODUCCION

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual, aunque también puede ser adquirida mediante transfusión sanguínea, a pesar del almacenamiento a bajas temperaturas. Es por ello que en los bancos de sangre se realizan estudios para su detección en los posibles donadores.

Las técnicas serológicas que se habían utilizado durante los últimos años en el CNTS presentaban resultados erróneos frecuentemente, ya que la mayoría de los sueros con resultado positivo no presentaban ningún historial clínico que los asociara con esta enfermedad, por lo que los resultados posiblemente se deben a otras causas no determinadas por falta de una técnica específica para confirmar el diagnóstico, ya que la técnica utilizada para dicho fin es la FTA-ABS que es demasiado laboriosa y costosa para su empleo rutinario.

Con el objeto de evitar esta problemática se realizó un estudio comparativo entre diferentes técnicas específicas e inespecíficas buscando encontrar una técnica inespecífica confiable para su uso rutinario en la selección del donador y una técnica específica, para confirmar aquellos resultados sospechosos de manera sencilla y económica, para evitar el injustificado rechazo de donadores permitiendo a la vez un mayor "control" tanto médico como epidemiológico de las personas infectadas, con el fin de obtener sangre segura para todos los mexicanos.

Las técnicas evaluadas fueron cuatro no treponémicas (RPR-IB e ID, VDRL LATEX y USR-IB) y dos treponémicas (SERODIA TP y SERODIA TP-PA), y los sueros estudiados provienen de tres poblaciones que se dividen en donadores sanos, pacientes con padecimientos diversos y personas de alto riesgo de contagio. Todos los resultados obtenidos se compararon contra la técnica de referencia FTA-ABS.

Los resultados obtenidos mostraron que todas las técnicas no específicas presentan problemas de resultados falso positivos, principalmente en la población con padecimientos diversos, debido a una reactividad cruzada que no se encontró asociada a ningún padecimiento en especial, y problemas de resultados falso negativos principalmente en la población de alto riesgo, ya que estos sueros son de mujeres prostitutas que han padecido esta enfermedad durante muchos años, presentando en la mayoría un estado latente de la sífilis.

En cuanto a la población de donadores sanos no se presentaron problemas de consideración, por lo que únicamente se recomiendan estas técnicas para su uso rutinario, como prueba tamiz en la selección del donador.

Al presentar resultados semejantes las cuatro técnicas no treponémicas, no se encontró una técnica más confiable que otra, aunque la técnica de RPR mostró ser más sencilla su realización y la técnica de VDRL ligeramente más sensible.

Respecto a las técnicas específicas tanto la hemaglutinación como la aglutinación pasiva mostraron resultados muy satisfactorios en todas las poblaciones estudiadas, ya que su especificidad y su sensibilidad fueron muy semejantes a la de la técnica de referencia (95%); mostraron muy pocos resultados falsos positivos y negativos, por lo que se pueden utilizar como técnicas confirmatorias en lugar de FTA-ABS e incluso como pruebas de rutina para la selección de donadores debido a su sencillez y a su costo mas moderado que otras técnicas específicas .

2. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 HISTORIA

Las primeras descripciones claras de la sífilis se registraron a finales del s. XV cuando una pandemia conocida como la viruela mayor (no viruela) arrasó Europa y Asia. Existe la controversia de que se trata de la información de un problema más antiguo.¹

La transmisión sexual de la sífilis fue reconocida desde el inicio de la pandemia y se hizo la descripción de las tres etapas cutáneas de la enfermedad. Sus principales complicaciones cardiovasculares y neurológicas fueron reconocidas en los siglos XVIII y XIX.¹⁻³

En 1800 John Hunter encontró que la gonorrea, el chancro blando y la sífilis no eran producidas por el mismo microorganismo, pero no logró identificar su etiología.²⁻³

En 1905 Schaudin y Hoffman descubrieron el Treponema pallidum en el suero y en lesiones sífilíticas y Landsteiner lo confirmó en 1906 mediante microscopía de campo oscuro. En 1910 Wasserman descubrió la prueba de fijación de complemento y la prueba serológica de V.D.R.L. (Siglas de Venereal Diseases Research Laboratory), ese mismo año Ehrlich introdujo un derivado del arsénico como tratamiento eficaz (arsfenamina, 606, Salvarsan).

En México no existían problemas graves con respecto a enfermedades de transmisión sexual durante el período de la preconquista (1300 - 1521), pero hubo un incremento en el período colonial (1521 - 1810), a partir de esa fecha empezaron a reportarse casos con síntomas de sífilis. La población indígena femenina fue la más vulnerable al tener relaciones sexuales a una edad muy temprana. ²⁻⁴

En el s. XVIII debido a la llegada de un gran número de emigrantes altamente promiscuos y con mala higiene, aumentaron los problemas venéreos en nuestro país. En los siglos XIX y XX durante la invasión francesa (1860) se introdujo una inspección sanitaria a mujeres prostitutas para proteger a los soldados invasores. La literatura de la época trata principalmente de asuntos morales y legales de las casas públicas, del tratamiento y el diagnóstico disponible en ese tiempo de la venereología clásica. ⁴⁻⁹

En 1913 el Departamento de Salud Pública promovió la prevención de la sífilis. En 1926 hubo un avance en su prevención con el estudio obligatorio prematrimonial y la regulación de la prostitución. En 1940 el uso de la penicilina controló la enfermedad y en 1952 se produjo el antígeno del V.D.R.L. en México, con lo que se facilitó el diagnóstico.

En la actualidad cada estado de la República Mexicana cuenta con programas contra esta enfermedad venérea e información acerca de su prevalencia. Los esfuerzos del Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencias Epidemiológicas (INDRE) y el Instituto Nacional de Salud Pública (INSP) de Cuernavaca presentan programas de diagnóstico y epidemiología para mejorar el conocimiento de esta enfermedad.¹⁰⁻¹¹

2.2 DEFINICIÓN DE LA ENFERMEDAD

La sífilis es una infección sistémica, aguda y crónica, causada por el Treponema pallidum (Spirochaeta pallida). Es una enfermedad venérea, transmitida sexualmente, mediante transfusión sanguínea y a través del embarazo. Se caracteriza por un período de incubación que promedia 3 semanas, seguido por una lesión primaria asociada con una linfadenopatía regional; una etapa bacterémica secundaria, que presenta lesiones mucocutáneas y linfadenopatía generalizadas; un período latente de infección subclínica (latencia) que perdura muchos años y en cerca de la tercera parte de los casos no tratados, una etapa terciaria caracterizada por lesiones destructivas, progresivas, musculoesqueléticas, aortitis y afección del Sistema Nervioso Central (SNC) denominada neurosífilis.^{1,10-12}

2.3 AGENTE ETIOLÓGICO

ORDEN: Spirochaetales

FAMILIA: Spirochaetaceas

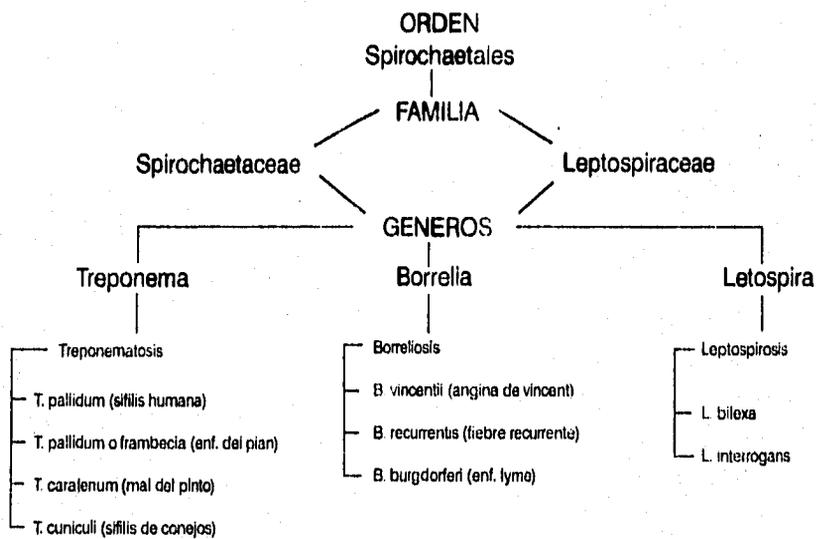
GÉNERO: Treponema

ESPECIE: pallidum

NOMBRE: Treponema pallidum (Spirocheta pallida)

Es una bacteria gramnegativa, espiroqueta (por su forma helicoidal), anaerobia, muy móvil mediante rotación y ondulación girando en torno a su eje longitudinal, de 5 a 15 micras de longitud y 0.4 a 2.0 micras de ancho. Posee de 4 a 10 espirales flexibles y ondulados en forma de bastón. Es osmóticamente sensible, extremadamente susceptible al frío (temperatura de refrigeración), calor y a la desecación.^{12-14,55}

Debido a su gran movilidad, exigencia nutricional y a la necesidad de un ambiente anaerobio no se puede cultivar <<in vitro>> en gran cantidad; por ello, ningún treponema patógeno se ha podido diferenciar de manera antigénica, morfológica y metabólicamente y solo se pueden diferenciar de manera mas clara por el cuadro clínico que provoca (ver Cuadro I y II).¹⁰



Cuadro 1. Microorganismos de importancia médica (espiroquetas) y sus enfermedades

I, 10-14

Microorganismo	Sífilis venérea T. pallidum	Sífilis endémica T. pallidum endemicum	Pian (jaws) T. pertenue	Mal del pinto T. carateum
Transmisión	Sexual, transplacentaria *	Contactos caseros: Boca a boca o por medio de utensilios para beber y comer	Piel a piel ¿Insecto vector?	Piel a piel ¿Insecto vector?
Edad habitual	Adulto	Primera infancia	Primera infancia	Adolescencia
Lesión Primaria	Chancro (úlceras cutánea)	Rara vez se ve	Frambuesia o pian madre	Pápula no ulcerativa con satélites
Lesión secundaria	Mucocutánea: en ocasiones periostitis	Lesiones mucocutáneas floridas (placa mucosa, pápula hendida, condiloma latum) osteoperiostitis	Lesiones cutáneas papuloscamosas	Pintidas
Lesión Terciaria	Goma, sífilis cardiovascular y del SNC	Gomas osteoarticulares y cutáneas destruktivos	Gomas osteoarticulares y cutáneas destructivos	Máculas discrómicas o acrómicas

Cuadro II. Etiología, epidemiología y manifestaciones clínicas de los treponematos (10)

*Como las treponematosis no venéreas se adquieren por lo general en la niñez y la bacteremia treponémica cura con el tiempo, solo en la sífilis venérea que se inicia en el adulto hay la posibilidad de que una madre de a luz un niño infectado.

2.3.1. MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

Es un patógeno predominantemente extracelular, muy resistente a la respuesta inmunológica por su cubierta mucoide que lo protege contra la fagocitosis, se adhiere a los sitios receptores de la célula huésped por sus extremos ahusados y gracias a su movilidad se replica rápidamente. Esta movilidad la adquiere por su estructura espiral que es mantenida por 6 fibrillas, 3 en cada extremo que se enrollan alrededor del cuerpo celular, las cuales poseen propiedades contráctiles. ^{1,15-18}

El citoplasma del treponema está rodeado por una membrana trilaminar, que a su vez está cubierta por una capa de mucopéptidos. El periplasto está formado por moléculas alternadas de N-acetilglucosamina y N-acetilmurámico, que le dan rigidez estructural. La membrana externa lipoproteica es selectiva.

Debido a su gran sensibilidad al calor y a la desecación, la humedad es esencial en su transferencia directa en el contacto íntimo.

Produce una gran variedad de sustancias necrosantes del tejido provocando inicialmente lesiones locales y después se disemina a todos los órganos y tejidos en estadios posteriores, provocando una respuesta inmunitaria que daña a los propios tejidos y órganos, complicando la enfermedad. ^{1,15-17}

2.3.2. MECANISMOS DE DEFENSA DEL HUÉSPED

La inmunidad en la sífilis se adquiere como resultado de una interacción compleja entre los factores humorales y los celulares. Todos los mecanismos inmunitarios acerca de esta enfermedad son muy especulativos, ya que la sífilis progresa de la etapa primaria a la secundaria a pesar de existir esta respuesta inmune. Las vacunas son muy poco efectivas y solo se logra con microorganismos atenuados, ya que los muertos no dan resultado.

No es un microorganismo extracelular de manera estricta (bajo el control de opsoninas y leucocitos polimorfonucleares -PMNs-), o intracelular (bajo el control de linfocitos y macrófagos).¹⁵⁻¹⁸

Después de la infección primaria se detectan anticuerpos (Acs) no específicos o reagínicos (este último término está mal empleado ya que actualmente se le denomina así a los Acs IgE, que se producen en procesos de alergia) y los específicos inmovilizantes contra el *T. pallidum* (TPIA). Ambos aumentan a medida que progresa a una infección latente o terciaria.

La inmunidad mediada por células se activa durante la etapa secundaria. Los patrones de producción de Acs específicos cambian durante el curso de la sífilis no tratada donde las células B producen Acs específicos al *T. pallidum*. El primer Ac que se produce es del tipo IgM, después de la infección en la sífilis primaria, posteriormente existe una producción de Acs del tipo IgG que gradualmente llega a

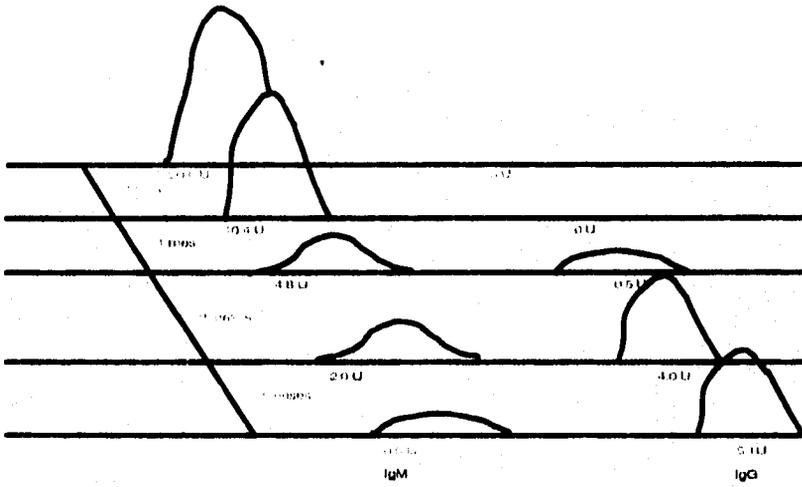
un máximo, mientras que la IgM decrece hasta desaparecer cuando la enfermedad activa cesa. Mientras tanto la IgG permanece positiva aunque a niveles bajos en la sangre del paciente, durante un tiempo largo, a pesar de que la enfermedad se ha curado. (ver gráfica 1)¹²⁻¹⁷

De igual manera los Acs inespecíficos se producen, aunque bajo el tratamiento y cuando la enfermedad desaparece, los Acs tanto IgM como IgG ya no se encuentran en el suero del paciente a diferencia de los Acs específicos.

Debido al largo período de contacto entre el huésped y el T.pallidum (Tp) se ha observado la formación de complejos inmunes que provocan una reacción de autoinmunidad que daña los tejidos y órganos.^{12,15-16}

2.4 SINTOMATOLOGÍA.

El TP puede penetrar con rapidez las mucosas de la piel intacta o erosionada y en unas cuantas horas penetrar los ganglios linfáticos y llegar a la sangre, produciendo una infección sistémica antes de la aparición de la lesión primaria. La concentración de treponemas debe alcanzar los 10^7 microorganismos por gramo de tejido para que aparezca la lesión primaria. ¹



Gráfica 1. Progresión en la producción de anticuerpos en el estadio primario de la sífilis.¹²

Después de un período de incubación de 12 a 30 días el primer signo que aparece es una úlcera endurecida y circunscrita, avascular e indolora, llamada chancro en el sitio de inoculación del treponema. El chancro dura de 2 a 3 semanas antes de cicatrizar en forma espontánea. Durante esa primera etapa (sífilis primaria) el Tp se propaga a los nódulos linfáticos para ser distribuido a todo el cuerpo a través del flujo sanguíneo. Eventualmente las pruebas serológicas son positivas a las 4-6 semanas después de la infección.^{10-12,14,18}

La segunda etapa constituye la sífilis sintomática que desarrolla la sífilis secundaria, y ocurre por presencia de una infección metastática, se manifiesta por lesiones mucocutáneas altamente infectantes con una descripción diversa. Se encuentran distribuidas sobre el tronco y la porción proximal de las extremidades, además ocurre dolor de cabeza, febrícula, linfadenopatías y otros sucesos esporádicos. Estas lesiones entran en una aparente y espontánea cura, sin necesidad de tratamiento.^{1,12,15-16}

Después de la resolución de la sífilis secundaria la enfermedad entra en un período de latencia caracterizado por la ausencia de síntomas y pruebas serológicas positivas, en donde se está desarrollando una infección focal progresiva y persistente. Uno de estos focos potenciales es el SNC. La sífilis latente tardía ocurre después de 2 años de contraída la infección y la temprana antes de los dos años.

Se ha estudiado retrospectivamente el curso de la sífilis no tratada en un grupo de cerca de 2 000 pacientes con sífilis primaria o secundaria diagnosticada clínicamente, antes de que se empezaran a usar las pruebas de Wasserman (estudio de Oslo 1891 a 1951) y prospectivamente en 431 hombres negros con sífilis latente seropositiva de 3 años o más de duración (estudio de Tuskegee 1932 a 1972).

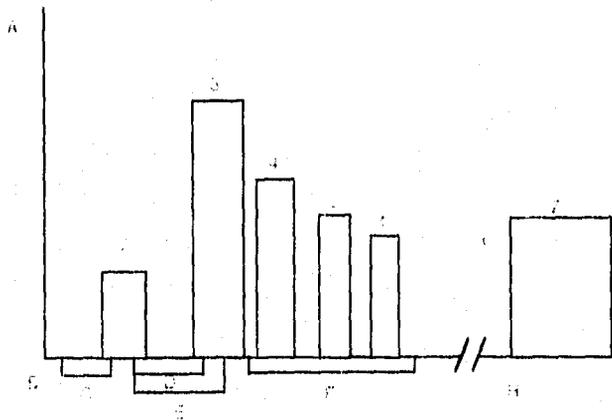
Sólo el 25% de los enfermos con sífilis no tratada alcanza el tercer estadio, la sífilis terciaria que es sintomática y mortal. Se caracteriza por la formación de gomas, granulomas o sifilomas, que atacan varios órganos y tejidos, como lo son la piel, huesos, hígado, laringe y testículos, además provoca varias complicaciones como enfermedades en la aorta (aortitis), en el SNC (parálisis general), en los ojos (queratitis) y glomerulonefritis esta última por formación de complejos inmunitarios.

La sífilis congénita transmitida a través de la placenta, puede provocar un aborto o bien infectar al feto causando lesiones secundarias en la piel y las mucosas o lesiones en los huesos, cartilagos, ojos y SNC. ^{1,10,12,14-18}

En los enfermos que no reciben tratamiento se calcula que uno de cada 13 desarrollará la enfermedad cardiovascular, solo uno de cada 25 quedará incapacitado, uno de cada 44 padecerá un daño irreversible al SNC y uno en 200 quedará ciego. (ver Gráfica 2 y Cuadro III). ^{10,15-16}

ESTADIO DE LA ENFERMEDAD	PRIMARIO	SECUNDARIO	TERCIARIO	CUATERNARIO
Período	3 semanas	↔ 3 meses ↔	3 años ↔	↔ 10 años ↔
Prueba Serológica	Negativa	Positiva		
Progreso	Infección Chancro	ROSEOLA SIFILITICA Papulas Placa mucosa Condiloma latum Lucoderma sifilítico Alopecia sifilítica	Gomma Sífilis nodular	Sífilis cardiovascular Neurosífilis

Cuadro III. Progreso de la sífilis (15-16)



- A. CURSO CLINICO
 B. EXPOSICION
 C. 10 A 90 DIAS
 D. 3 A 8 SEMANAS
 E. 6 SEMANAS A 6 MESES. INTERVALO ENTRE LA ENFERMEDAD PRIMARIA Y LA SECUNDARIA
 F. 4 A 12 SEMANAS. CURACION DE LESIONES SECUNDARIAS
 G. 2 AÑOS DESPUES DE LA PRIMARIA
 H. 10 AÑOS DESPUES DE LA PRIMARIA

1. CHANCRO PRIMARIO
 2. CICATRIZACION
 3. ERUPCION SECUNDARIA
 4. ERUPCIONES SECUNDARIAS RECRUDESCENTES
 5. LATENTE TEMPRANO
 6. LATENTE TARDIO
 7. ENFERMEDAD TERCIARIA

Gráfica 2. Curso de la sífilis no tratada.^{15,16}

2.5 DIAGNÓSTICO.

2.5.1 HALLAZGOS CLÍNICOS.

Como se mencionó en el capítulo de la sintomatología la sífilis presenta 3 estadios muy característicos que la distinguen de otras enfermedades.¹⁸

2.5.2 DEMOSTRACIÓN DIRECTA DE LAS ESPIROQUETAS.

El método más antiguo fue la observación directa de las heridas producidas por el Tp (chancros) por medio del examen microscópico de campo oscuro (Examinación de Darkfield), aunque esté limitado a las heridas húmedas de la sífilis temprana, como ocurre en el chancro de la sífilis primaria, en el condiloma latum de la sífilis secundaria o en la rinitis en el caso de sífilis congénita.^{12,16,19,23}

Para la obtención del material adecuado se debe limpiar la superficie de la lesión con solución salina isotónica (SSI) quitando el material purulento, costras o epitelio, mediante gasas estériles y recoger de la base de la lesión el exudado seroso libre de sangre que se coloca sobre una laminilla y se observa en el microscopio de campo oscuro por personal experto. Debe de haber por lo menos 10^4 microorganismos por ml de exudado para ser observados, esto puede no ocurrir si se utilizan antimicrobianos o antisépticos, por lo que con un solo estudio negativo no puede afirmarse el diagnóstico.

También se pueden obtener muestras de los ganglios linfáticos regionales tumefactos por medio de la aspiración con una aguja calibre 20 con SSI y colocarla en el portaobjetos para su observación. ^{12,18}

Otra forma, es la observación en tejidos mediante una adecuada tinción de plata aunque este debe ser realizado por un histopatólogo. ¹

2.5.3 PRUEBAS SEROLÓGICAS

El año de 1981 marca el 75 aniversario del desarrollo de las pruebas serológicas para la sífilis, iniciado cuando Wasserman y cols. demostraron que los sueros de los pacientes sífilíticos contenían 2 tipos de Acs que se unen a los antígenos presentes, siendo uno de ellos no específico que reacciona con el antígeno (Ag) no treponémico de cardiolipina-lecitina-colesterol, y el otro dirigido contra el treponema específicamente. ^{10,19}

En la actualidad existen varias pruebas serológicas que difieren principalmente en el antígeno que utilizan. Se dividen en 2 grupos:

- a) Pruebas no treponémicas
- b) Pruebas treponémicas

2.5.3.1 Pruebas no treponémicas (no específicas)

Se caracterizan porque no utilizan el Ag del Tp sino un antígeno homólogo, que es un extracto lipídico del tejido cardíaco bovino. Todas estas pruebas son similares en sensibilidad y especificidad. Son baratas, fáciles de desarrollar y reproducibles, por ello son las más utilizadas como pruebas de escrutinio en gran cantidad de personas.^{17,19-20}

La prueba no treponémica más común es la de floculación, llamada V.D.R.L. (Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas), siglas que indican el lugar donde se originó.²⁰⁻²¹

Esta prueba ha sido modificada para hacerla más sensible y práctica lo que ha dado como resultado el surgimiento de 4 pruebas mejoradas llamadas: RPR (Rapid Plasma Reagin) Reacción Rápida de Reaginas del Plasma, USR (Unheated Serum Reagin) Reaginas Frías del Suero, PCT (Plasmocrit Screening Test) prueba automatizada y V.D.R.L. -Latex.

2.5.3.1.1 V.D.R.L.-Latex

Es un Ag cardiolipídico asociado al látex, estable y listo para su empleo, que permite la realización de una microaglutinación en portaobjetos, utilizando plasma o suero frescos o descomplementados para la detección de sífilis, apoyados por un microscopio. Es una modificación del método de V.D.R.L. original.^{17,21-23}

2.5.3.1.2 RPR

Detecta Acs no específicos (reagininas), que se producen como respuesta a la infección del Tp. Los sueros positivos hacen flocular a partículas de carbón recubiertas con una mezcla estandarizada estable que contiene cardiolipina-lectina-colesterol, mientras que los sueros negativos no provocan esa reacción. Se puede utilizar plasma o suero no descomplementado o descomplementado (ya que contiene Cloruro de Colina) La reacción es macroscópica, fue desarrollada en 1963 por Portnoy y cols.^{17,21-23}

2.5.3.1.3 USR

Es un antígeno que contiene cardiolipina-lectina-colesterol, que se utiliza para la detección de reaginas. Puede usarse plasma o suero no inactivados y la lectura positiva se da al observar una aglutinación microscópica, con la ayuda de un microscopio. Fue desarrollada en 1963 por Portnoy y cols.^{21,24}

2.5.3.2 Pruebas treponémicas (específicas)

Utilizan Tp de lesiones sífilíticas de humanos cultivados en testículos de conejo. Este es el principal obstáculo para el perfeccionamiento de estas técnicas, ya que no se puede cultivar al Tp << in vitro >> pues solo se reproduce inoculado << in vivo >> además este antígeno es difícil de producir de manera sintética y de purificar al presentar residuos del tejido testicular.^{17,19,23}

Los 4 métodos más importantes para la detección de Acs treponémicos son: la prueba de absorción fluorescente del Ac treponémico (FTA-Abs), el ensayo de hemaglutinación del TP (TPHA), la aglutinación pasiva de partículas (TPPA) y la prueba de inmovilización del Tp (TPI).^{17,20,25-26}

La prueba de TPI fue desarrollada por Nelson y Mayer en 1949, fue la primera prueba treponémica bien evaluada; se convirtió en el estándar de referencia para otras pruebas, pero es compleja, engorrosa, tardada y difícil de controlar y sólo se realiza a nivel de investigación.²⁵

2.5.3.2.1 Serodia TP (MICRO HEMAGLUTINACION)

Esta prueba MHA-TP fue desarrollada por Tomizawa en 1969. Es una prueba de Microhemaglutinación que se basa en la utilización de células sensibilizadas (eritrocitos de pollo) con componente de Tp patógeno (cepa de Nichols). Estos causan una hemaglutinación en presencia de Acs contra el Tp debido a la reacción inmunológica Ag-Ac, que se lee a simple vista. Es una modificación de la técnica de hemaglutinación que contiene eritrocitos de carnero que presentaban una mayor heterofilantigenicidad. Es una prueba sencilla y reproducible.^{12-13,19}

2.5.3.2.2 Serodia TP.PA (AGLUTINACION PASIVA)

Se fundamenta en la utilización de partículas de gelatina acarreadoras que minimizan la aglutinación no específica usualmente observada con otros acarreadores como los eritrocitos. Estas partículas están sensibilizadas con Tp patógeno purificado (cepa Nichols). La prueba se basa en que las partículas sensibilizadas son aglutinadas por la presencia de Ac al Tp en plasma o suero humano.^{12-13,19}

2.5.3.2.3 FTA-ABS (INMUNOFLUORESCENCIA)

Es una reacción de inmunofluorescencia indirecta absorbida, es la más sensible de todas. Fue desarrollada en 1957 por Deacon, Harris y Falcone. Se pone en contacto el suero de los pacientes infectados con el Tp con los treponemas fijados a los pozos de los portaobjetos, si el suero contiene Acs específicos contra el Ag se pone en evidencia un complejo Ag-Ac, formado con la ayuda de Acs antiglobulina humana marcada con fluoresceína, y así con ayuda del microscopio de fluorescencia, los treponemas aparecen fluorescentes sobre un fondo oscuro.

Esta prueba resulta más específica cuando los sueros de los pacientes son previamente absorbidos con un ultrasonado de cepas de Treponema reiterii (no patogénico), eliminando así los Acs no específicos, y los Acs específicos restantes se fijan sin problema de reacciones cruzadas. ^{23,26-27}

Si se emplean Acs anti-IgM la infección de la sífilis congénita puede ser evaluada, ya que si se encuentran Acs IgM en la sangre del cordón del niño indica que existe la infección, puesto que la IgM no puede pasar la barrera placentaria, si se llegara a encontrar IgG puede deberse solo a la infección que tenga la madre y no el hijo puesto que estos Acs si atraviesan la barrera placentaria. ²⁸⁻²⁹

2.5.3.3 Diagnóstico de la sífilis congénita.

Las pruebas no treponémicas son esenciales en el diagnóstico de sífilis congénita neonatal, ya que tanto los Acs específicos como inespecíficos se encuentran presentes en el recién nacido.¹⁹

Estas técnicas demuestran la presencia de una infección al existir un título inicial 4 veces mayor que el de la madre (40% de los casos) o cuando se determina un título estable o en aumento en exámenes posteriores; en cambio si fueran Acs transferidos por la madre al neonato, los títulos caerán.¹⁸

Estos estudios se deben realizar preferentemente en sangre venosa neonatal para evitar falsos positivos, debido al paso de Acs IgG que atraviezan la barrera placentaria y falsos negativos debido a la neutralización causada por los estromas de células rojas cuando existe hemólisis excesiva que dificulta el diagnóstico.^{19,30}

Debido a que la IgM no atraviesa la barrera placentaria, se han hecho modificaciones a las técnicas treponémicas como el FTA-ABS y el ELISA.

Una de ellas es la FTA-ABS-IgM que en un principio mostró buenos resultados, pero actualmente existe una alta proporción de falsos positivos (10%) y falsos negativos (35%), debido a que la IgM no está presente en todas las etapas de la enfermedad.^{19,3}

Existen nuevas técnicas para el diagnóstico de sífilis congénita como son el FTA-ABS(19s-IgM) y la técnica de ELISA (EIA-IgM) que han mostrado una mejora en la especificidad eliminando la interferencia de la IgM del factor reumatoide, aunque se ha determinado una pérdida de sensibilidad en neonatos asintomáticos de madres infectadas.

A la fecha no se cuenta con una técnica confiable, sencilla y barata, pues el diagnóstico sigue dependiendo de la habilidad del médico y del técnico por ello se debe tomar en cuenta la historia clínica, epidemiológica y efectuar repetidos estudios de laboratorio.^{23,31}

2.5.3.4 Pruebas serológicas para evaluar el éxito del tratamiento

Así como no son recomendables las pruebas no treponémicas para la búsqueda de sífilis en poblaciones asintomáticas o estadios tardíos de la enfermedad, si son recomendables para evaluar el éxito del tratamiento, el diagnóstico de una reinfección, la fase de la enfermedad y el proceso infeccioso.

Los estudios cuantitativos en el suero indican el título y sirven para ver si la enfermedad es activa y/o sin tratamiento, por ejemplo si en un periodo secundario los títulos son mayores de 1:16 dan indicios de una infección activa y/o sin tratamiento mientras que títulos menores de 1:16 indican un periodo inicial ó tardía de la enfermedad y/o bajo algún tratamiento.

Con un tratamiento efectivo las pruebas no treponémicas en pacientes en estadios iniciales se negativizan dentro de un periodo de un año; en estadios secundarios dentro de un periodo de 2 años, si se reactivan los títulos indica una reinfección o un tratamiento inadecuado. Además si el tratamiento es dado en las fases terminales los títulos se mantienen de por vida y unicamente disminuyen un poco. En cambio las técnicas treponémicas al detectar Acs específicos no disminuyen sus títulos, aún curada la enfermedad quedando de por vida, por ello no pueden ser utilizadas para este fin .^{15-20,33-34}

2.5.3.5 Diagnóstico de la neurosífilis

La neurosífilis es una complicación de la enfermedad en fases finales. Las únicas pruebas serológicas recomendadas para su diagnóstico en líquido cefalorraquídeo (LCR) son las no treponémicas, debido a que las técnicas treponémicas a pesar de detectar en el 90 % de los casos en suero, en el LCR unicamente es del 50%, en cambio en las técnicas no treponémicas se detecta el 65% de los casos.^{19,23}

En el LCR después de una terapia eficaz no disminuyen los títulos de las pruebas serológicas treponémicas y no treponémicas a pesar de haber mejoría clínica , por lo que se debe apoyar el diagnóstico en la historia clínica. Tampoco existe una prueba estándar para su estudio.^{17,19,32}

2.5.3.6 Dificultades en el diagnóstico serológico de la sífilis y elección de la prueba de búsqueda

Las dificultades en el diagnóstico se deben a que en esta enfermedad existen varias fases que presentan una respuesta inmunológica diferente en cada estadio y por ello las técnicas presentan diferente especificidad y sensibilidad en cada uno. La elección de cada técnica depende del objetivo del estudio por ejemplo : la valoración del tratamiento de la enfermedad, las pruebas de rutina en poblaciones normales o de alto riesgo, la confirmación del diagnóstico o el estudio de una complicación de la enfermedad, como la neurosífilis o sífilis congénita.^{12,19}

2.5.3.6.1 Ventajas y desventajas de las técnicas serológicas treponémicas y no treponémicas

Entre las pruebas no treponémicas, no existe alguna ventaja, en cuanto a la especificidad, ya que todas utilizan el mismo antígeno que es un extracto de cardiolipina-lecitina-colesterol, que al no ser el Ag treponémico provoca que sean técnicas poco específicas.

Respecto a la sensibilidad las técnicas como el V.D.R.L.- látex y RPR son mejores que el USR y el V.D.R.L. original, debido a que la reacción de aglutinación es mas sensible que la floculación, ya que estas últimas no presentan un soporte (carbón o látex) que ayude a su detección macroscópica.¹⁵⁻¹⁹

Otros factores que se deben tomar en cuenta son la laboriosidad y la rapidez de los métodos, ya que al ser utilizadas como pruebas de tamiz en una gran población, se requiere que las técnicas sean sencillas, rápidas y económicas. Es por ello que la técnica de RPR es la más indicada ya que no requiere preparación de reactivos ni de muestra, además su interpretación es macroscópica, en contraste la técnica del VDRL original es lenta y laboriosa, ya que requiere de una interpretación microscópica, preparación de reactivos y la inactivación de la muestra.

Por último, el costo de los reactivos influye considerablemente en su elección, aunque en estas técnicas todos los reactivos son económicos al no requerir de equipo, de personal especializado y por no contener el Ag treponémico.¹⁹⁻²²

Las pruebas treponémicas son, en comparación con las pruebas no treponémicas, más específicas al contener el Ag treponémico, y más sensibles por su fundamento inmunológico: hemaglutinación, aglutinación pasiva, inmunofluorescencia o técnicas inmunoenzimáticas que son más sensibles que la aglutinación y floculación. Pero en cambio son técnicas muy laboriosas, lentas y de costo elevado ya que requieren de equipo y personal especializado.^{12,17,19-23}

La especificidad entre las técnicas treponémicas es semejante ya que contienen el mismo tipo de Ag, en cuanto a la sensibilidad se ha reportado que la FTA-ABS es más sensible principalmente en estadios precoces de la enfermedad, aunque en los demás estadios se comportan en la misma forma.

El costo de las técnicas de hemaglutinación y aglutinación pasiva es más económico, además de que no requieren de un equipo tan especializado, ni de la inactivación de suero y su interpretación es macroscópica por lo que son menos laboriosas que la FTA-ABS y TPI. (ver Cuadro IV y V)^{12,25-27}

TECNICA	ESPECIFICIDAD ESTADIO			SENSIBILIDAD ESTADIO			PREPARACION DE MUESTRA	PREPARACION DE REACTIVO	LECTURA	COSTO	TIEMPO*	LABORIOSIDAD
	1	2	3	1	2	3						
VDRL	+	2+	+	+	3+	+	+	+	Microscópica	+/-	10	3+
VDRL látex	+	2+	+	2+	4+	+	+	-	Macro y microscópica	+	8	+
USR	+	2+	+	+	3+	+	-	-	Microscópica	+	8	2+
RPR	+	2+	+	2+	4+	+	-	-	Macroscópica	+	8	+
FTA-ABS	3+	4+	4+	2+	4+	+	+	+	Microscópica	4+	120	4+
TPHA	2+	4+	4+	+	4+	4+	+	+	Macroscópica	4+	150	3+
TPPA	2+	4+	4+	+	4+	4+	-	+	Macroscópica	3+	150	3+
TRI	3+	4+	4+	+	4+	4+	+	+	Microscópica	4+	180	4+

* Tiempo de determinación (aprox.) en minutos.

Cuadro IV. Ventajas y Desventajas de las Técnicas Serológicas para el Diagnóstico de Sífilis.

PRUEBA	ESTADÍO			
	Primario	Secundario	Latente	Terciaria
No treponémicas				
VDRL	60-85%	95-99%	60-70%	10-40%
RPR	50-70%	95-99%	60-70%	8-40%
USR	50-70%	95-98%	55-65%	10-40%
Treponémica				
MHA-TP	55-80%	98-100%	95-98%	96-98%
FTA-ABS	80-90%	99-100%	95-97%	96-99%
TPI	50-60%	96-98%	95-96%	92-97%

Cuadro V. Sensibilidad de las técnicas serológicas en los diferentes estadios de la sífilis.

2.5.3.6.2 Falsos Negativos

En periodos muy tempranos de la enfermedad la sensibilidad de las técnicas serológicas disminuye considerablemente, lo que indica que puede existir un resultado falso negativo. Una ausencia de Acs contra el Tp no excluye la presencia de la enfermedad pues esta infección no provoca cambios inmunológicos que se detecten en el suero durante un periodo de 2 a 3 semanas, por lo que en esta fase la enfermedad sólo se puede diagnosticar mediante el estudio del exudado de las lesiones con ayuda del microscopio de campo oscuro (Técnica de Darkfield), por ello al realizar pruebas serológicas a pacientes que presentan antecedentes o síntomas de la enfermedad, deben repetirse periódicamente las técnicas no treponémicas o utilizar una técnica treponémica, especialmente el FTA-ABS (la mas precoz) de manera rutinaria. ^{1,19,23}

Otra causa de los falsos negativos es la utilización de pruebas no treponémicas durante los periodos tardíos de la enfermedad o de latencia, pues solo se detectan el 30% de los casos; por esta razón se recomienda el uso rutinario del FTA-ABS u otras técnicas treponémicas que detectan más del 95% de los casos.¹⁵⁻¹⁹

En enfermedades inmunosupresoras como la ocasionada por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) se ha observado un alto porcentaje de falsos negativos, debido a la poca producción de Acs contra el Tp, esto ocurre en todos los estadios de la enfermedad y se observa tanto con técnicas treponémicas como no treponémicas. Esta información es muy importante debido a la gran relación que se ha reportado entre la sífilis y el HIV en pacientes de alto riesgo.³⁵⁻³⁸

Por último con las técnicas no treponémicas, se ha determinado que ocurre el fenómeno de la prozona, en el estadio secundario el cual se debe a que la cantidad de Acs producidos es tan alta que solo al hacer diluciones de las muestras se manifiesta su presencia.^{1,15-16}

2.5.3.6.3 Falsos positivos

Los resultados falso positivos son el principal problema pues existe un alto porcentaje de casos, principalmente en las pruebas no treponémicas (40%) debido a que no contienen Ag treponémico, sino un derivado de lípidos, por lo que estas técnicas carecen de especificidad, debido a ello se requiere de pruebas treponémicas para la confirmación del diagnóstico, las cuales solo presentan el 2% de falsos positivos.¹⁹

Los títulos falsamente positivos en las pruebas reagínicas no exceden a la dilución 1:8 ya que se ha visto que en los títulos por arriba de 1:32 ya no se presentan muchos casos.¹

Estos falsos resultados ocurren por alteraciones metabólicas que provocan cambios anormales en las globulinas, Acs antinucleares, antitiroideos, antimitocondriales (organelos con Ag semejantes a la cardiolipina), antifosfolípidos, el factor reumatoide, la proteína C reactiva, y crioglobulinas que se presentan en pacientes con enfermedades crónicas y agudas, por lo cual se pueden dividir en falsos positivos crónicos y agudos.^{1,17-19}

Los falsos positivos agudos o transitorios se vuelven negativos en menos de 6 meses; aparecen en enfermedades bacterianas, parasitarias y víricas, como neumonía, paludismo, gripe, faringitis y resfriados, además en situaciones fisiológicas transitorias como el embarazo o la drogadicción. Estos cuadros provocan el 20% de los casos.^{18,39-43}

Los falsos positivos crónicos son aquellos en que la positividad persiste por más de 6 meses y se presentan en enfermedades crónicas degenerativas, autoinmunes o en personas de edad avanzada, como por ejemplo lupus eritematoso, diabetes mellitus, artritis reumatoide, anemias hemolíticas autoinmunes, mononucleosis infecciosa, lepra, hepatitis B y C.^{22,34,43-48}

Por ejemplo en enfermedades como la diabetes mellitus la positividad en las pruebas serológicas para el diagnóstico de sífilis se puede deber al tiempo prolongado durante el cual actúan los Acs contra las células de los islotes, que causan un largo proceso de autoinmunidad, provocando cambios en el organismo.⁴⁴

En el caso de enfermedades como el SIDA, hepatitis B y C, se ha encontrado que la sífilis es cotransmisible con los mismos debido a las actividades realizadas por sus portadores, que son personas de alto riesgo (drogadictos, homosexuales, heterosexuales promiscuos y trabajadoras del sexo) lo cuál determina esta asociación.⁴⁵

La principal causa de que ocurra un resultado falso positivo tanto con las técnicas treponémicas como en las no treponémicas es el cuadro de lupus eritematoso sistémico (25%) y la anemia hemolítica idiopática autoinmune (10%), debido a que en estos padecimientos se encuentran Acs antifosfolípidos y la anticardiolipina que provocan una reacción cruzada con los Ag utilizados en las técnicas serológicas. Los fosfolípidos mas comunes contra los que actúa el Ac son l-gama-fosfatidilcolina y fosfatidilserina de cerebro bovino, fosforilcolina, fosfatidiletanolamina, esfingomielina y fosfatidilinositol, que son fosfolípidos muy semejantes al Ag de cardiolipina y al Ag del treponema. Estos pacientes además presentan una reacción positiva al factor reumatoide (látex).

Cuando los pacientes presentan Acs antinucleares también provocan falsos positivos (15%), aún en técnicas tan específicas como la FTA-ABS, debido a que durante el proceso de liofilizado de los treponemas en las placas algunos se rompen, quedando expuesto el material nuclear, que provoca la fijación de estos Acs a lo largo del treponema dando una lectura positiva en la reacción de inmunofluorescencia.^{19,47-48}

Otro tipo de reacciones falsas se da en enfermedades provocadas por otras especies de espiroquetas como en la enfermedad del "pian", de "lyme" y del "mal del pinto", estos no se han podido evitar totalmente a pesar de que se realizan absorciones de las muestras con extractos de treponema de reiter.^{10,12,19,38,44}

Actualmente las técnicas más recientes reportadas en la literatura como son el PCR y el Western immunoblot para el diagnóstico del Tp han superado su especificidad (100%) y sensibilidad (98%) evitándose así casi en su totalidad los falsos positivos, tanto en casos de otras treponematosis, como en enfermedades autoinmunes o en personas sanas. Dichas técnicas aún están siendo estudiadas y perfeccionadas, además su costo es muy elevado.^{12,38,49}

A pesar de lo que se ha dicho anteriormente del bajo porcentaje de falsos positivos (2%) con las pruebas treponémicas, se recomienda no realizar exclusivamente estas técnicas de manera rutinaria en grandes poblaciones de personas sanas, ya que se han reportado altos porcentajes de falsos positivos (15%), además de su alto costo.
1,18-19,23,34

Por todo lo antes mencionado las técnicas no específicas se deben utilizar para hacer estudios de rutina en poblaciones sanas y numerosas, para identificar casos primarios y secundarios de la enfermedad y para evaluar el tratamiento. En cambio las técnicas específicas no se deben utilizar indiscriminadamente, solo para confirmar resultados positivos obtenidos por una técnica no específica, en poblaciones de alto riesgo o con antecedentes clínicos sospechosos y en períodos muy precoces o tardíos de la enfermedad, únicamente así la incidencia de resultados falsos positivos y negativos disminuye considerablemente.

En casos de diagnóstico de la neurosífilis y sífilis congénita no se ha encontrado una técnica apropiada y confiable para su empleo rutinario, por lo cual se sigue investigando para evitar estas dificultades.¹⁷⁻¹⁹

2.6 EPIDEMIOLOGÍA

Aunque la incidencia de la sífilis cayó dramáticamente después de la 2a. guerra mundial con la aparición de la penicilina en 1940, el número de pacientes con sífilis ha ido aumentando nuevamente en forma gradual, especialmente en Europa y Norteamérica, junto con otras enfermedades venéreas convencionales. Debido a que estas enfermedades son de origen tropical la razón de morbilidad siempre es alta en Asia Suroriental, África, Centro y Sudamérica.^{9,11}

Como la sífilis es crónica y asintomática el Tp puede inicialmente transmitirse sin tener conocimiento de ello, por lo que es importante implementar el tratamiento y la prevención rápidamente. ¹⁶

Actualmente los casos de sífilis se adquieren comúnmente por contacto sexual con lesiones infecciosas; las formas de transmisión menos frecuentes son por contacto con fomites contaminados, contaminación en útero y después de una transfusión sanguínea. ¹

En los Estados Unidos las muertes debidas a sífilis han disminuido desde 1940; los 9.3 casos por 100 mil habitantes reportados en 1980 representan una disminución del 90%. ¹⁶

La frecuencia hallada de la enfermedad es mayor entre personas no blancas, en las áreas urbanas con edades entre 20 a 24 años y en una población de alto riesgo: heterosexuales promiscuos, homosexuales y prostitutas. ¹⁶

Los factores que determinan la presencia de esta enfermedad son :

- A) Promiscuidad.
- B) Mayor liberación sexual.
- C) Disminución de la influencia religiosa.
- D) Separación del núcleo familiar.
- E) Alcoholismo y drogadicción.
- F) La ignorancia y confianza a los antibióticos.

Los factores de los que depende son :

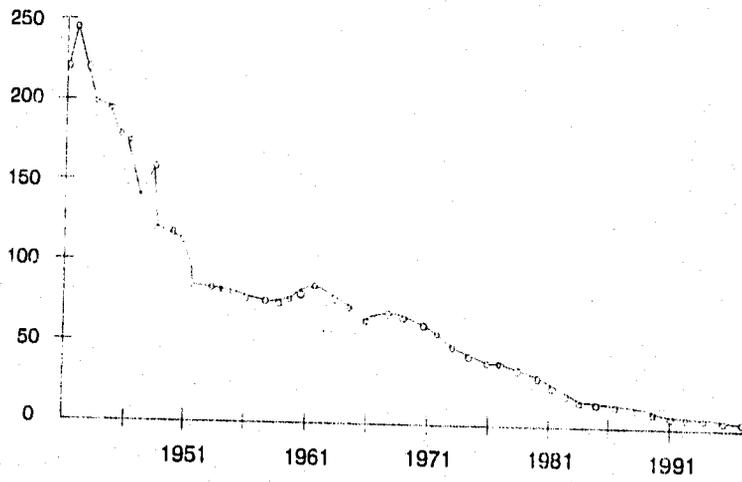
- A) Susceptibilidad del huésped.
- B) Composición sociodemográfica.
- C) Patrones de comportamiento.
- D) Características del patógeno.
- E) Actividades de control y prevención.

La sífilis aún se considera como la tercera o cuarta enfermedad documentada con mayor frecuencia en el mundo.

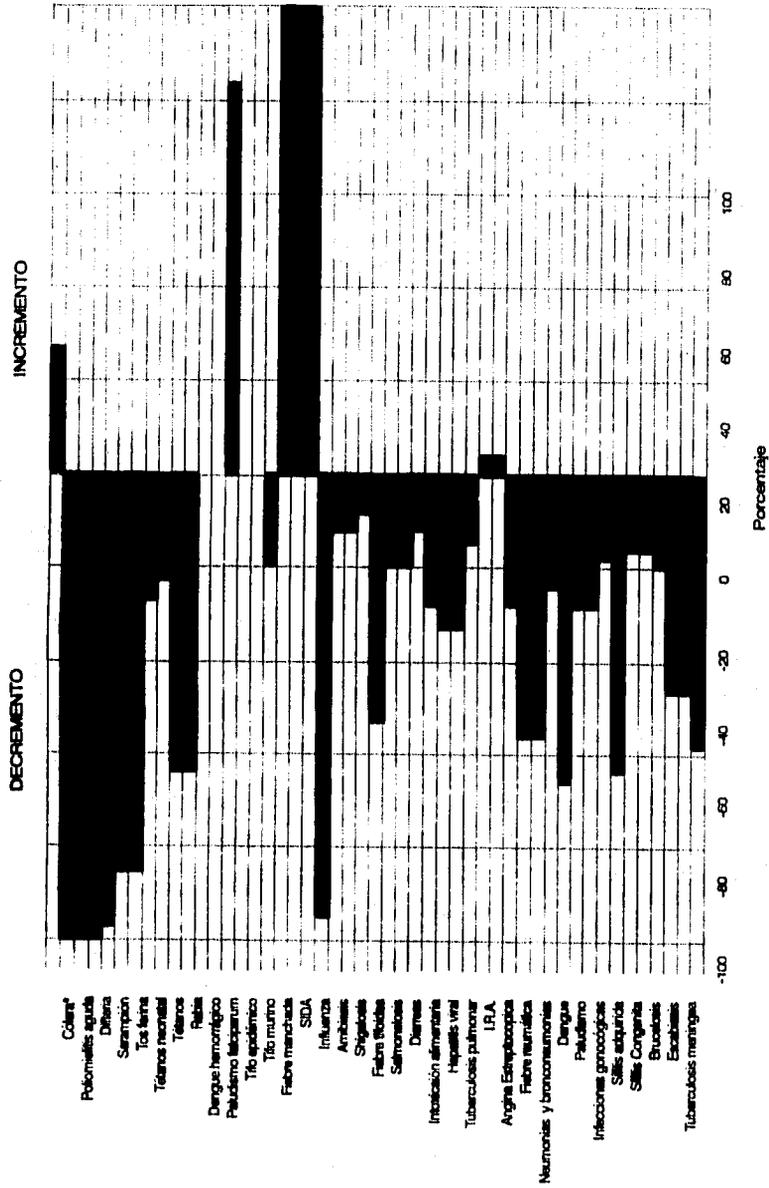
En México la tasa de esta enfermedad ha disminuído año con año de acuerdo con los datos proporcionados por la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud: Actualmente ocupa el quinto lugar dentro de las enfermedades de transmisión sexual (ETS). (ver Gráfica 3 y 4) ^{11,16,50}

La sífilis adquirida en México presenta una tasa de 3.0 casos por 100,000 habitantes, ocupando el quinto lugar, las tasas de morbilidad presentan una tendencia franca hacia la disminución: de 240 casos por 100,000 habitantes en 1941 a 3.0 casos en 1991. (ver Gráfica 5) ¹¹

Los datos contrastan con lo informado por los E.U. donde se observa que en 1989 la tasa fue de 44.6 casos, es decir 14 veces mas frecuente.

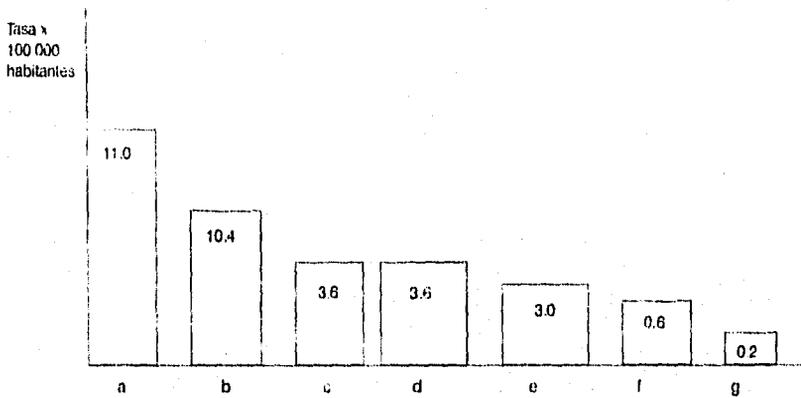


Gráfica 3. Incidencia de sífilis en México (Fuente: Dirección General de Epidemiología/SSA)



Gráfica 4. Prevalencia de enfermedades en México (50)

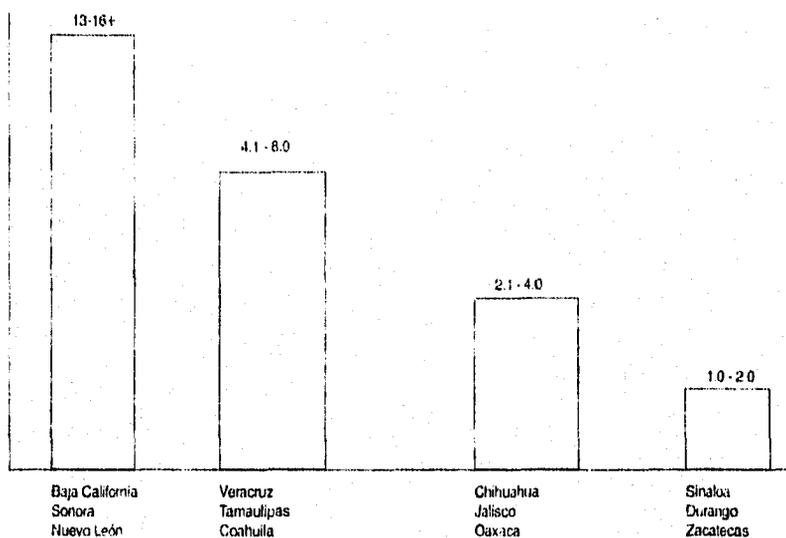
P a d e c i m i e n t o s



- a) Tricomoniasis urogenital
- b) Gonococcias genitourinario
- c) Herpes genital
- d) SIDA
- e) Sífilis adquirida
- f) Chancro blando
- g) Linfgranuloma venéreo

Gráfica 5. Morbilidad por ETS en México, 1991 (Fuente: Dirección General de Epidemiología/SSA).

Al analizar la distribución geográfica de los casos se observa que en la incidencia de sífilis adquirida en 1991, los estados de Baja California y Campeche son los más afectados con tasas de 16.3 y 13.3 casos por 100,000 habitantes respectivamente (ver Gráfica 6). ¹¹



Gráfica 6. Incidencia por sífilis adquirida durante 1991.⁵⁰

La distribución de morbilidad por grupo de edades fue de 5.5 casos por 100,000 habitantes de 25 a 44 años. (ver Gráfica 7) ¹¹

Los estudios de prevalencia muestran frecuencias muy altas particularmente en el D.F. en hombres con prácticas homosexuales (10.1 a 23.8%), en mujeres prostitutas (6.5 a 23.7%), y entre hombres y mujeres adolescentes (23.45 y 28.8% respectivamente). (ver Cuadro VI)

En hombres heterosexuales que acuden a clínicas de detección de anti-HIV se ha detectado la prevalencia del 4.2%, en Guadalajara también es significativa la prevalencia en hombres homosexuales (13.4%) en contraste con un grupo de mujeres en Chiapas (0.5%). ¹¹

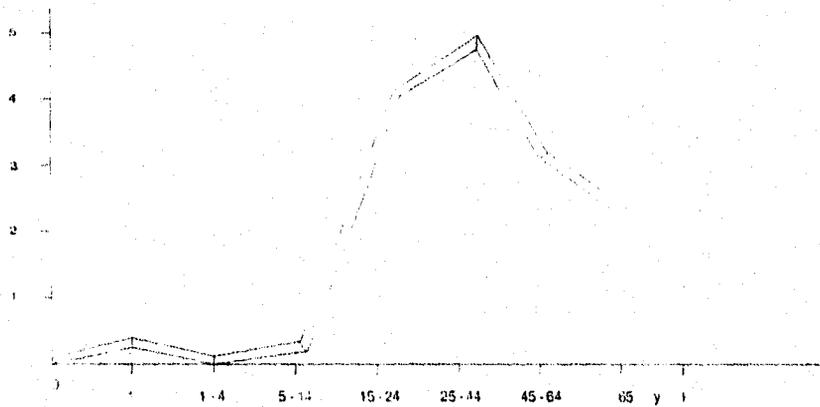
Se han realizado estudios para determinar la asociación de enfermedades de transmisión sexual (ETS) y HIV en hombres homosexuales y prostitutas. (ver Cuadros VII y VIII) ¹¹

Adicionalmente a las listas de morbilidad se agregan complicaciones como:

- a) Infertilidad
- b) Abortos repetitivos
- c) Muertes neonatales y de lactantes

La prevalencia por ETS en México en 1991 se muestra en los Cuadros IX y X.

^{11,50}



Gráfica 7. Morbilidad por sífilis por grupo de edad, México, 1991 Fuente: Dirección General de Epidemiología/SSA)

Autores	Población	Lugar	Porcentaje	Metodología
INDRE	Hombres homosexuales	DF	23.8	VDRL FTabs
INDRE	Mujeres prostitutas	DF	23.7	VDRL FTabs
INDRE	Adolescentes hombres	DF	23.4	VDRL FTabs
INDRE	Adolescentes mujeres	DF	17.3	VDRL FTabs
IMSS	Hombres homosexuales	Guadalajara Jalisco	13.4	?
INSP	Hombres homosexuales	DF	10.1	RPR FTabs
CONASIDA				
INSP	Mujeres prostitutas	DF	6.5	RPR FTabs
CONASIDA				
INSP	Hombres "heterosexuales"	DF	4.2	RPR FTabs
CONASIDA				
U. Stanford	Mujeres pob. Centros de Salud	Clds	0.9	?

Cuadro VI. Seroprevalencia de sífilis en México, 1991 - 1992.

MARCADOR	HOMBRES HOMOSEXUALES	MUJERES PROSTITUTAS
Ulceras genitales	6.9	5.1
Verrugas genitales	8.3	2.5
Sífilis	23.8	23.7
Gonorrea	2.9	11.6
C. trachomatis	4.1	12.8
anti HBs	5.4	11.1
Herpes IgM	10.0	9.7
HIV	35.2	0.2

Cuadro VII. Prevalencia de ETS en México, 1991 - 1992.

ENFERMEDAD	MARCADOR	PREVALENCIA
Sífilis	(Ac FTAbs)	31.4%
Chlamydia	(Ag)	18.0%
Gonococo	(Ag)	15.6%
Herpes	(Ac IgM)	12.2%
Hepatitis	(Ac HBs)	7.0%
HIV	(Ac WB)	0.1%

Cuadro VIII. Prevalencia de ETS en 682 mujeres prostitutas (D.F., Puebla, Michoacán, Hidalgo, 1990). Fuente: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos/SSA.

ENFERMEDAD	MARCADOR	PREVALENCIA
Sífilis	(Ac FTAbs)	38.0%
HIV	(Ac WB)	19.6%
Herpes	(Ac IgM)	12.0%
Hepatitis B	(Ac HBs)	7.0%
Chlamydia	(Ag)	5.0%
Gonococo	(Ag)	4.0%

Cuadro IX. Prevalencia de ETS en hombres con prácticas homosexuales. Fuente: Instituto Nacional de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos/SSA.

GRUPO	VDRL No. (%)	AgsVBH No. (%)	VIH No. (%)
Donadores remunerados (150)	14 (9.3)	2 (1.3)	7 (4.6)
Donadores familiares y altruistas (1212)	2 (0.16)	16 (0.82)	2 (0.16)
Total (1362)	16 (1.17)	18 (1.32)	9 (0.66)
Diferencia entre ambos	0.0001	0.5	0.0001

Cuadro X. Resultados de exámenes serológicos para VDRL, AgsVBH, VIH en distintos grupos de donadores de sangre estudiados.

2.7 TRATAMIENTO

La penicilina G es el fármaco de elección para tratar la mayoría de las formas de sífilis. El Tp muere a concentraciones muy bajas del antibiótico, aunque se requiere un prolongado período de exposición debido a la extrema lentitud en la multiplicación del microorganismo. Su eficacia no ha disminuido después de 30 años de uso.^{1,11}

Otros antimicrobianos efectivos para la sífilis incluyen las tetraciclinas, eritromicina y cefalosporinas. Los aminoglucósidos inhiben al Tp solo en dosis muy altas y las sulfonamidas son inactivas, sin embargo por su costo, efectos indeseables y menor efectividad, siempre serán de segunda elección y en especial solo se utilizan en pacientes alérgicos a la penicilina.^{1,18,20}

Actualmente un nuevo fármaco llamado Ceftriaxone en dosis de 4g vía intramuscular durante 2 días ha presentado resultados semejantes al tratamiento con penicilina G, esto se ha comprobado mediante los resultados de pruebas serológicas como el VDRL demostrando la disminución de hasta 3 títulos en un año, por lo cual puede considerarse como una buena alternativa para el tratamiento en personas alérgicas a la penicilina. ^{33-34,51}

En la actualidad no se ha establecido la dosis y duración del tratamiento en ningún estadio ni con ningún fármaco, diversos datos sugieren que es necesario lograr niveles séricos de penicilina G mayores o iguales a 0.03 microgramos por mililitro durante 7 días.

Los regímenes de tratamientos recomendados por los Centers for Disease Control y por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se encuentran en el Cuadro XI y XII respectivamente. ^{1,11}

Debido a que las lesiones de la sífilis terciaria pueden ser irreversibles es crucial indentificarla y tratarla lo más rápido posible. Por último cabe mencionar que la complicación mas frecuente que se presenta durante el tratamiento es la reacción de Jarish-Herxheimer, que se presenta hasta en la mitad de los pacientes con sífilis temprana y se manifiesta con fiebre, cefaleas, mialgias y exacerbaciones de lesiones cutáneas resultado de la liberación del material antigénico de los microorganismo que mueren, la duración de este cuadro es de 2 a 4 días, es inocua pero se han presentado estados de "shocks" y en algunos casos hasta la muerte. ^{1,18,20}

ETAPA DE LA SIFILIS	PACIENTES SIN ALERGIA A LA PENICILINA	PACIENTES CON ALERGIA A LA PENICILINA
Primaria, secundaria o latente	Penicilina G benzatina, 2,4 millones de unidades (U) en una sola dosis (1,2 mill. en cada nalga); o penicilina G procaína acuosa, 600 mil U diarias por 8 días.	Eritromicina base, o estearato, 2g. diarios por 15 días, o clorhidrato de tetraciclina, misma dosis.
Latente tardía o latente de duración indeterminada	LCR normal: penicilina G benzatina, 2,4 mill. de U semanalmente por 3 semanas. LCR anormal: tratarla como neurosífilis.	Punción lumbar LCR normal: tratarla como primaria LCR anormal: tratarla como neurosífilis
Neurosífilis tardía (asintomática o sintomática)	Penicilina G procaína acuosa, 600 mil U diarias por 15 días, o penicilina G acuosa, 12 a 24 mill. U al día vía intravenosa durante o por lo menos 10 días.	Eritromicina base, estearato, 2g. diarios por 30 días, o clorhidrato de tetraciclina, 2 g. diarios por 30 días.
Cardiovascular tardía o terciaria benigna	Penicilina G benzatina, 2,4 mill. U semanales por 3 semanas, o penicilina G procaína acuosa, 600 000 U diariamente por 10 días.	Tratar como neurosífilis.
Congénita (tratar a todos los recién nacidos con sífilis congénita comprobada o sospechada)	Penicilina G procaína acuosa, 50 000 U/kg/día durante cuando menos 10 días, o penicilina G acuosa, 50 000 U/kg/día dividida en 2 dosis al día durante cuando menos 10 días, o solo si el LCR es normal: penicilina G benzatina, 50 mil U por kg en una sola dosis.	No deben usarse otros antimicrobianos distintos a la penicilina.

Cuadro XI. Terapéutica recomendada para la sífilis(1)

Sífilis temprana (primaria, secundaria y latente con menos de 2 años de evolución):

- a) Penicilina benzatínica 2.4 mill. UI vía IM, una sola dosis
- b) Doxiciclina 100 mg vía oral 2 veces al día por 15 días
- c) Penicilina procainada 1.2 mill. UI vía IM por 10 días
- d) Tetraciclina 500 mg 4 veces al día por 2 semanas
- e) Eritromicina 500 mg 4 veces al día por 2 semanas

Sífilis congénita temprana con LCR anormal (hasta 2 años):

- a) Penicilina G o procainada, 500 UI diarias por kg, vía IV, cada 12 horas por día

Sífilis congénita temprana sin anomalía en LCR (hasta 2 años):

- a) Penicilina G 50,000 UI diarios por kg, vía IV, una sola dosis

Sífilis latente tardía con problema cardiovascular:

- a) Penicilina G benzatínica 7.2 mill. UI en tres dosis de 2.4 mill. vía IM por tres semanas

Neurosífilis:

- a) Penicilina G cristalina 12 mill. UI en dosis de 2 - 4 mill. vía IV cada 4 horas durante 10 - 15 días.

Cuadro XII. Terapia recomendada por la OMS.¹¹

2.8 PROFILAXIS

El uso adecuado del condón es una barrera efectiva contra la transmisión sexual de la sífilis. Así como las campañas de educación sexual entre los adolescentes o campañas sanitarias más estrictas dentro de la población sexualmente activa.

Los resultados promisorios obtenidos con Ag producidos por la tecnología del DNA recombinante pueden llevar pronto a una vacuna efectiva contra la sífilis y al mejoramiento de las técnicas serológicas para realizar un diagnóstico temprano y efectivo contra esta enfermedad ya que el tratamiento temprano con antibióticos es la única forma de prevenir estadios posteriores de la sífilis.¹⁵⁻¹⁷

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El Centro Nacional de Transfusión Sanguínea (CNTS) es un banco de sangre que abastece a hospitales del Sector Salud y privados de productos sanguíneos, por lo requiere de una gran abastecimiento de sangre, a la cual se le realizan una serie de estudios antes de considerarla apta para la transfusión (sangre segura). Uno de estos estudios es el diagnóstico de sífilis.

Para esta determinación se han utilizado en los últimos años, varias técnicas no treponémicas (inespecíficas) diferentes, las cuales han mostrado resultados positivos en algunos candidatos a donadores que no presentan una historia clínica que confirme el resultado de dichas pruebas serológicas, provocando así falsos positivos y por ende el rechazo de posibles donadores.

Esto se debe a que no se cuenta con un estudio comparativo entre las diferentes técnicas no treponémicas, y el no contar con una prueba treponémica (específica) que confirme el diagnóstico.

Al no confirmar los resultados positivos, el C.N.T.S. solo indica al donador que acuda con su médico para iniciar su seguimiento y tratamiento médico.

4. OBJETIVOS

- 3.1 Realizar un estudio comparativo de diferentes técnicas no treponémicas: RPR (aglutinación), VDRL - LATEX (Microaglutinación), USR (Floculación) y pruebas treponémicas: Serodia Tp (Hemaglutinación), Serodia Tp -PA (Aglutinación pasiva); utilizando la prueba de FTA-ABS (Inmunofluorescencia) como la técnica de referencia, con el fin de adoptar la técnica más específica y sensible (confiable), para su utilización en estudios de escrutinio a donadores de sangre.**
- 3.2 Evaluar 2 técnicas treponémicas: Serodia - Tp (eritrocitos de pollo) y Serodia Tp - PA (partículas de gelatina), que son pruebas muy similares para confirmar el diagnóstico de sífilis y evitar así el uso de las técnicas de FTA-ABS y TPI.**
- 3.3 Evitar los falsos positivos existentes en el CNTS y por ende el rechazo injustificado de donadores de sangre.**
- 3.4 Confirmar los resultados dudosos para en caso de ser positivos notificar a los donadores su verdadero resultado para su inmediata atención médica.**

5. HIPÓTESIS

Las técnicas no treponémicas al presentar el mismo tipo de antígeno (cardiolipina), deberán presentar una especificidad semejante, que es baja, comparada con las pruebas treponémicas, por lo que no se podrán evitar los resultados erróneos. Aunque se espera que las técnicas de RPR y VDRL látex sean más sensibles, ya que son reacciones de aglutinación y no de floculación.

En caso de no existir una gran diferencia entre estas técnicas se tendrán que evaluar sus resultados con los obtenidos por la técnica de referencia, tomando en cuenta su laboriosidad, costo y rapidez, por lo que se propone que la técnica de RPR sea la más recomendable para su uso como prueba tamiz en grandes poblaciones, al ser sencilla, rápida y económica.

Las pruebas treponémicas presentan entre sí el mismo tipo de antígeno (treponémico), por lo que su especificidad deberá ser similar, en cambio se ha reportado que la prueba de FTA-ABS es más sensible, principalmente en periodos precoces de la enfermedad.

Las técnicas de aglutinación pasiva y de hemaglutinación son pruebas rápidas y menos laboriosas que presentan la misma sensibilidad y especificidad que otras técnicas confirmatorias como FTA-ABS y TPI que son muy especiales, por lo que se espera que sean confiables para su utilización como pruebas confirmatorias principalmente en la población de donadores sanguíneos que no presentan padecimientos que provoquen dificultades en el diagnóstico de sífilis.

6. DISEÑO DEL ESTUDIO

6.1 TIPO DE ESTUDIO

El estudio se clasifica como:

- a) Interferencia del investigador: observacional
- b) Evolución del fenómeno: transversal
- c) Período de información: retrospectivo
- d) Comparación de población: descriptivo ^{11. 52-54}

6.2 POBLACIÓN OBJETIVO

- a) Sueros de donadores sanguíneos del C.N.T.S., clínicamente sanos.
- b) Sueros de sujetos con diversos padecimientos con y sin manifestaciones clínicas

6.3 CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Se incluirán aquellos sueros que a pesar de no ser candidatos a donar sangre, provoquen dificultades en el diagnóstico de sífilis.

6.4 CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

Se excluirán aquellas muestras contaminadas, insuficientes o que hayan estado bajo algún tratamiento que provoquen alteraciones en el estudio.

6.5 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Los datos epidemiológicos reportados por el INDRE en diferentes poblaciones, como son los grupos de alto riesgo, donadores remunerados, donadores altruistas y familiares, varían considerablemente. En el tamaño de la muestra se considerarán los 3 tipos de poblaciones, ya que a pesar de las encuestas e historias clínicas que realiza el servicio médico del CNTS los pacientes en algunas ocasiones no proporcionan los datos necesarios para poder detectar a cual población pertenece, provocando un problema para obtener productos sanguíneos seguros. El tamaño de la muestra se calculó en base a la estimación de una proporción, utilizando la siguiente fórmula: ^{1,52-54}

$$n = \frac{z^2 pq}{d^2}$$

En donde:

n = tamaño de muestra

zc = valor total de curva normal que corresponde al nivel de confianza (95 %)

p = proporción

q = 1-p

d = error permitido en la estimación (5%)

Grupos de alto riesgo p = 28%

$$n = \frac{(1.96)^2(0.28)(0.77)}{(0.05)^2} = 272$$

Donadores remunerados p = 9.3%

$$n = \frac{(1.96)^2(0.093)(0.907)}{(0.05)^2} = 129$$

Donadores altruistas y familiares p = 1.7%

$$n = \frac{(1.96)^2(0.017)(0.9826)}{(0.05)^2} = 25$$

Por lo anterior se consideró tomar un tamaño de muestra de 200 para tener así un número suficiente para ser representativo de la población a estudiar.

7. MATERIAL

7.1 MATERIAL BIOLÓGICO

Se evaluará un panel compuesto por 200 especímenes clínicos, el cual se compone de la siguiente manera:

- a) 20 sueros positivos confirmados por la técnica estándar, "de oro" FTA-ABS.
- b) 10 sueros negativos confirmados por la técnica estándar, "de oro" FTA-ABS.
- c) 90 sueros de pacientes con diversas patologías con o sin manifestaciones clínicas.(ver Cuadro XIII).
- d) 10 sueros de mujeres con alteraciones fisiológicas (embarazadas)
- e) 70 sueros de donadores de sangre, previamente valorados clínicamente y con estudios serológicos normales (sanos)

PADECIMIENTO	NUMERO DE SUEROS
Cirrosis hepática	03
Insuficiencia renal	04
Anemia hemolítica	03
Sepsis-Cid	04
Diabetes mellitus	03
Leucemia	04
P. trombocitopenica	01
Enf. de Chagas	01
S. tubo digestivo	03
Cárcinoma	03
Meningitis	01
Osteoporosis	01
Tiroiditis	01
Tuberculosis	01
Miomatosis uterina	02
Pancreatitis	01
SIDA	10
Hepatitis B	10
Hepatitis C	10
RPR +	06
Politransfundidos	06
PCR +	03
R. febriles +	03
F.reumática-Latex +	03
TOTAL	90

Cuadro XIII. Lista de padecimientos.

7.2 MATERIAL DE LAS TÉCNICAS SEROLÓGICAS

7.2.1 Técnicas no treponémicas

7.2.1.1 RPR Interdiagnóstica (Investigación diagnostica S.A) RPR-ID

- a) Sueros control positivos y negativos de reactividad estándar.
- b) Agitador rotatorio de 90 a 110 rpm.
- c) Solución salina isotónica .
- d) Placas de reacción.
- e) Pipetas desechables de polietileno.

7.2.1.2 RPR Interbiol (Interbiol S.A.) RPR-IB

- a) Control positivo y negativo.
- b) Tarjetas de floculación de cartón o polietileno.
- c) Tubos gotero de polietileno.
- d) Agitador rotatorio mecánico de 100 rpm.
- e) Solución salina 0.85% .

7.2.1.3 USR Interbiol (Interbiol S.A) USR-IB

- a) Agitador rotatorio mecánico de 180 rpm.
- b) Microscópio óptico.
- c) Placa de vidrio con excavaciones esmeriladas.
- e) Solución salina 0.85% .

7.2.1.4 VDRL Látex (Sanofi Diagnostic Pasteur)

- a) Cuentagotas (1 gota = 12.5 microlitros)
- b) Placa de Kline
- c) Agitador de Kline
- d) Microscopio

7.2.2 Pruebas Treponémicas

7.2.2.1 Serodia TP (Fujirebio Inc) Ames S-TP

- a) Goteros 75 microlitros / gota
- b) Microplaca en forma de U
- c) Micropipetas (25 microlitros o 0.025 ml, 50 microlitros o 0.50 ml)
- d) Goteros 25 microlitros (0.025 ml / gota)
- e) pipetas volumétricas 5.0 y 10.0 ml

7.2.2.2 Serodia Tp PA (Fujirebio Inc) Ames S-TP PA

- a) Goteros 25 microlitros por gota
- b) Microplaca en forma de U
- c) Micropipetas (25 microlitros y 100 microlitros)
- d) Pipetas volumétricas 5 ml

7.2.2.3 Syphilam FTA-ABS (Sanofi Diagnostic Pasteur)

- a) Estufa a 37°C (cámara húmeda) o caja Petri húmeda
- b) Batea de lavado de los portaobjetos
- c) Cubreobjetos de 24 x 60 mm
- d) Microscopio equipado para fluorescencia
- e) Pipetas volumétricas o graduadas
- f) Agitador 50 rpm
- g) Bomba de vacío y manguera de extracción

8. METODOLOGÍA

8.1 OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO

Obtener aproximadamente 10 ml de sangre venosa. Separar el suero (libre de eritrocitos u otros componentes sanguíneos) por centrifugación a 3500 rpm 5 minutos, tomar 3 alícuotas de 1 ml y conservar en congelación a -20°C durante el estudio. Antes de cada estudio tomar las muestras requeridas, y descongelarlas para su utilización a temperatura ambiente.

8.2 MÉTODOS DE LAS TÉCNICAS SEROLÓGICAS

8.2.1 Técnicas no treponémicas

8.2.1.1 RPR Interdiagnóstica (RPR-ID)

a) Método cualitativo:

Tomar la muestra con la pipeta desechable y colocar una gota de suero en el círculo de la placa de reacción (25 microlitros aproximadamente). Agitar el frasco gotero con el antígeno para resuspenderlo y desechar las primeras 3 gotas y colocar una gota sobre la muestra.

Invertir la pipeta desechable y con el extremo cerrado homogeneizar y rotarlos 8 minutos a 90-110 rpm, al terminar de agitar realizar la lectura.

b) Método cuantitativo:

Se realiza de la misma manera pero se efectúan diluciones seriadas de las muestras (1:2, 1:4, 1:8, etc.), comenzando de 0.5 ml de muestra y 0.5 ml de SSI. La lectura donde la última dilución sea de 1+, es el título de la muestra.

8.2.1.2 RPR Interbiol (RPR-IB)

a) Método cualitativo:

Homogeneizar el reactivo, colocar una gota del suero con el tubo gotero en la placa de floculación. Adicionar una gota de reactivo al suero problema.

Agitar la placa en el agitador mecánico a 100 rpm durante 8 minutos. Inmediatamente después de terminar la agitación debe evaluarse la floculación.

b) Método cuantitativo:

Se realiza igual al anterior, pero al identificar las muestras positivas realizar diluciones seriadas partiendo de 0.5 ml de suero y 0.5 ml de SSI (1:2) y después colocar 0.5 ml de esta dilución con 0.5 ml de SSI (1:4) y así sucesivamente. El título del suero será la dilución más alta en la cual exista floculación.

Interpretación de la prueba

Positiva: presencia macroscópica de agregados de carbón.

Negativa: suspensión de aspecto gris homogéneo.

8.2.1.3 USR Interbiol (USR-IB)

Homogeneizar el reactivo, colocar con una aguja 0.05 ml (una gota de suero o plasma problema) en la placa y colocar 0.02 ml (una gota de reactivo).

Agitar durante 4 minutos a 180 rpm. Con el objetivo seco débil observar el grado de floculación.

Cuantitativa. Se realiza igual, pero a la muestra problema se le realizan con SSI una serie de diluciones (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, etc.).

Interpretación de los resultados

Positiva: Presencia de agregados grandes y medianos.

Positiva débil: Presencia de agregados pequeños.

Negativa: Ausencia de agregados.

8.2.1.4 V.D.R.L. -Látex Pasteur

a) Método cualitativo:

Colocar un pozo como testigo del Ag, donde se colocarán 30 µl de SSI y una gota de reactivo, después colocar en otro pozo el control positivo y una gota de reactivo, y después en los demás pozos colocar las muestras problema 30 µl con una gota de látex.

Agitar durante 6 minutos a 160 rpm. Leer inmediatamente a simple vista o con el auxilio de una lupa de un microscopio óptico.

b) Método cuantitativo:

Realizar una serie de diluciones seriadas de 1:2 hasta 1:128. Se considera como título la última dilución donde la reacción sea positiva 1+.

Interpretación de los resultados

Positiva: Partículas de látex en masas medianas y grandes.

Negativa: Partículas de látex repartidas uniformemente.

8.2.2 Técnicas treponémicas

8.2.2.1 Serodia TP-Fujirebio (S-TP)

Preparación de reactivos: Las células sensibilizadas y las no sensibilizadas se reconstituyen con la cantidad prescrita de solución reconstituyente y se dejan a temperatura ambiente (15-25°C) 30 minutos, antes de usarse. Lo siguiente se hace por cada muestra problema y los controles.

Usando un gotero de 25 microlitros colocar 4 gotas (100 microlitros) de suero diluyente en el pozo 1 y una gota (25 microlitros) en los pozos 2 al 8 (2-4 para la prueba cualitativa). Agregar 25 microlitros de muestra en el pozo 1 usando la micropipeta.

Mezclar el contenido del pozo 1 llenando y descargando la micropipeta 6 o 7 veces, después transferir 25 microlitros del pozo 1 al pozo 2, repetir la operación de transferencia-mezcla hasta el pozo 8 para obtener diluciones seriadas dobles, finalmente descartar los últimos 25 microlitros de la solución remanente del pozo 8.

Usando un gotero de 75 microlitros agregar una gota de células no sensibilizadas al pozo 2, usando otro gotero de 75 microlitros agregar una gota de células sensibilizadas de los pozos 3-8 (en caso de prueba cualitativa se colocan células no sensibilizadas al pozo 2 y células sensibilizadas al pozo 3-4).

Mezclar el contenido de los pozos usando el plato mezclador a una velocidad de 4-6, si no se cuenta con el mezclador se realiza manualmente cubriendo la placa y mezclar vigorosamente, después cubrir e incubar a temperatura ambiente (15-25°C) por 2 horas antes de leer. La incubación puede leerse después de 24 horas sin una gran diferencia.

Interpretación de los resultados

Con los controles y de acuerdo a la siguiente tabla:

Patrón de eritrocitos:	Interpretación
Botón definido y compacto en el centro con un margen liso y redondo.	Negativa
Formando un pequeño anillo con margen liso y redondo.	Negativa
Eritrocitos formando un gran anillo mas delgado que el del pozo control y numerosas aglutinaciones periféricas.	Positiva +
Eritrocitos aglutinados extendidos como película cubriendo el botón del pozo uniformemente.	Positiva ++
Eritrocitos formando un anillo escasamente mas largo en diámetro que el pozo control y ligera aglutinación periférica.	+ / -

8.2.2.2 Serodía Tp PA Fujirebio (S-TP PA)

Preparación de reactivos: Reconstituir las partículas liofilizadas con la cantidad prescrita de solución reconstituyente a temperatura ambiente (15-25°) 30 minutos antes de usarse, lo anterior se hace por cada muestra y para los controles.

Colocar 100 microlitros de suero diluyente en el pozo 1 y 25 microlitros en los pozos 2-8 (prueba cuantitativa) y 2-4 (prueba cualitativa).

Agregar 25 microlitros de muestra al pozo 1, mezclar el contenido llenando y descargando la micropipeta 6-8 veces, después transferir 25 microlitros del pozo 1 al 2 y repetir la operación para obtener diluciones dobles seriadas finalmente descartar los últimos 25 microlitros.

Usando un gotero de 25 microlitros agregar una gota de partículas no sensibilizadas al pozo 3 y usando otro gotero colocar 25 microlitros de partículas sensibilizadas del pozo 4-8 cuantitativo o al pozo 4 cualitativo. Mezclar el contenido de los pozos usando el plato mezclador a una velocidad de 4-6 y si no se cuenta con el equipo cubrir la placa y mezclar manualmente.

Incubar a temperatura ambiente durante 2 horas antes de leer o a las 24 horas sin existir ninguna diferencia.

Interpretación de los resultados.

Igual que la técnica Serodía Tp-Fujirebio (Ames)

8.2.2.3 FTA-ABS Syphilam

La reacción de inmunofluorescencia absorbida se realiza con suero recientemente obtenido o conservado a -20°C , descomplementar los sueros por ensayar y el suero de control positivo sífilis (56°C , 30 minutos). Estos pueden conservarse 8 días a -8°C o varios meses a -20°C (pero descongelarlos solo una vez).

Se diluyen los sueros al 1/5 en la solución del absorbato y se deja en contacto 5 minutos (dilución del suero). en caso de requerir una titulación del suero este se debe diluir a su vez en el tampón de fosfatos (diluciones al doble, partiendo de la dilución 1/5).

Cada examen debe incluir un control negativo absorbido y un control positivo absorbido, depositar en los pocillos de Syphilam un volumen igual del suero diluido 1/5 (20 μl) excepto en 2 de ellos, en uno se colocarán (20 μl) de tampón fosfato (testigo de conjugado) y en el otro el mismo volumen de absorbato diluido (1/5) "con tampón" (testigo absorbato).

Dejar en contacto 30 minutos a 37°C en cámara húmeda, eliminar el exceso de muestra con algunos mililitros de tampón fosfato (pipeta de 5 ml), lavar en batea 2 veces durante 5 minutos y con ligera agitación 50 rpm, escurrir, secar al aire o con ayuda de papel filtro y una bomba de vacío para eliminar totalmente la humedad con la manguera de extracción.

Cubrir cada pocillo con 25 µl de conjugado fluorescente diluido (1/75) y dejar en contacto 30 minutos a 37°C en cámara húmeda y eliminar el exceso de conjugado con tampón de fosfatos.

Lavar 2 veces 5 minutos con tampón fosfato (igual que en el otro lavado) y pasar rápidamente por un baño de agua destilada y secar.

Depositar 2 gotas de glicerina tamponada, cubrir con un cubreobjetos y proceder al examen microscopico. Si el examen ha de ser demorado hasta el día siguiente conservar las preparaciones en la oscuridad a 2-8°C.

Interpretación de los resultados

Positivo: La extensión presenta treponemas coloreados en verde brillante destacándose sobre un fondo oscuro.

Negativo: La extensión no presenta ningún treponema visible o apenas visibles coloreados en verde pálido.

8.3 TRATAMIENTO ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se analizarán en un cuadro de contingencia de doble entrada. ^{11, 52-54}

PRUEBA	INDIVIDUOS		
	ENFERMOS	NORMALES	TOTAL
POSITIVA	VP (a)	FP (b)	a+b
NEGATIVA	FN (c)	VN (d)	c+d
TOTAL	a+c	b+d	n

DEFINICIONES:

a) Verdaderos positivos (VP): Resultados positivos (reactivos) obtenidos con las muestras de individuos infectados.

b) Falsos positivos (FP): Resultados positivos (reactivos) obtenidos por la prueba con las muestras de la población normal.

c) Falsos negativos (FN): Resultados negativos (no reactivos) obtenidos por la prueba con las muestras de la población de infectados.

d) Verdaderos negativos (VN): Resultados negativos (no reactivos) obtenidos con las muestras de individuos normales.

Con los datos obtenidos del cuadro se definirán los parámetros más importantes para evaluar las pruebas serológicas, que son los siguientes:

a) Sensibilidad (S): Proporción de muestras positivas (reactivas) identificadas correctamente por la prueba empleada.

$$S = (a / a + c) \times 100$$

b) Especificidad (E): Proporción de muestras negativas (no reactivas) correctamente identificadas por la prueba empleada.

$$E = (d / b + d) \times 100$$

c) Valor predictivo positivo (VPP): Probabilidad de estar infectado que tiene un individuo, cuando el resultado de la prueba es reactiva.

$$VPP = (a / a + b) \times 100$$

d) Valor predictivo negativo (VPN): Probabilidad de un individuo de no tener la infección cuando el resultado de la prueba no es reactivo.

$$VPN = (d / c + d) \times 100$$

e) Prevalencia (P): Proporción de individuos infectados en un momento dado en el total de la población estudiada.

$$P = (a + c / n) \times 100$$

Estos valores se modifican considerablemente de acuerdo a la prevalencia de la infección estudiada en una población determinada.

Se buscará la posible asociación entre las variables mediante un análisis estadístico de cross table (SPSS).^{11, 52-54.}

9. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados del estudio en forma de tablas y gráficas para su posterior análisis y conclusión.

TABLA 1. Frecuencias y porcentajes de los resultados obtenidos por las técnicas evaluadas y de la técnica de referencia en la población total del estudio.

TECNICA	NEG(%)	PD(%)	PM(%)	PF(%)	PT(%)	T(%)
U.S.R.	179(89.5)	9(4.5)	8(4.0)	4(20.0)	21(10.5)	200(100.0)
V.D.R.L.	176(88.0)	11(5.5)	7(3.5)	6(3.0)	24(12.0)	200(100.0)
R.P.R.-IB	179(89.5)	9(4.5)	5(2.5)	7(3.5)	21(10.5)	200(100.0)
R.P.R.-ID	179(89.5)	9(4.5)	5(2.5)	7(3.5)	21(10.5)	200(100.0)
S.-TP	172(86.0)	5(2.5)	20(10.0)	3(1.5)	28(14.0)	200(100.0)
S. TP-PA	172(86.0)	2(1.0)	23(11.5)	3(1.5)	28(14.0)	200(100.0)
FTA-ABS	174(87.0)	9(4.5)	13(6.5)	4(2.0)	26(13.0)	200(100.0)

NEG:NEGATIVOS, PD:POSITIVOS DEBILES, PM:POSITIVOS MODERADOS, PF:P. FUERTES, PT:PTOTALES, T:TOTAL DE SUEROS.

Tabla 2. Resultados de las técnicas evaluadas en la población total del estudio (Prevalencia 13%).

TECNICA	VP	VN	FP	FN	TOTAL
U.S.R.	15	167	7	11	200
V.D.R.L.	17	167	7	9	200
R.P.R.-IB	15	168	6	11	200
R.P.R.-ID	15	168	6	11	200
S.- TP	25	171	3	1	200
S.-TP PA	25	171	3	1	200

VP: Verdaderos positivos, VN: Verdaderos negativos, FP: Falsos positivos, FN: Falsos negativos.

Tabla 3. Resultados de las técnicas evaluadas en la población con padecimientos diversos y cambios fisiológicos transitorios (prevalencia 5%).

TECNICA	VP	VN	FP	FN	TOTAL
U.S.R.	3	89	6	2	100
V.D.R.L.	3	89	6	2	100
R.P.R.-IB	3	89	6	2	100
R.P.R.-ID	3	89	6	2	100
S.- TP	5	92	3	0	100
S. -TP PA	5	92	3	0	100

Tabla 4. Resultados de las técnicas evaluadas en la población de alto riesgo (prevalencia 67%).

TECNICA	VP	VN	FP	FN	TOTAL
U.S.R.	12	10	0	8	30
V.D.R.L.	14	10	0	6	30
R.PR.-IB	12	10	0	8	30
R.PR.-ID	12	10	0	8	30
S.- TP	19	10	0	1	30
S.-TP PA	19	10	0	1	30

VP: Verdaderos positivos, VN: Verdaderos negativos, FP: Falsos positivos, FN: Falsos negativos.

Tabla 5. Resultados de las técnicas evaluadas en la población de donadores de sangre (prevalencia 1%).

TECNICA	VP	VN	FP	FN	TOTAL
U.S.R.	0	68	1	1	70
V.D.R.L.	0	68	1	1	70
R.PR.-IB	0	69	0	1	70
R.PR.-ID	0	69	0	1	70
S.- TP	1	69	0	0	70
S. -TP PA	1	69	0	0	70

VP: Verdaderos positivos, VN: Verdaderos negativos, FP: Falsos positivos, FN: Falsos negativos.

Tabla 6. Resultados de las técnicas evaluadas en la población total del estudio (%).

TECNICA	S	E	VPP	VPN	P
U.S.R.	58	96	68	94	13
V.D.R.L.	66	96	71	95	13
R.PR.-IB	58	97	72	94	13
R.PR.-ID	58	97	72	94	13
S.- TP	96	98	89	99	13
S. -TP PA	96	98	89	99	13

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Tabla 7. Resultados de las técnicas evaluadas en la población de padecimientos diversos y trastornos fisiológicos transitorios (%).

TECNICA	S	E	VPP	VPN	P
U.S.R.	60	94	34	98	5
V.D.R.L.	60	94	34	98	5
R.P.R.-IB	60	94	34	98	5
R.P.R.-ID	60	94	34	98	5
S.- TP	100	97	63	100	5
S. -TP PA	100	97	63	100	5

S:Sensibilidad, E:Especificidad, VPP:Valor predictivo positivo, VPN:Valor predictivo negativo, P:Prevalencia

Tabla 8. Resultados de las técnicas evaluadas en la población de alto riesgo (%).

TECNICA	S	E	VPP	VPN	P
U.S.R.	60	100	100	56	67
VD.R.L.	70	100	100	63	67
R.P.R.-IB	60	100	100	56	67
R.P.R.-ID	60	100	100	56	67
S.- TP	95	100	100	91	67
S. -TP PA	95	100	100	91	67

S:Sensibilidad, E:Especificidad, VPP:Valor predictivo positivo, VPN:Valor predictivo negativo, P:Prevalencia

Tabla 9. Resultados de las técnicas evaluadas en la población de donadores de sangre (%).

TECNICA	S	E	VPP	VPN	P
U.S.R.	0	99	0	99	1
V.D.R.L.	0	99	0	99	1
R.PR.-IB	0	100	0	99	1
R.PR.-ID	0	100	0	99	1
S.- TP	100	100	100	100	1
S. -TP PA	100	100	100	100	1

S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo, P: Prevalencia

Tabla 10. Comparación de resultados de la técnica R.P.R.-IB vs FTA-ABS.

		R.P.R.-IB				
		NEG	PD	PM	PF	T FTA-ABS
FTA	NEG	168	5	1	0	174
	PD	7	2	0	0	9
ABS	PM	4	2	3	4	13
	PF	0	0	1	3	4
T _{RPR-IB}		179	9	5	7	200

Ejemplo de interpretación de la tabla:



Lectura horizontal: De los 174 resultados negativos obtenidos por la técnica de FTA-ABS, solo 168 fueron negativos para R.P.R.-IB y los restantes fueron 5 falsos positivos débiles y 1 moderado.



Lectura vertical: De los 179 resultados negativos obtenidos por la técnica de R.P.R.-IB, 168 son negativos verdaderos y los restantes se dividen en 7 falsos negativos (que deberían ser positivos débiles) y 4 (que deberían ser positivos moderados).

Tabla 11. Comparación de resultados de la técnica R.P.R-ID vs FTA-ABS.

		R.P.R.-ID				
		NEG	PD	PM	PF	T FTA-ABS
F T A B S	NEG	168	5	1	0	174
	PD	7	2	0	0	9
	PM	4	2	3	4	13
	PF	0	0	1	3	4
	T _{RPR-ID}	179	9	5	7	200

Tabla 12. Comparación de resultados de la técnica U.S.R.-IB vs FTA-ABS.

		U.S.R.-IB				
		NEG	PD	PM	PF	T _{FTA-ABS}
F T A	NEG	168	5	1	0	174
	PD	7	2	0	0	9
A B	PM	4	2	4	3	13
	PF	0	0	3	1	4
S	T _{USR-IB}	179	9	8	4	200

Tabla 13. Comparación de resultados de la técnica V.D.R.L. vs FTA-ABS.

		V.D.R.L.-LATEX				
		NEG	PD	PM	PF	T FTA-ABS
F T A A B S	NEG	167	6	1	0	174
	PD	7	2	0	0	9
	PM	2	3	4	4	13
	PF	0	0	2	2	4
T _{VDRL}		176	11	7	6	200

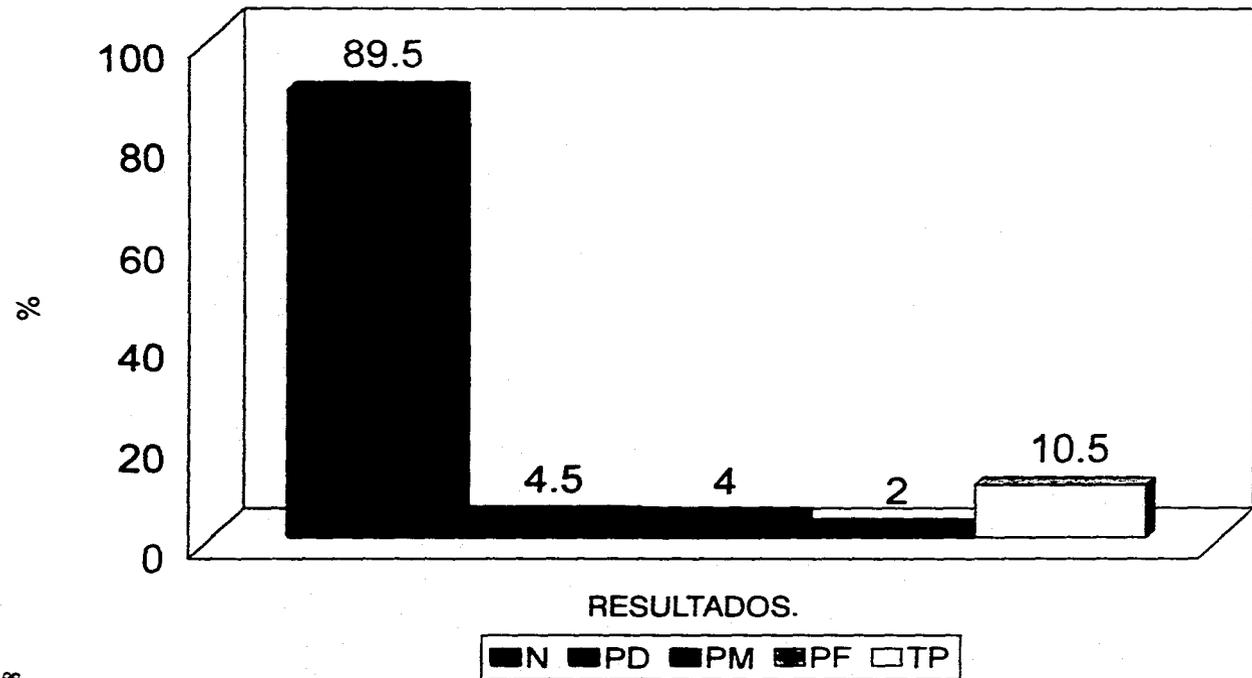
Tabla 14. Comparación de resultados de la técnica S-TP vs FTA-ABS

		SERODIA-TP				
		NEG	PD	PM	PF	T_{FTA-ABS}
FTA-ABS	NEG	171	1	2	0	174
	PD	1	4	4	0	9
	PM	0	0	12	1	13
	PF	0	0	2	2	4
	T_{S-TP}	172	5	20	3	200

Tabla 15. Comparación de resultados de la técnica S-TP PA vs FTA-ABS.

		SERODIA-TP PA				
		NEG	PD	PM	PF	T FTA-ABS
FTA-ABS	NEG	171	0	3	0	174
	PD	1	2	6	0	9
	PM	0	0	12	1	13
	PF	0	0	2	2	4
S-TP PA	T _{S-TP PA}	172	2	23	3	200

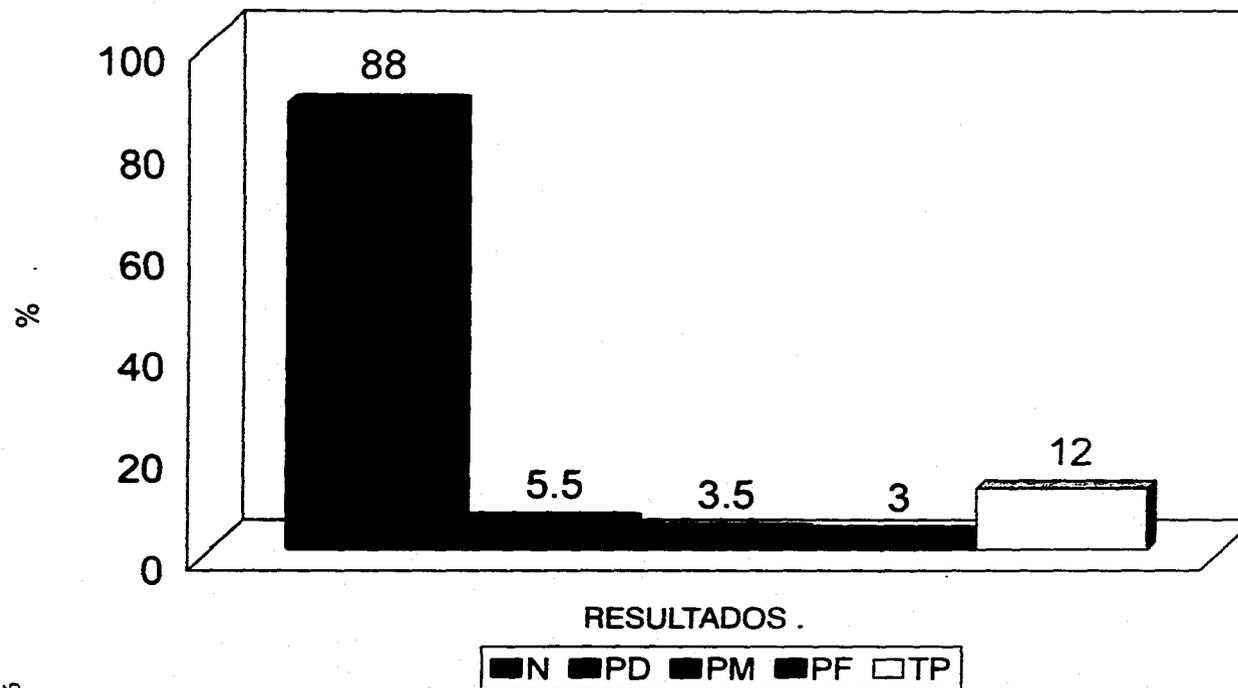
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LA TECNICA DE USR.



68

Gráfica8 . N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod.,PF=pos. fuer. TP= total de pos.

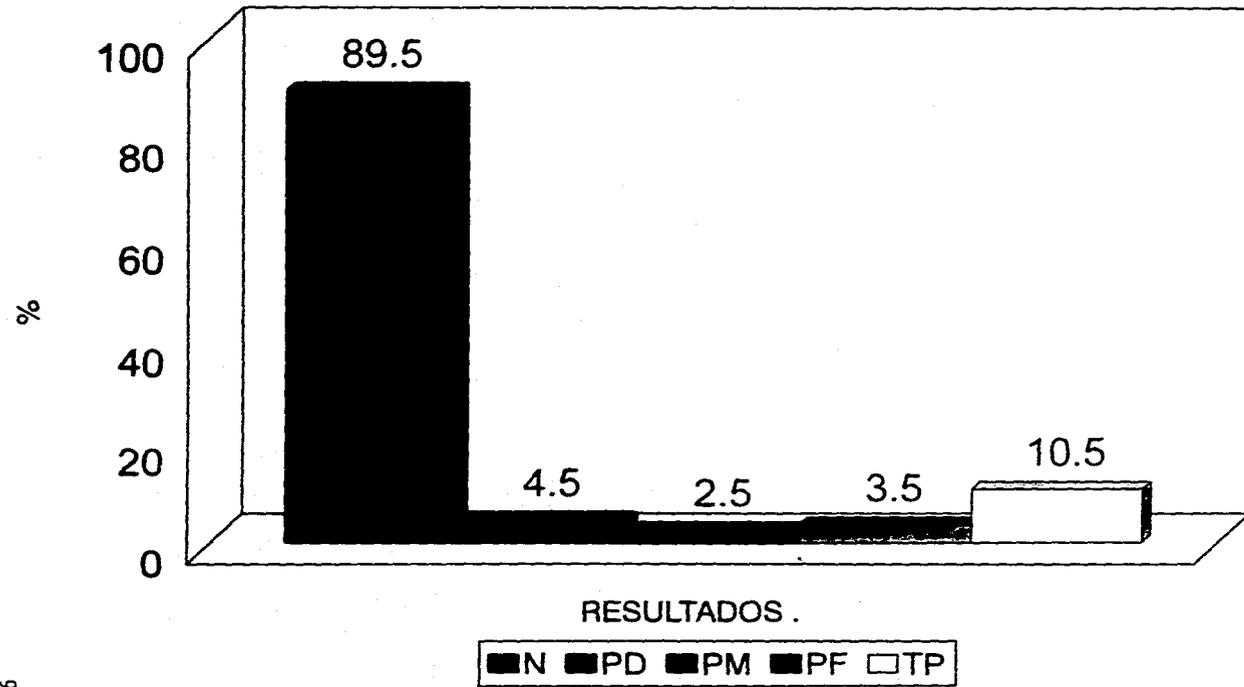
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LA TECNICA DE VDRL.



06

Gráfica9. N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod.,PF=pos. fuer. TP= total de pos.

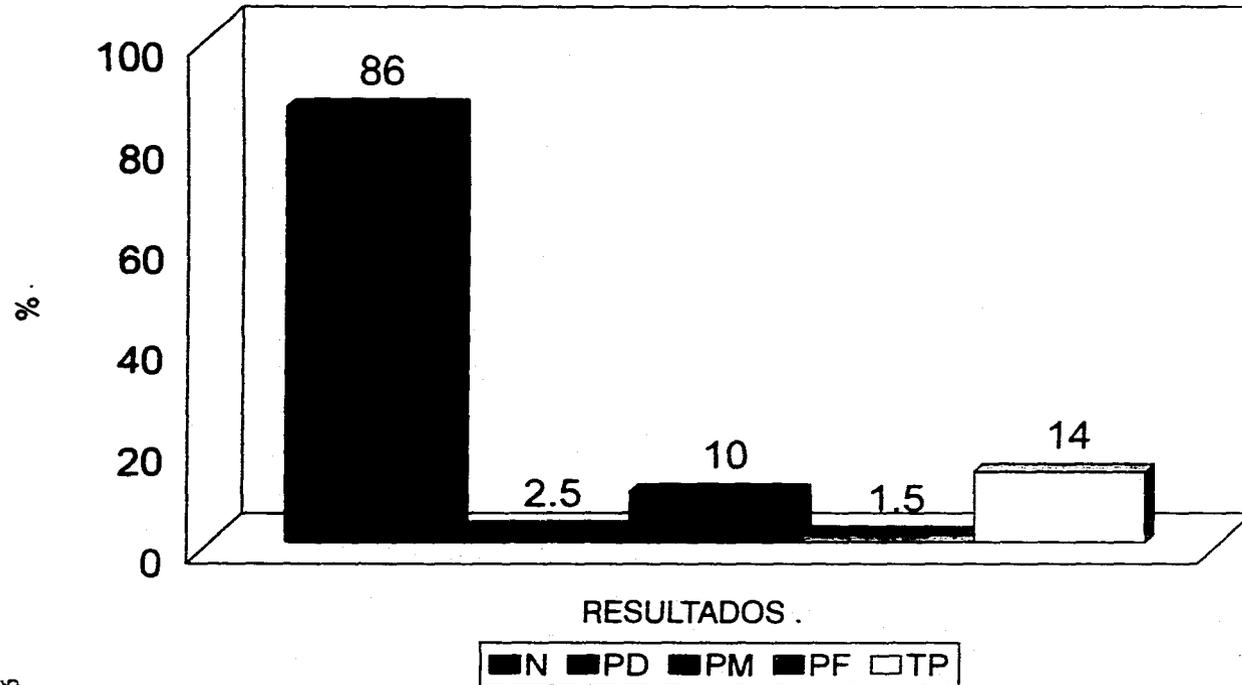
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LAS TECNICAS DE RPR IB E ID.



16

Gráfica 10. N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod., PF=pos. fuer. TP= total de pos.

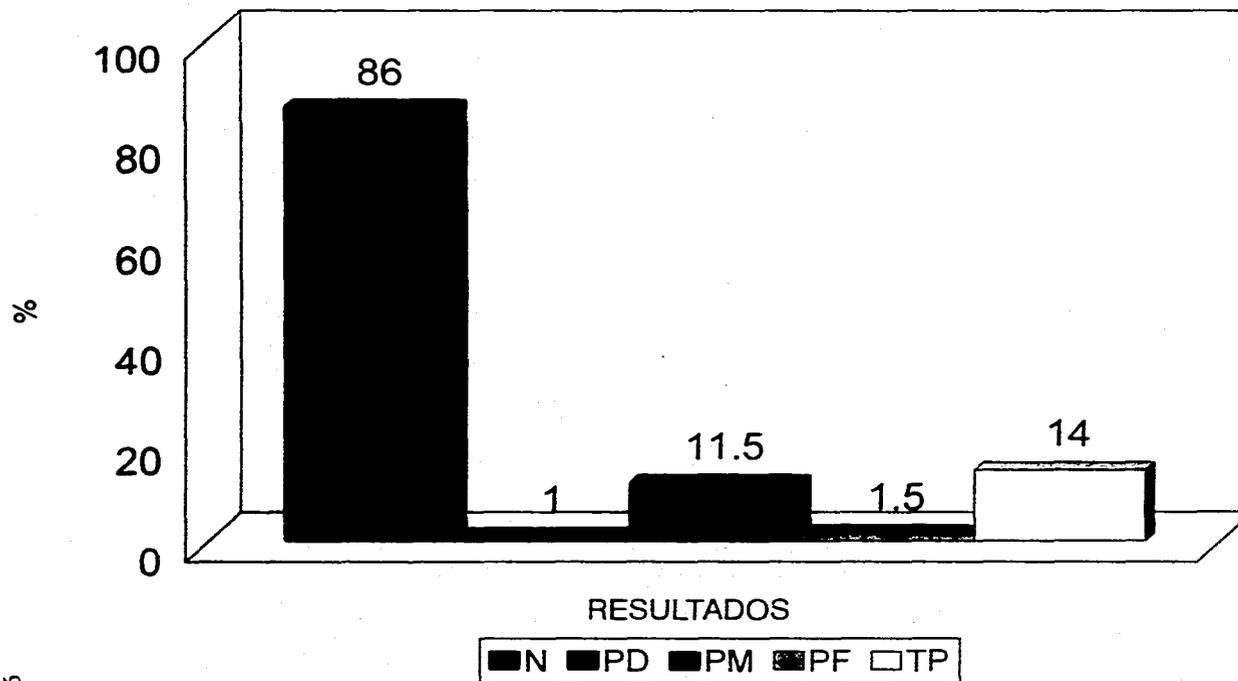
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LA TECNICA DE SERODIA TP.



92

Gráfica11. N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod.,PF=pos. fuer. TP= total de pos.

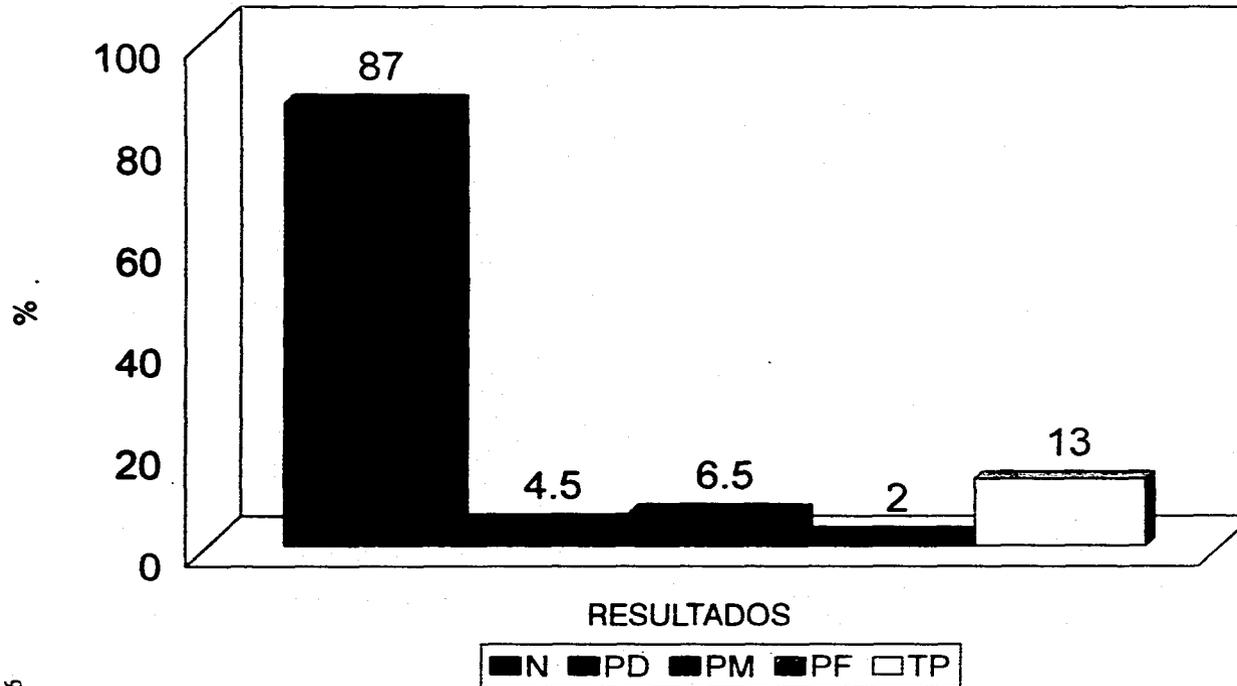
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LA TECNICA DE SERODIA TP.PA



69

Gráfica 12. N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod., PF=pos. fuer. TP= total de pos.

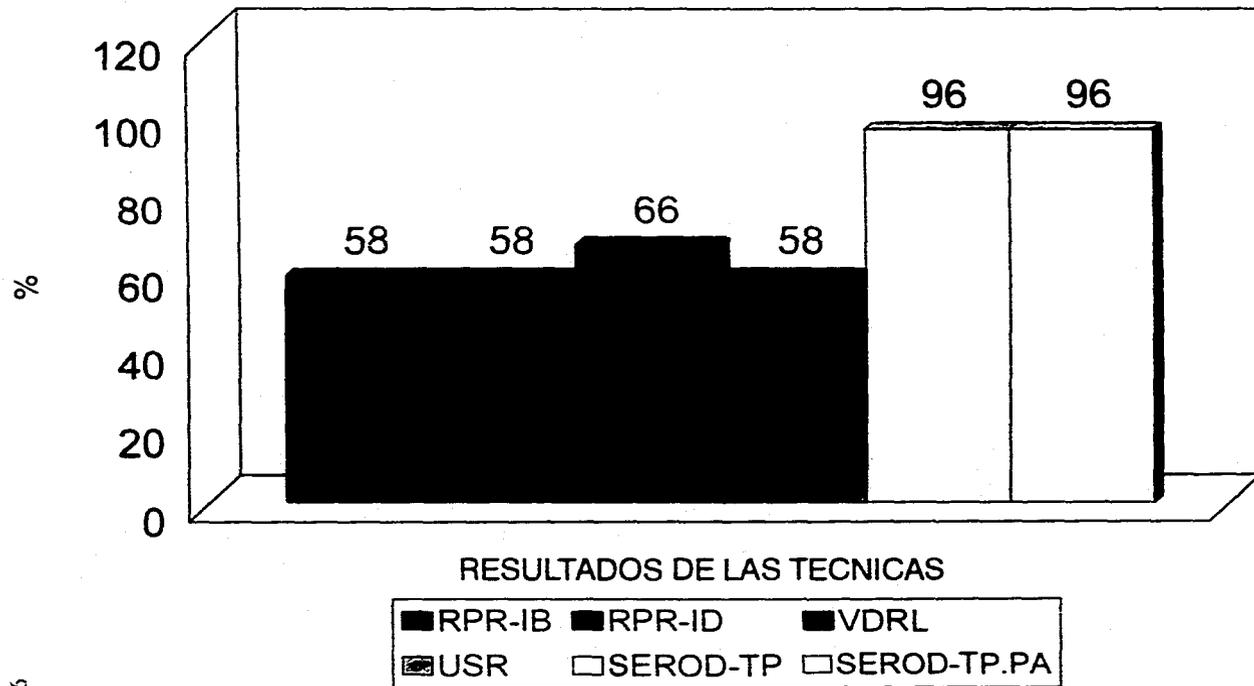
FRECUENCIAS DE RESULTADOS DE LA TECNICA DE REFERENCIA FTA-ABS.



94

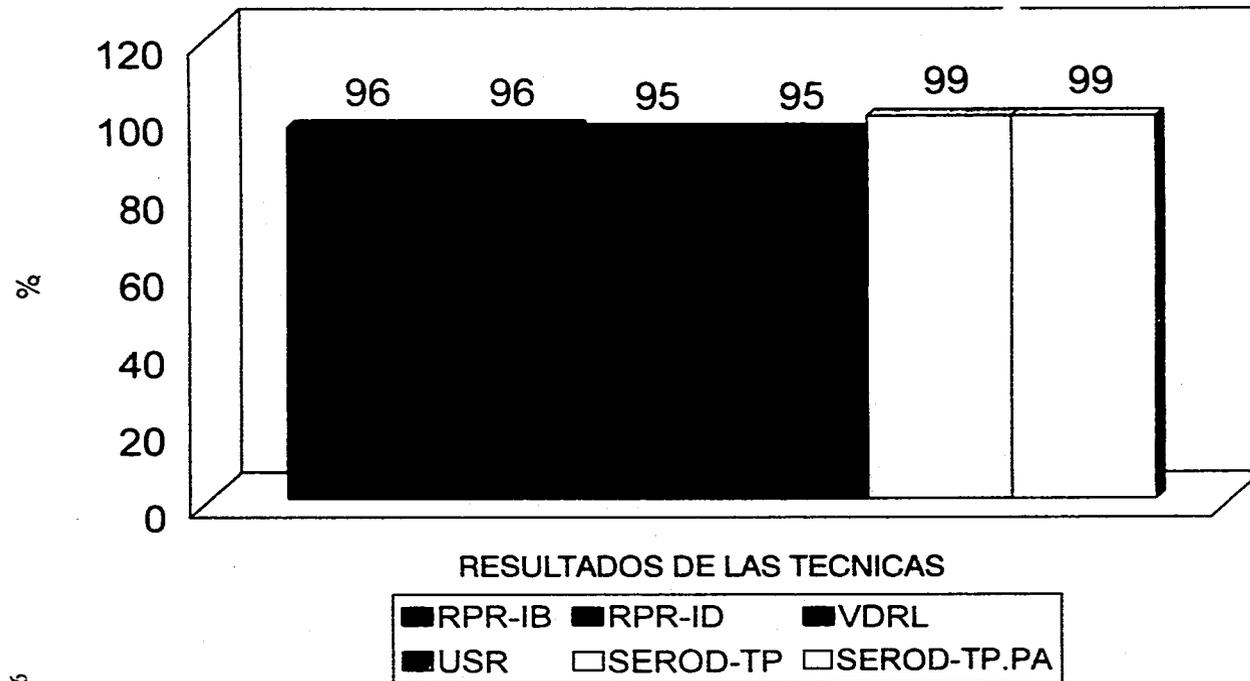
Gráfica 13. N=neg., PD= pos. débil, PM=pos. mod., PF=pos. fuer. TP= total de pos.

SENSIBILIDAD DE LAS TECNICAS POBLACION TOTAL ESTUDIADA.



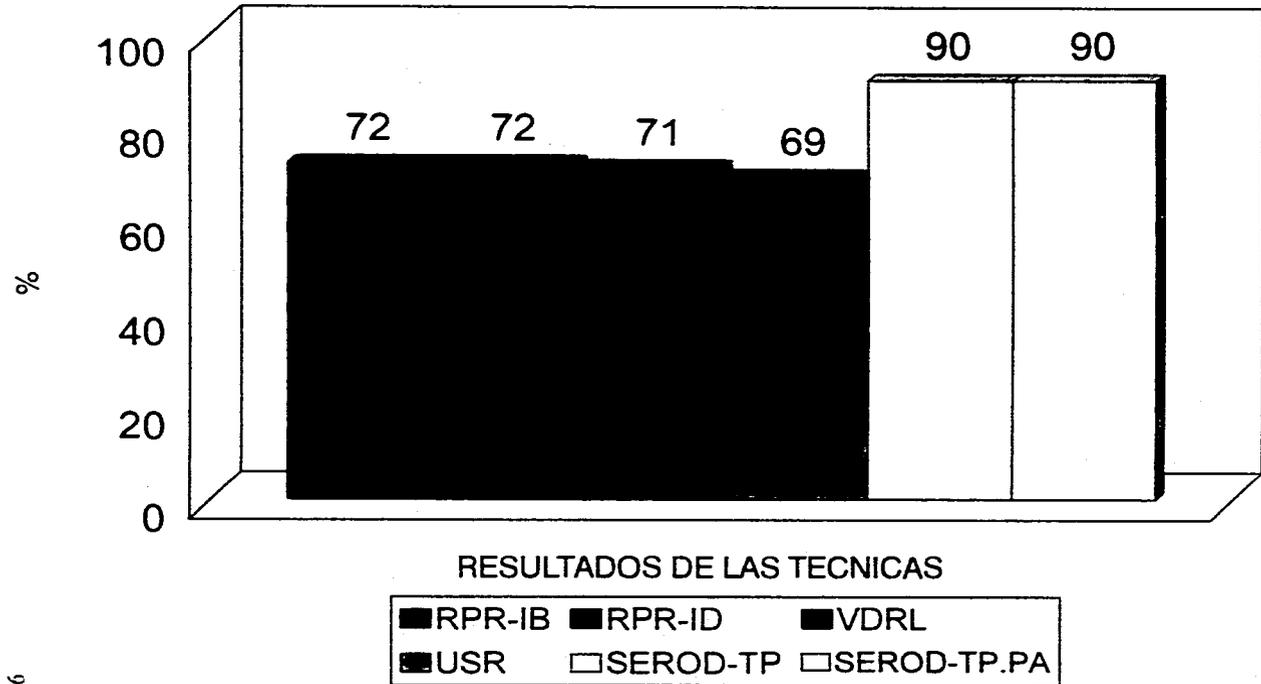
56
Gráfica 14 .

ESPECIFICIDAD DE LAS TECNICAS POBLACION TOTAL ESTUDIADA.



96
Gráfica 15 .

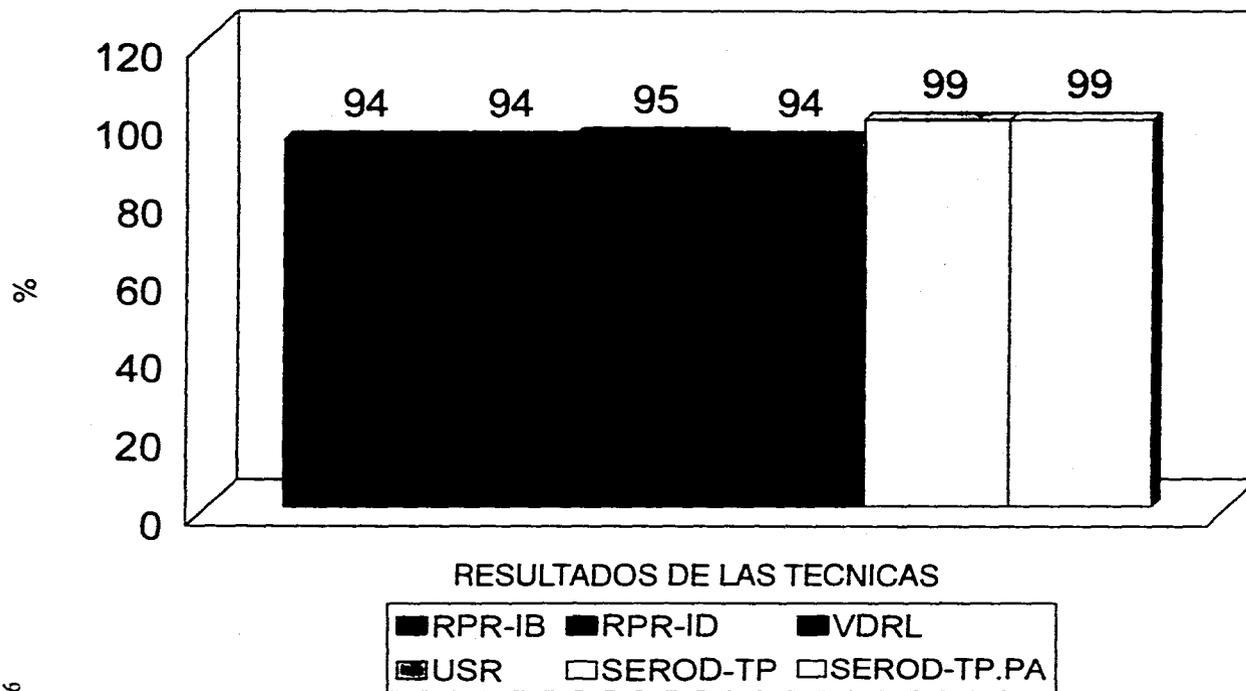
VALOR DE PREDICCIÓN POSITIVO DE LAS TÉCNICAS POBLACION TOTAL ESTUDIADA.



97

Gráfica 16.

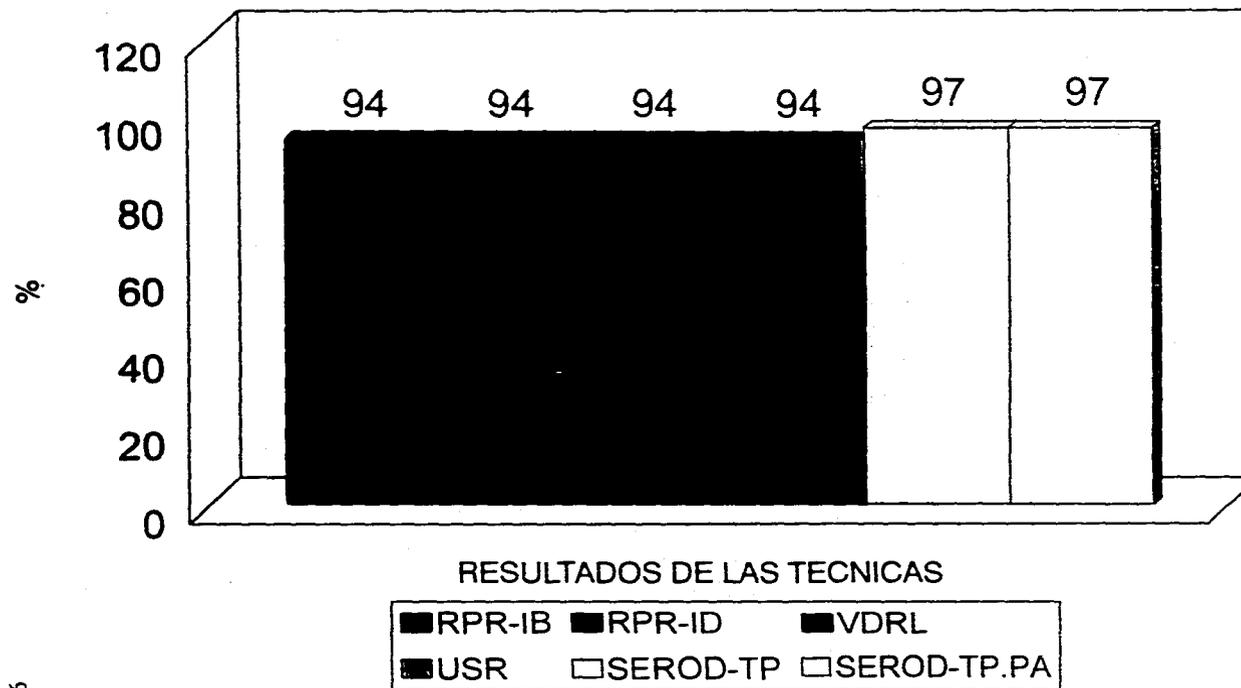
VALOR DE PREDICCIÓN NEGATIVO DE LAS TÉCNICAS POBLACION TOTAL ESTUDIADA.



86
Gráfica 17.

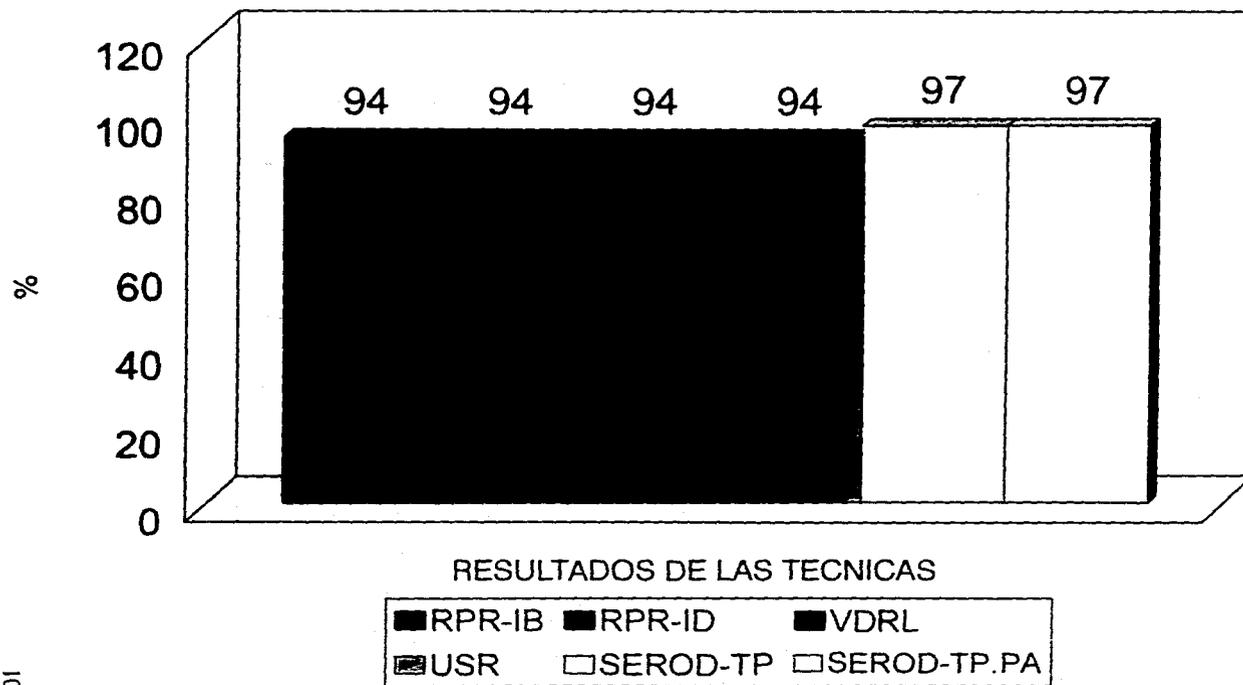
ESPECIFICIDAD DE LAS TECNICAS

POBLACION CON ENFERMEDADES DIVERSAS.



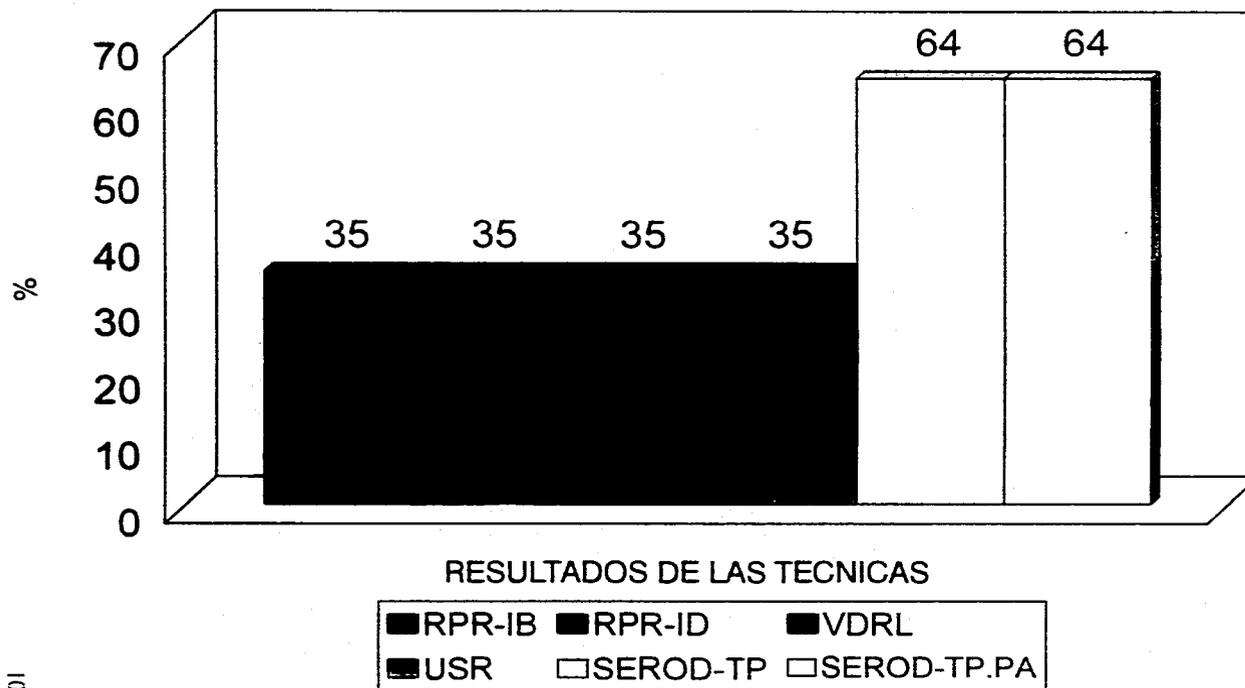
66
Gráfica 18 .

ESPECIFICIDAD DE LAS TECNICAS POBLACION CON ENFERMEDADES DIVERSAS.



100
Gráfica 19.

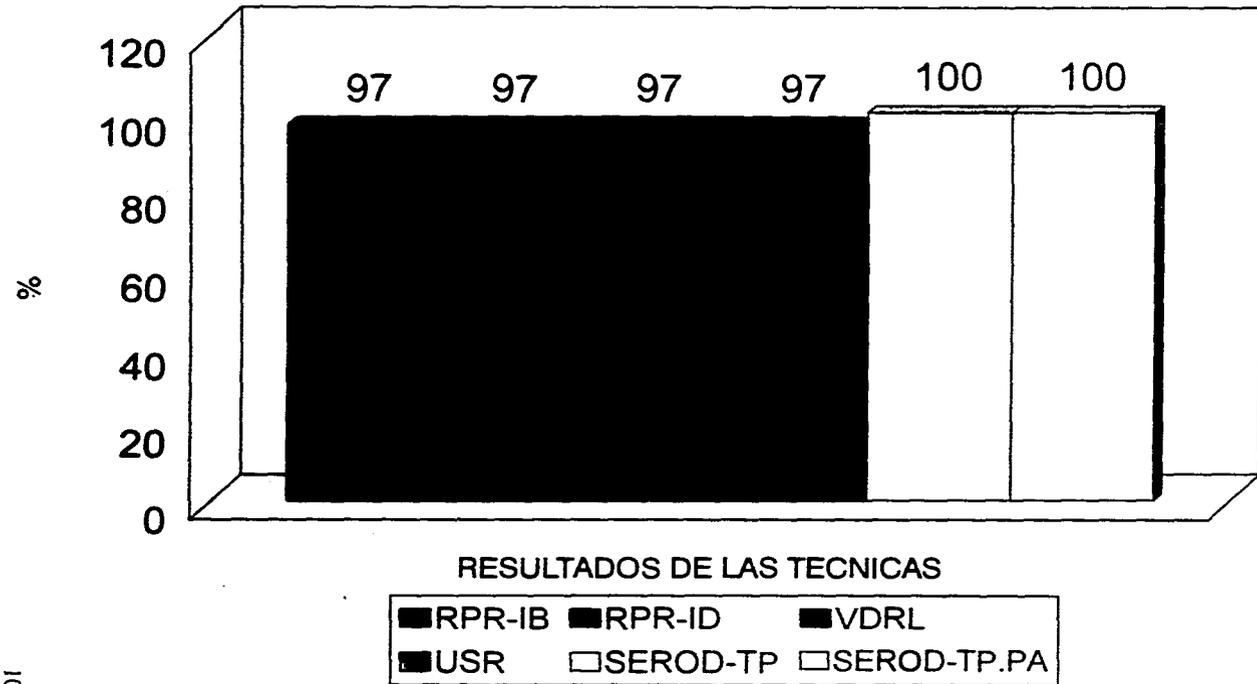
VALOR DE PREDICCIÓN POSITIVO DE LAS TÉCNICAS POBLACION CON ENFERMEDADES DIVERSAS.



101

Gráfica 20 .

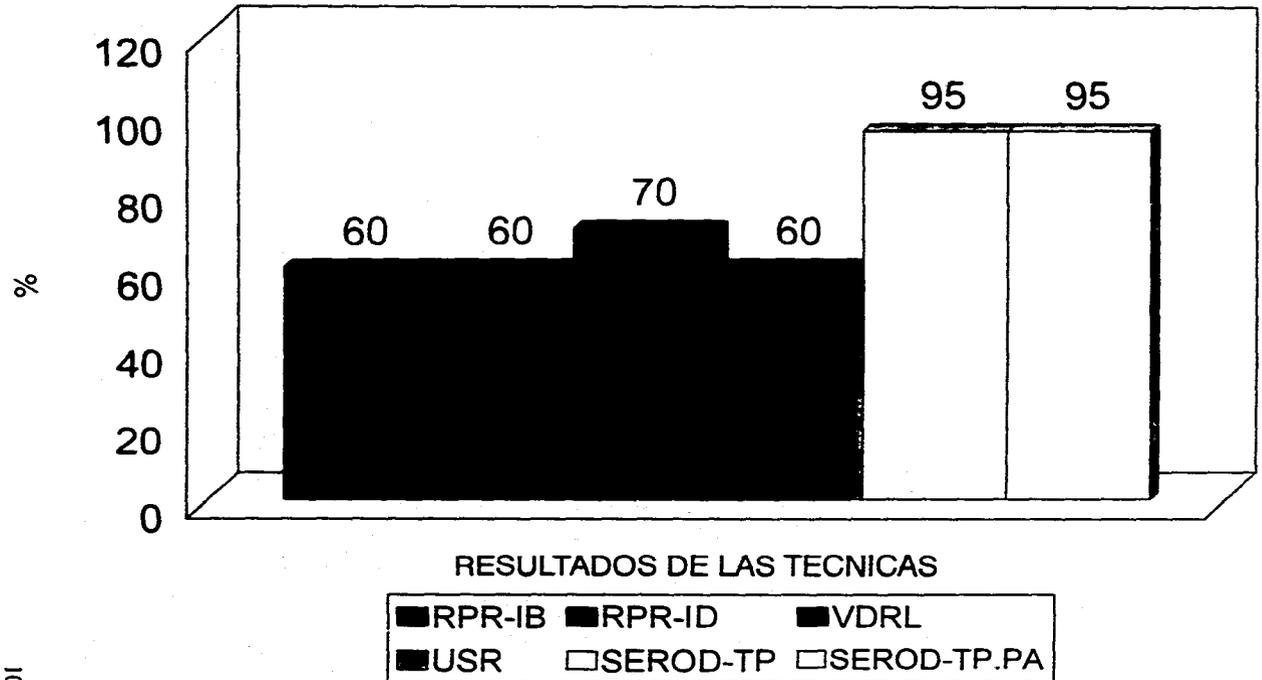
VALOR DE PREDICCIÓN NEGATIVO DE LAS TECNICAS POBLACION CON ENFERMEDADES DIVERSAS.



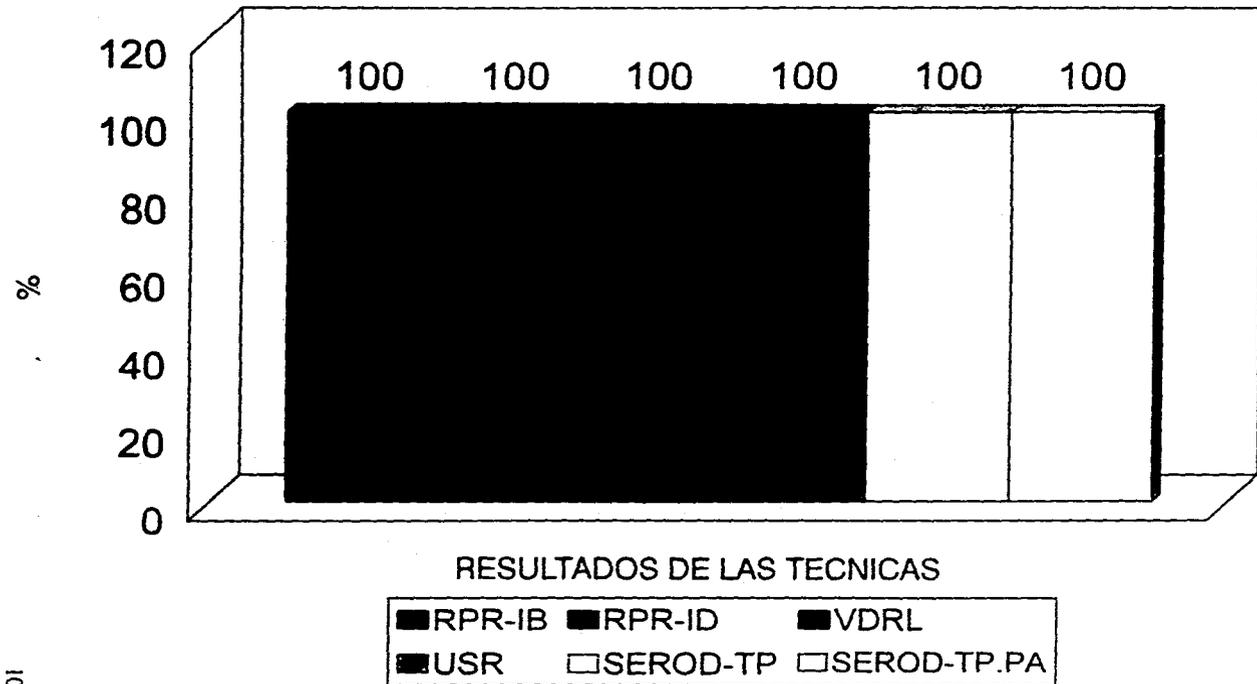
102
Gráfica 21 .

SENSIBILIDAD DE LAS TECNICAS

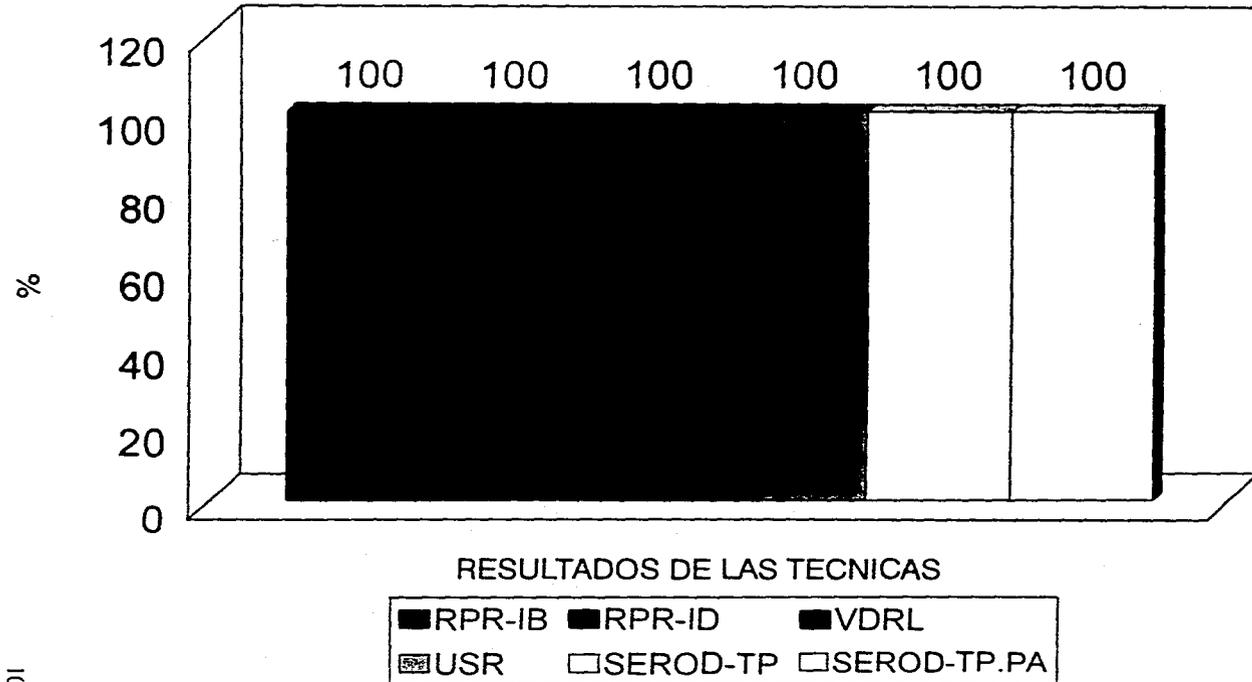
POBLACION DE ALTO RIESGO.



ESPECIFICIDAD DE LAS TECNICAS POBLACION DE ALTO RIESGO.



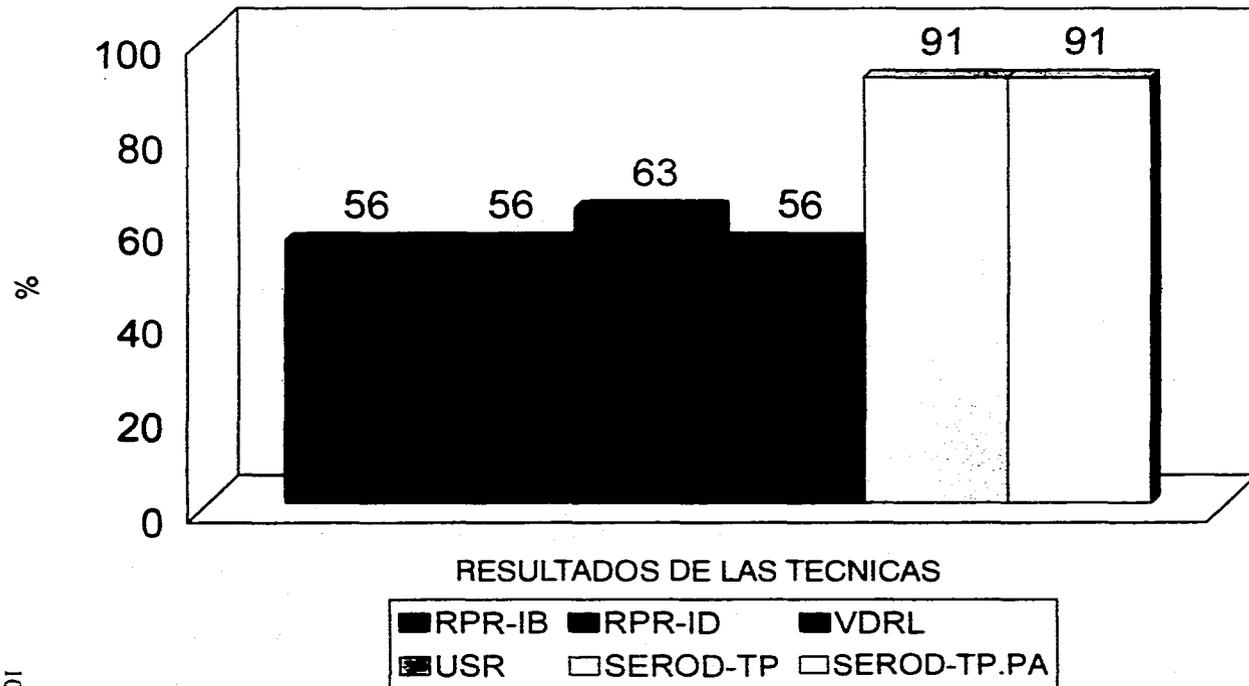
VALOR DE PREDICCIÓN POSITIVA DE LAS TÉCNICAS POBLACION DE ALTO RIESGO.



105

Gráfica 24 .

VALOR DE PREDICCIÓN NEGATIVO DE LAS TÉCNICAS POBLACION DE ALTO RIESGO.

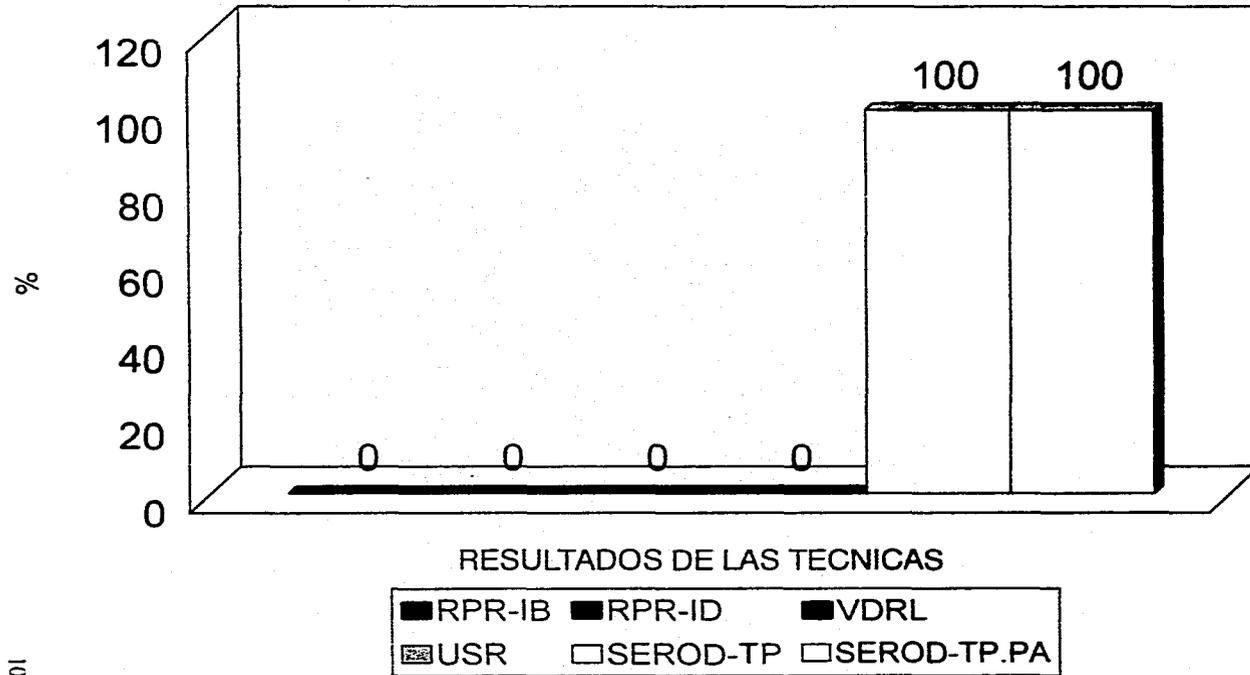


106

Gráfica 25 .

SENSIBILIDAD DE LAS TECNICAS

POBLACION DE DONADORES DE SANGRE.

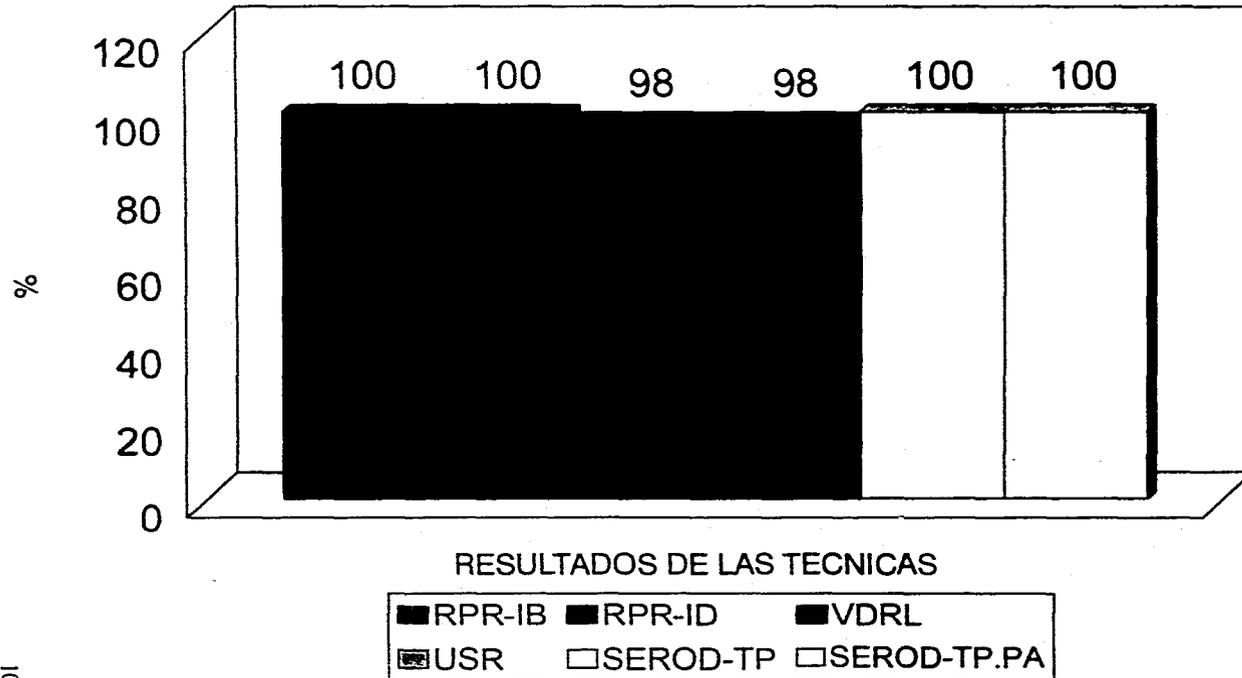


107

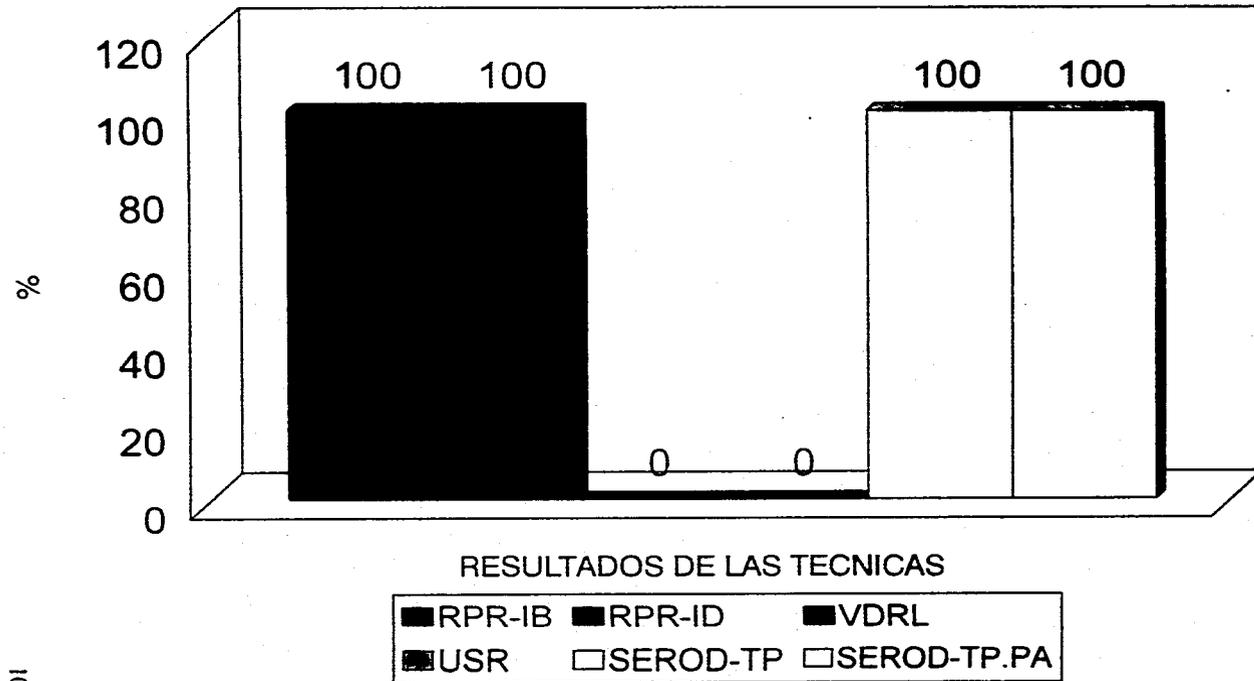
Gráfica 26.

ESPECIFICIDAD DE LAS TECNICAS

POBLACION DE DONADORES DE SANGRE.

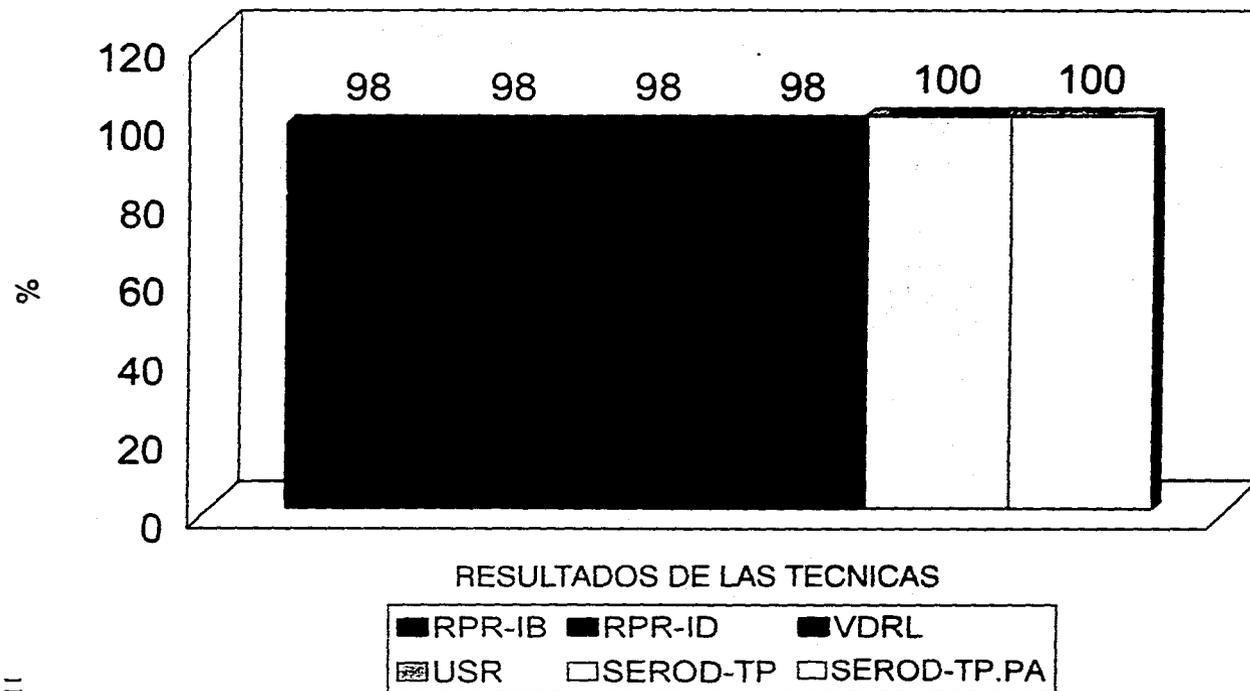


VALOR DE PREDICCIÓN POSITIVA DE LAS TECNICAS POBLACION DE DONADORES DE SANGRE.



109
Gráfica 28 .

VALOR DE PREDICCIÓN NEGATIVA DE LAS TÉCNICAS POBLACION DE DONADORES DE SANGRE.



110
Gráfica 29.

10. ANALISIS DE RESULTADOS

Como se puede apreciar en las gráficas 8-13 y en la Tabla 1 las frecuencias de los resultados obtenidos mediante las técnicas no treponémicas presentarán tendencias mayores hacia los resultados negativos e inferiores hacia los resultados positivos, en cambio empleando las técnicas específicas no se observa estas tendencias pues sus porcentajes son muy cercanos a los obtenidos por la técnica de referencia al no presentar muchos resultados erróneos como sucede con las técnicas no específicas, sin embargo se observa que los porcentajes obtenidos por el VDRL-LATEX se encuentran entre los obtenidos por las técnicas inespecíficas y específicas, debido a que su sensibilidad fue ligeramente mayor que las demás técnicas no treponémicas como se muestra en la Tabla 6 y Gráfica 14.

En las Tablas 2-5 y las Gráficas 14-29 se muestran los resultados de las técnicas evaluadas, donde se observa que las no técnicas treponémicas presentan mayor porcentaje de resultados erróneos. Los resultados falsos negativos se observaron principalmente en la población de alto riesgo (26.6%), debido a que estos sueros pertenecen a mujeres trabajadoras del sexo que padecieron la enfermedad durante años pero no desarrollaron la fase terciaria, por lo que se encuentran en un período de latencia en donde la respuesta inmunológica es primordialmente de Acs específicos que perduran toda la vida, mientras que los Acs inespecíficos solo aparecen en la fase activa de la enfermedad. Otra posible causa es que si estas personas fueron sometidas a algún tratamiento contra la enfermedad los títulos de Acs inespecíficos disminuyen considerablemente quedando solo los Acs específicos, que no son detectados por estas técnicas.

Cabe mencionar que algunos resultados obtenidos en el estudio como negativos por las técnicas no treponémicas no coincidieron con lo reportado por el INSP de Cuernavaca, pues ellos reportaron 6 sueros positivos débiles (1+) de entre los 30 sueros positivos proporcionados que resultaron ser falsos negativos en la población de alto riesgo pudiendo verse afectados los resultados, aunque al no contar con mayor información acerca de estas discrepancias no se puede discutir más acerca de este problema.

Esta problemática se refleja en los resultados de sensibilidad y VPN (60%) como se observa en las Tablas 4, 8 y las Gráficas 22, 25. Solo la técnica de VDRL LATEX mostró resultados ligeramente mejores en su sensibilidad (70%) al presentar menos falsos negativos.

En la población con enfermedades diversas también se tuvieron problemas con las técnicas no treponémicas, pero de resultados falsos positivos aunque estos fueron de menor magnitud que en la población anterior (6%), esto pudo deberse a una reactividad cruzada aunque no se asoció a un padecimiento en especial ya que no se presentó de manera frecuente sino aislada en los siguientes padecimientos: carcinoma (1), insuficiencia renal crónica (1), Enf. de Chagas (1), donador (1) y RPR + (2). Esto se observa en la disminución de los valores de sensibilidad y VPP (60%), sin embargo la especificidad no disminuyó considerablemente (94%) como se muestra en las Tablas 3,7 y las Gráficas 18-20.

En cuanto a la población de donadores sanguíneos, la sensibilidad y el VPP se vieron afectados cuando se usaron las técnicas no treponémicas debido a que la prevalencia de la enfermedad en esta población fue muy baja (1.4%) al ser solo un suero positivo, este resultado al no ser detectado por estas técnicas arrojó un valor de 0% de sensibilidad y VPP como se observa en las Tablas 5, 9 y las Gráficas 26, 28. Este error se debió a que el donador era una persona heterosexual promiscua por lo que debería de haber sido catalogado dentro de la población de alto riesgo.

De manera general y para fines de escrutinio se comportan eficientemente dentro de esta población al dar una especificidad y VPN del 98% (Tablas 5,9 y Gráficas 27, 29).

En cambio las técnicas específicas mostraron para todas las poblaciones resultados muy satisfactorios al mantenerse por arriba del 90% en todos los parámetros calculados, al presentar solo un falso negativo entre la población de alto riesgo y 3 falsos positivos dentro de la población de enfermedades diversas. En esta última población se observaron problemas en el VPP (63%) debido quizá a una reactividad cruzada, pero al igual que en las técnicas no treponémicas, no se asoció a ningún padecimiento en especial, como se muestra en la Tabla 7 y en la Gráfica 7.

En las Tablas cruzadas 10-15 se compararon los resultados de cada técnica contra aquellos obtenidos por la técnica de referencia, desglosando los resultados de acuerdo a su intensidad, desde los negativos hasta los positivos fuertes, se encontró que a menor reactividad de la muestra el número de casos falsos negativos fue mayor y a mayor título de la reacción disminuía el porcentaje de error,

es decir, que en reacciones por arriba de 2+ (PM) o con títulos arriba de 1:32 es muy poco probable que exista un falso negativo, pero por debajo de estos títulos (PD) es muy probable un error, por lo que en el caso de observar títulos bajos se tendrá que confirmar dicho diagnóstico con técnicas específicas. De igual manera se observa que los resultados obtenidos de falsos positivos no presentan reactividad por arriba de 2+ (PM) o títulos mayores a 1:32, siendo entonces en su gran mayoría PD, por lo que también tendrán que confirmarse mediante técnicas específicas para evitar resultados erróneos.

Al hacer una comparación entre los resultados positivos débiles, moderados y fuertes se encontró que la frecuencia obtenida para cada técnica varía, debido a las diferentes técnicas inmunológicas empleadas, pues al ser unas más sensibles que otras explican estas discrepancias, sin embargo no se vió afectado el diagnóstico al determinarse reactivas (sin importar el título) y así evitar en lo posible el contagio de esta enfermedad mediante transfusión sanguínea.

Por último, de acuerdo a los resultados obtenidos se puede apreciar que ninguna de las técnicas inespecíficas sobresalió entre ellas, al ser reactivas o no en una gran variedad de condiciones, aunque la técnica de VDRL LATEX presentó mejores resultados con un 8% más de sensibilidad en la población total estudiada, y las técnicas de RPR IB e ID demostraron ser las técnicas más sencillas en cuanto a su realización, por lo que son las técnicas de elección, pero debido a las deficiencias encontradas en las poblaciones de alto riesgo (falsos negativos) y padecimientos diversos (falsos positivos) únicamente se recomiendan para su utilización como pruebas de escrutinio en poblaciones sanas, por lo que pueden utilizarse en la selección

de donadores de sangre, haciendo énfasis en que los resultados sospechosos tendrán que confirmarse con una técnica específica ante la falta de evidencia clínica, histórica o epidemiológica de apoyo.

Las técnicas específicas evaluadas SERODIA TP y TP-PA que mostraron resultados muy satisfactorios en todas las poblaciones estudiadas, por lo que pueden ser utilizadas como técnicas confirmatorias en lugar de la FTA-ABS, evitándose el costo elevado y laboriosidad que esta técnica requiere, puesto que presenta resultados de sensibilidad (96%) y especificidad (98%) muy cercanos a los reportados por la técnica de referencia. Además se puede apreciar en la población de donadores sanos una especificidad, sensibilidad, VPN y VPP del 100%, por lo que también pueden utilizarse como pruebas tamiz en la selección de donador, aún en lugar de las técnicas inespecíficas pues requieren poco tiempo, son estables, fáciles y seguras, aunque el costo es un factor a considerar pues es más elevado.

Al comparar los resultados de las técnicas específicas no se encontraron discrepancias en cuanto a sus resultados, pero sí se observó que la técnica de SERODIA TP presentó problemas de indeterminaciones en los resultados de 26 sueros por lo que se tuvieron que absorber los Acs inespecíficos, debido a que los acarreadores del Ag al ser eritrocitos (aunque de pollo) presentan una ligera heterofilantigenicidad provocando una reactividad cruzada, mientras que las partículas de gelatina utilizadas en la SERODIA TP-PA no presentan este problema, al no existir ningún tipo de indeterminación, por lo que es la técnica más apropiada para su utilización en la confirmación de la enfermedad.

11. CONCLUSIONES

Las técnicas inespecíficas evaluadas pueden utilizarse para la selección de donadores de sangre de manera rutinaria, utilizando preferentemente la técnica de VDRL LATEX, por su mayor sensibilidad o las técnicas de RPR por su sencillez, aunque se tendrá que utilizar una técnica específica como la SERODIA TP-PA para la confirmación de aquellos resultados sospechosos y en personas que durante su interrogatorio se detecte alguna irregularidad que los asocie a este padecimiento.

Como se observa en los resultados de la población de donadores de sangre, se puede utilizar exclusivamente la técnica de SERODIA TP-PA para ambas funciones con el fin de obtener cada día "sangre segura para todos los mexicanos".

12. SUGERENCIAS

Fenómenos complejos y no bien definidos complican la interpretación de las pruebas serológicas para la sífilis.

Si bien las pruebas no treponémicas son inespecíficas en un sentido biológico, son sumamente útiles como métodos de discriminación y de control del tratamiento. Las pruebas son reactivas en una diversidad de condiciones distintas de la sífilis y los resultados positivos deben confirmarse mediante pruebas treponémicas. Si bien la prueba de TPI es la más específica de las pruebas treponémicas, es menos sensible que la FTA-ABS o la MHA-TP. La prueba de TPI rara vez se halla disponible como método de diagnóstico, por lo que el clínico debe confiar en una de las otras pruebas. Las pruebas de FTA-ABS y MHA-TP resultan de elevada confiabilidad cuando se realizan en un laboratorio competente, con un riguroso control de calidad de los reactivos y de las técnicas, para la confirmación de los resultados positivos.

Cuando el resultado de una prueba treponémica y la opinión clínica están en desacuerdo, se debe repetir dicha prueba de manera seriada y debe obtenerse la mayor cantidad posible de información clínica e histórica adicional. Si el desacuerdo persiste se tendrá que enviar el suero a un laboratorio de referencia, por lo que el clínico debe interpretar los resultados de las técnicas en base al conocimiento de la capacidad y limitaciones de cada prueba y obtener la mayor cantidad de información clínica por lo que la evaluación final dependerá principalmente del criterio clínico.

13.REFERENCIAS

1. Harrison. Principios de medicina interna. México: McGraw-Hill, 1986 (2): 1441-1462.
2. Alvarez A J; Bustamante M E; López P A. Historia de la salubridad y asistencia en México. México: S.S.A., 1960.
3. Anónimo. Memoria de la secretaría de salubridad y asistencia sexenio 1952-1958. México: S.S.A., 1958.
4. Anónimo. Boletín mensual de enfermedades transmisibles. México: S.S.A., 1935.
5. Anónimo. Memorias de los trabajos realizados por el departamento de salud pública. México: S.S.A., 1928.
6. Anónimo. reglamento para el ejercicio de la prostitución. México: S.S.A., 1926: 163-185.
7. Calderón J E; Conde G C; Echaniz A G. Enfermedades adquiridas por contacto sexual. Rev Inst Nal Enf Resp. 1990; 3: 69-72.
8. González G E. Las enfermedades venéreas en México. Prensa Med. Mex. 1974; 39: 389-393.
9. Heart G. epidemiologic treatment of syphilis. J am vener disassoc. 1976; 3: 177-180.
10. Tierney L M. Current medical diagnostic and treatment lange medical book U.S.A. 1993 : 1104-1107.
11. Valdespino J L; García G L; Cruz P C. Enfermedades de transmisión sexual y sida. México:INDRE S.S.A., 1993: 1-12, 66-71.

12. Tomizawa. Seroia-TP, TPHA, Imzyne M-TP; serological test kits for detection of antibodies to Tp at the various stages of syphilis. Fujirebio inc 1989: 1-10.
13. Kasamatsu S; Tamizawa T. Hemagglutination tests for diagnosis of syphilis, preliminary report. Jap J med sci biol 1966; 19: 305-308.
14. Bayley Scott. Diagnóstico microbiológico. Argentina: Panamericana, 1991 :181 - 3, 282 - 5, 436 - 40.
15. Fundenberg H H. Inmunología clínica. México: manual moderno, 1982: 628 - 630.
16. Stites D P. Inmunología básica y clínica. México: Manual modemo, 1993: 815 - 824.
17. Rose N. El laboratorio en inmunología clínica. Argentina: Medica Panamericana 1984: 600 - 611.
18. Todd - Sanford. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. México: Salvat, 1991: 1395 - 1401.
19. Gary P; Wormser M D. Serologic tests for syphilis, assessment after 75 years experience. Am Soc of clin pathol 1982; 13 (1) : 20 - 19.
20. Nadarajah M. Testing for syphilis-rational use and interpretation. Singapore med J 1990: 4: 381-3.
21. Portnoy J. Modification of the rapid plasma reagin card test for syphilis for use large scale testing. Am J Clin Pathol 1963; 40: 437 - 497.
22. Harris A A; Rosenberg A; Riedel L M. Microfoculation test for syphilis using cardiolipin antigen preliminary report. J Vener Dis Inf 1946; 27: 169 - 74.
23. Hamilton L. Diagnóstico clínico y de laboratorio. México : Interamericana, 1985: 370 -373.

24. Bogdanik I. Results of serological tests for syphilis used in preventive examinations. *Acta hematol Pol* 1992; 23(1): 49 - 54.
25. Nelson R A; Mayer M M. Immobilization of Tp in vitro by antibody produced in syphilitic infection. *J Exp Med* 1949; 89: 370 - 93.
26. Deacon W E; Lucas J B; Price V E. Florescent test for treponemal antibodies. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 96:477 - 80.
27. Deacon W E; Falcone V H; Harris A. Fluorescent test for treponemal antibody- absorption FTA-ABS test for syphilis. *J am Med Assoc* 1966; 198:624-8.
28. Stoll B J; Lee F K; Larsen S. Clinical and serologic evaluation of neonate for congenital syphilis. *J Infect Dis* 1993; 167 : 1093 -9.
29. Lewis L L. Congenital syphilis serologic diagnost in the young infant. *Infect Dis Clint North Am* 1992; 19: 31-9.
30. Boromia M F; Palomares J C. Value of serological diagnosis in congenital syphilis. *J Vener Dis* 1980; 56: 377-380.
31. Panuccio A; Borron I G. Comparision of methods for the demonstration of treponema specific IgM. *Boll ist sieroter Milan* 1989; 68: 145-51.
32. Dattner B; Thomas E W. Criteria for management on neurosyphilis. *Am J Med* 1951; 10; 483-487.
33. Romanowski B; Fick G H; Mocney D; Love E J. Serologic response to treatment of infections syphilis. *Ann Inter Med* 1991; 114 (12): 10005-9.
34. Fumara N J. Treatment of primary and secondary syphilis serological response. *JAMA* 1980; 243: 2500-2502.
35. Kanda T; Shinohara H; Zuzuki T; Murata K. Depressed CD4/CD8 ratio in TPHA-negative patients with syphilis. *Microbiol Immunol* 1992; 36 (3): 317-320.

36. Johnson P D; Graves S R; Stewart L. Specific syphilis serological tests may become negative in HIV infection. *AIDS* 1991; 5 (4): 419-23.
37. Plettenberg A; Bahlmann W; Stoehr A. Clinical and serological findings of syphilis in HIV - infected patients. *Dtsch Med Wochenschr* 1991; 116 (25): 68-72.
38. Carlsson B; Hanson H S; Wasserman J; Brauner A. Evaluation of the fluorescent treponemal antibody absorption (FTA-ABS) tests specificity. *Acta Derm Venereol* 1991; 71 (4): 306-11.
39. Zimmermann R. Syphilis screening in pregnancy. *Geburts Hilfe Frauen Heilkd* 1993; 53(10): 667-80.
40. Lobos P; Ortega R; Vera C; Poblete P. Prevalencia de serología falsa para sífilis en una población de embarazadas. *Rev Med Chil* 1992; 120 (10): 667-80.
41. Milsana K P. Syphilis in the unbooked pregnant woman. *S Afr Med J* 1992; 82(1): 18-21.
42. Gutierrez P; Orduña A; Bratos M A. Prevalence of anti-hepatitis C virus antibodies in positive FTA-ABS non-drug abusing female prostitutes in Spain. *Sex Transm Dis* 1992; 19 (1): 39-40.
43. Smikle M F; James O B; Prabhakar P. Biological false positive serological tests for syphilis in the jamaican population. *Genitourin* 1990; 66(2): 76-8.
44. Brauner A; Carlsson B; Sundkvist G; Ostenson C G. False positive treponemal serology in patients with diabetes mellitus. *J Diabetes complications* 1994; 8 (1): 57-62.
45. Bratos M A; Erios J M; Orduna; Cuervo M; Almaraz A. Influence of syphilis in hepatitis B transmission in cohort of female prostitutes. *Sex Transm Dis* 1993; 20 (5): 257-61.
46. Meyer M P; Roditi D; Louw S. IgM rheumatoid factor removal and performance of the FTA-ABS Tests in congenital syphilis. *Genitourin Med* 1992; 68(4): 249-53.

47. Alarcon S D. Antiphospholipid syndrome with in systemic lupus erythematosus. *J lupus* 1993; 3: 289-291.
48. Alarcon S D; Guzman J; Cabral A R; Cabiedes J. Antiphospholipid antibodies in patients with idiopathic autoimmune haemolytic anemia. *J Autoimmunity*. 1994; 18: 51-56.
49. Byrner D. Evaluation of treponema pallidum western immunoblot assay a confirmatory test for syphilis. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 115-122.
50. Sepúlveda A J. Boletín mensual de morbilidad y mortalidad. México SSA *Epidemiologia* 1994; 9: 9-19.
51. Shofer H; Vogth J; Milbradt R. Ceftriaxone for the treatment of primary and secondary syphilis. *Chemotherapy* 1989; 35 (2): 140-5.
52. Cañedo D L. Investigación clínica. México: Interamericana, 1987:227-236.
53. Méndez R I; Moreno A L; Sosa M C. El Protocolo de Investigación. México: Trillas, 1985.
54. Cura E; Wendel S. Manual de procedimientos de control de calidad para los laboratorios de serología de los bancos de sangre. Washington D.C. ; Organización Panamericana de salud, 1994: 7-20.
55. Linares G J. Inmunohematología y transfusión. Caracas Venezuela, 1986: 384-385.