

## **Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre**

### *Importance of Specific and Unspecific Tests to Diagnosis Syphilis in Blood Donors*

**Montiel, Milagros; Arias, Julia; Pozo, Elieth\* y Mogollón, Adriana**

Departamento de Microbiología, Práctica Profesional de Inmunología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Medicina, Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela. \*E-mail: eliethp2@hotmail.com

#### **Resumen**

Con la finalidad de mejorar el diagnóstico de laboratorio de sífilis como enfermedad infecto contagiosa en donantes de sangre, se realizó el presente estudio cuyo objetivo es determinar las pruebas serológicas específicas: Inmunoanálisis Enzimático (ELISA), Inmuncromatografía (IC) e inespecíficas: Laboratorio de investigación de enfermedades venéreas (VDRL) y Reaginas séricas no calentadas (USR) más confiable para el descarte de sífilis en donantes de sangre del Hospital Dr. Adolfo Pons de Maracaibo, estado Zulia. Se analizaron 481 sueros de donantes de sangre aparentemente sanos, de ambos sexos en edades comprendidas entre 18 y 60 años. Del total de muestras analizadas por ELISA 10 resultaron positivas (2,07%) y 8 (1,66%) por IC. El VDRL captó 4 (0,82%) sueros con reactividad y USR sólo 2 sueros (0,41%). Se concluye que la prueba de ELISA conjuntamente con el VDRL son las herramientas más seguras y fidedignos para el descarte de sífilis en donantes de sangre, dado que proporcionan en paralelo resultados confiables, fidedigno que garantice la calidad de la misma al ser transfundida.

**Palabras claves:** Sífilis, donantes, inmunoanálisis enzimático, inmuncromatografía, laboratorio de investigación de enfermedades venéreas, reaginas séricas no calentadas.

## Abstract

In order to improve the laboratory diagnosis of syphilis as an infectious and contagious disease in blood donors, we performed this study to determine the reliability of the specific: Enzyme Immunoassay (Elisa) and Immune-chromatography (IC) tests, the unspecific: Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) test and the Unheated serum reagin (USR) Serologic tests to rule out syphilis from blood donors of the Dr Adolfo Pons Hospital in Maracaibo, Zulia state. We analyzed 481 sera from apparently healthy blood donors, male and female, 18 to 60 years of ages. From the samples analyzed by Elisa 10 were positive (2.07%) and 8 (1.66%) by IC. VDRL detected 4 (0.82%) reactive sera and USR just 2 (0.421%). We concluded that Elisa with VDRL are the safest and more reliable tests to rule out syphilis from blood donors, since they gave in parallel reliable results to assure the quality of blood to be transfused

**Key words:** Syphilis, donors, enzymatic immune-analysis, immune-chromatography, venereal, disease research laboratory, unheated serum reagin.

## Introducción

La sífilis es una enfermedad infectocontagiosa de evolución aguda o crónica causada por el *Treponema pallidum*, espiroqueta helicoidal que mide de 8 a 15  $\mu\text{m}$  de longitud. Si no es tratada, esta infección progresa a través de tres fases y se puede prolongar durante muchos años (1, 2).

La enfermedad es considerada de declaración obligatoria siendo su principal mecanismo de transmisión el contacto sexual, seguido por transfusiones sanguíneas, accidentes de laboratorio; puede atravesar la barrera placentaria con suma facilidad a partir del tercer o cuarto mes de gestación y producir enfermedad fetal por lo tanto es clasificada como adquirida y congénita (3-6).

El diagnóstico de esta infección se realiza en base al cuadro clínico del paciente, teniendo en cuenta además factores epidemiológicos y por diversos métodos de laboratorio directos e indirectos, cada uno de ellos con distintos grados de sensibilidad, especificidad y complejidad. Los métodos directos permiten el aislamiento del microorganismo en el laboratorio a través de cultivos. Los indirectos están divididos en dos grandes grupos: Las técnicas específicas dirigidas a la deter-

minación de anticuerpos treponémicos producidos por el individuo en respuesta al estímulo del microorganismo causal *T. pallidum*; de tipo IgA, IgM o IgG, entre los cuales están: Inmunoanálisis Enzimático (ELISA), Hemaglutinación Indirecta del *Treponema* (TPHA), Inmuncromatografía (IC), Absorción de Anticuerpos Treponémicos Fluorescentes (FTA-abs), y las pruebas inespecíficas dirigidas a la determinación de anticuerpos no treponémicos que son liberados por el tejido necrotizado de la lesión, entre los más utilizados se encuentran: Venereal Disease Research Laboratory (VDRL), Prueba Rápida de Reaginas Plasmáticas (RPR), Undeated Serum Reagin (USR) (1,3- 6).

La utilización de las pruebas no treponémicas o inespecíficas están determinadas en el sentido de emplear las "reaginas" además permite analizar un gran número de muestras y las pruebas treponémicas para confirmar los resultados positivos obtenidos con las pruebas inespecíficas. Este proceder, es el aceptable para rastrear poblaciones con baja prevalencia de la enfermedad como son los donantes de sangre. (3) En la práctica actual solo utilizan las pruebas inespecíficas para su diagnóstico.

Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), plantean que anualmente se presentan cerca de 250 millones de casos nuevos de infecciones de transmisión sexual (ITS) en el mundo y de ese total 3,5 millones son por sífilis. En América Latina y el Caribe se estimó un total de tres millones de casos nuevos, afectando a personas sexualmente activas y con una prevalencia elevada en grupos vulnerables. En Venezuela la ITS más frecuente es la sífilis con un repunte alarmante en los últimos 5 años seguidos por el Virus de Papiloma Humano (VPH) Y Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) (18).

Existen grupos de poblaciones como los donantes de sangre en los que un diagnóstico rápido, preciso y específico se hace necesario para asegurar la buena calidad de la sangre transfundida; razones por las cuales han surgido nuevas técnicas comerciales con el fin de aligerar y hacer menos laborioso el proceso de confirmación diagnóstica; al mismo tiempo permiten aportar un mejor control, monitoreo poblacional y prevención (7,8-10).

Por lo antes expuesto, y tomando en cuenta la gran importancia de obtener una sangre excluida de infectividad y contribuir con la disminución de daños causados al individuo receptor se plantea como objetivo comparar las pruebas serológicas específicas ELISA e IC para la detección de anticuerpos específicos y las pruebas de VDRL y USR para la detección de anticuerpos inespecíficos para el descarte de sífilis en donantes de sangre del IVSS Hospital Dr. "Adolfo Pons", de la ciudad de Maracaibo, Edo Zulia.

## Materiales y Métodos

### Población Estudiada

Se recolectaron 481 muestras de sangre de donantes, individuos aparentemente sanos sin distingo de sexo, y en edades com-

prendidas entre 18 a 60 años, referidos a la unidad del banco de sangre del Instituto Venezolano de Seguro Social "Dr. Adolfo Pons" de la ciudad de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

A cada donante se le llenó un formulario diseñado para la investigación.

### Recolección de Muestra

Las muestras de sangre obtenidas a través de venopunción con previa asepsia del pliegue del codo, fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 10 minutos para la obtención del suero, el cual se dividió en dos alícuotas: una alícuota fue procesada el mismo día por la prueba ELISA para la determinación de anticuerpos totales (IgM e IgG) contra *T. pallidum* y luego almacenada a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del procesamiento por IC, y la otra alícuota fue utilizada para la determinación de anticuerpos inespecíficos por las pruebas VDRL y USR.

La determinación de anticuerpos totales anti-*Treponema pallidum* se realizó por un inmunoensayo enzimático (ELISA) tipo Sándwich (BIOKIT, S.A. Barcelona, España) y la prueba de Inmunocromatografía (IC) por (HEXAGON Syphilis. HUMAN. GERMANY).

La detección de anticuerpos no treponémicos se realizó por el método Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) Difco. USA y Unheatd Serum Reagim (USR) Wiener Lab. Rosario, Argentina.

### Análisis Estadístico

Los resultados fueron analizados por la prueba Ji cuadrado ( $X^2$ ) y el análisis exacto de Fisher como post test. Se elaboraron tablas y gráficos con los datos obtenidos representando las principales variables en estudio, se consideró como criterio significativo de  $p < 0,05$ .

## Resultados

En la Tabla 1. Se muestran los porcentajes de seropositividad obtenidos al utilizar las pruebas específicas ELISA e IC para la determinación de anticuerpos treponémicos en el descarte de sífilis. De las 481 muestras analizadas, resultaron positivas 10 (2,07%) por ELISA y 8 (1,66%) por IC. No se observaron diferencias significativas en la positividad encontrada por ambas pruebas.

La Tabla 2. Representa el porcentaje de seropositividad de las pruebas inespecíficas VDRL y USR. Del total de muestras analizadas se obtuvo 4 muestras (0,82%) de las cuales 2 resultaron reactivas (R) y 2 débil reactiva (DR) para la prueba del VDRL y sólo 2 muestras reactivas (0,41%) para el USR. No se observaron diferencias significativas en la positividad obtenida por ambas pruebas.

En la Tabla 3. Se evidencia que del total de muestras procesadas por las pruebas ELISA e IC para la determinación de anticuerpos treponémicos, 6 (1,24%) mostraron concordancia positiva y 467 (97,08%) concordancia negativa para ambas pruebas; constituyendo

una concordancia global de 473 sueros lo que equivale a un 98,32%. En relación a la discordancia entre las pruebas estudiadas se puede observar que 4 sueros (0,83%) resultaron ELISA positivo e IC negativo y 2 (0,415%) sueros ELISA negativos e IC positivos, con una discordancia global de 6 sueros que representa el 1,25%.

Tabla 4. En relación a los resultados obtenidos en sueros procesados por las pruebas inespecíficas se obtuvo que por las pruebas VDRL y USR para la determinación de anticuerpos no treponémicos, 2 (0,415%) mostraron concordancia positiva y 477 (99,16%) de concordancia negativa para ambas pruebas; constituyendo una concordancia global de 479 sueros lo que equivale a un 99,575%. En relación a la discordancia entre las pruebas estudiadas se puede observar que 2 sueros (0,415%) resultaron VDRL positivo y USR negativo; no se obtuvieron sueros VDRL negativo y USR positivos; con un total global de 2 sueros representando el 0,415%.

En la Tabla 5. Se representa el total de muestras analizadas (481) por las pruebas específicas ELISA/IC y pruebas inespecíficas

**Tabla 1.** Seropositividad de anticuerpos treponémicos por las pruebas específicas elisa e IC para el descarte de sífilis en donantes de sangre. Maracaibo, estado Zulia.

Pruebas	Nº de Muestra	Positivo	%
ELISA	481	10	2,07%
IC	481	8	1,66%

F.I. I.V.S.S. Hospital Dr. Adolfo Pons.

**Tabla 2.** Seropositividad de anticuerpos no treponémicos por las pruebas inespecíficas VDRL y USR para el descarte de sífilis en donantes de sangre. Maracaibo, estado Zulia.

Pruebas	Nº De Muestra	Reactivo	Débil Reactivo	%
VDRL	481	2	2	0,82%
USR	481	2	0	0,41%

F.I. I.V.S.S. Hospital "Dr. Adolfo Pons".

**Tabla 3.** Relación de resultados obtenidos en sueros procesados por las pruebas específicas elisa e ic para la determinación de anticuerpos treponémicos en donantes de sangre.

Pruebas Específicas	Nº de Sueros	%	Concordancia y Discordancia	
Elisa Positivo	6	1,24	473 Sueros 98,32%	Concordancia entre las Pruebas
IC Positivo				
Elisa Negativo	467	97,08		
Ic Negativo				
Elisa Positivo	4	0,83	6 Sueros 1,25%	Discordancia entre las Pruebas
Ic Negativo				
Elisa Negativo	2	0,415		
IC Positivo				

**Tabla 4.** Relación de resultados obtenidos en sueros procesados por las pruebas inespecíficas VDRL y USR para la determinación de anticuerpos no treponémicos en donantes de sangre.

Inespecíficas	Nº de Sueros	%	Concordancia y Discordancia	
VDRL Positivo	2	0,415	479 Sueros 99,575%	Concordancia entre las Pruebas
USR Positivo				
VDRL Negativo	477	99,16		
USR Negativo			2 Sueros 0,415%	Discordancia entre las Pruebas
VDRL Positivo	2	0,415		
USR Negativo				
VDRL Negativo	0	0		

**Tabla 5.** Relación de resultados obtenidos en sueros procesados por las pruebas específicas Elisa e IC y pruebas inespecíficas VDRL y USR en donantes de sangre.

Pruebas	Nº de Sueros	%	Concordancia y Discordancia	
Elisa e IC Positivo	2	0.415	469 Sueros 97,495%	Concordancia entre las Pruebas
VDRL y USR Positivo				
Elisa e IC Negativo	467	97,08		
VDRL y USR Negativo				
Elisa e IC Positivo	10	2,07	12 Sueros 2,485%	Discordancia entre las Pruebas
VDRL y USR Negativo				
Elisa e IC Negativo	2	0,415		

VDRL/USR para el descarte de sífilis, donde 2 sueros (0,415%) mostraron concordancia positiva y 467 (97,08%) concordancia negativa para todas las pruebas; resultando una concordancia global de 469 sueros con un 97,495%. En relación a la discordancia se obtuvieron 10 (2,07%) sueros positivos para las pruebas específicas ELISA/IC y negativos para las pruebas inespecíficas VDRL/USR; y 2 (0,415%) sueros negativos para ELISA/IC y positivos para VDRL/USR, con una discordancia global de 12 sueros representando un 2,485%.

## Discusión

Los resultados obtenidos en el presente estudio demostraron que el uso de la prueba "ELISA" para la determinación de anticuerpos treponémicos en el descarte de sífilis conjuntamente con el VDRL confieren una alta confiabilidad a los individuos trasfundidos, basados en el hecho de que fue capaz de captar un mayor número de sueros positivos (10), 2,07% de los 481 donantes evaluados.

Similares resultados obtuvo Reisner y cols. (1997) al evaluar la prueba de ELISA conjuntamente con una prueba inespecífica como RPR, concluyendo que el uso en conjunto de ELISA/RPR aporta una sensibilidad del 100%, y una especificidad de 99,8%, un valor predictivo positivo de 98,3% y un valor predictivo negativo de 100%, demostrando ser el método seguro para la detección de sífilis (11).

Así mismo, Pope y cols. (2001) recomiendan el uso de pruebas específicas como ELISA y TPHA por aportar una sensibilidad de 97,7% y 97,4% para la determinación de sífilis sustituyendo el uso de pruebas inespecíficas como RPR test y de Spirotek reagin II. (12).

Por otra parte, D'Errico y cols. (1997) compararon técnicas específicas e inespecíficas en el diagnóstico de sífilis demostrando que con el uso de dos test en paralelo (una prueba específica TPHA y una prueba inespecífica VDRL o RPR), se reduce la posibilidad de infección al 0,003% (13), sugiriendo utilizarlas como metodología en los bancos de sangre donde se desea obtener un mínimo riesgo a los receptores de la sangre transfundida.

Al comparar los resultados obtenidos mediante las dos pruebas específicas no se apreciaron diferencia significativa entre ellas, sin embargo, la prueba de ELISA presenta mayor sensibilidad con respecto a la prueba de Inmunocromatografía. Esta discrepancia puede deberse a que la prueba de ELISA presenta una sensibilidad cercana al 100%, siendo mayor que la de IC. (12), encontrándose una correlación en lo obtenido por Ebel y cols. (1998) quienes obtuvieron un 99,5% de sensibilidad y 99,4% de especificidad con la técnica BioElisa Syphilis, en la confirmación diagnóstica de sífilis (14). Por otra parte Sato y cols. (2003) arrojaron en su investigación una sensibilidad para la prueba de IC de 93,6%, y una especificidad de 92,5%, un valor predictivo positivo 95,2% y un valor predictivo negativo 93,7% (15).

En cuanto al tiempo de ejecución, las pruebas de ELISA emplean como máximo 3 horas, que al compararse con la prueba de IC estas se realizan en 20min, es de notar que sin duda alguna la IC es más rápida, lo que favorece este ensayo, coincidiendo con Sato y cols. (2003) quienes llegaron a la misma conclusión, que la IC permiten ser aplicada como ensayo alternativo rápido, específico y no tan exigente para su realización ya que se puede ejecutar en espacios limitados o en situaciones de emergencia (15), en el caso específico de donantes lo que se desea obtener es una

sangre excluida de infectividad, por ello no solo es importante la rapidez para que una técnica sea la mejor, debe ser específica, sensible y reproducible, para que pueda ser confiable y contribuir así con la disminución de los posibles daños causados al individuo receptor.

Se obtuvo con la prueba no treponémica VDRL un mayor número de sueros positivos (4) 0,82% a diferencia de USR que solo captó 2 (0,41%) sueros positivos; dado que el VDRL capta débil reactivo existe mayor posibilidad de detección de reaginas presentes, aun cuando se encuentren en poca cantidad a diferencia del USR que sólo capta resultados reactivos o no reactivos. Infiriendo con el trabajo de Castellano (1997), donde comparan el VDRL y VDRL test (USR), en el cual comprobó que existe una asociación directa o positiva entre los resultados obtenidos con ambas pruebas, ya que ambas arrojaron resultados similares incluso en las diluciones de sueros donde se encontraron anticuerpos inespecíficos (16).

Sánchez I (1982) sugiere de acuerdo a sus resultados, que a todo donante VDRL no reactivo se le practique una prueba específica cuando se necesite sangre fresca como medida terapéutica, ya que con la utilización solo del VDRL como única prueba de descarte para sífilis, pueden escaparse algunos donantes positivos para sífilis, con pruebas reaginicas no reactivas (17).

Existe la creencia que la utilización de las pruebas diagnósticas esta predeterminada en el hecho de emplear las "reaginas" para analizar gran número de muestras y las pruebas treponémicas para confirmar los resultados positivos obtenidos con ellas. Este proceder se debe analizar, ya que ante un buen diagnóstico de la infección debemos tener presente que: realizar en suero solo pruebas no treponémicas puede conducirnos a obte-

ner falsos negativos en sífilis latentes y tardías o en los períodos terciarios de la enfermedad; ensayar los sueros únicamente con pruebas treponémicas puede llevarnos a falsos negativos en los períodos primarios de la infección; ambas pruebas por separado pueden producir falsos negativos por lo que su valor predictivo individual (VPI) de cada una de ellas se ve incrementado cuando se realizan conjuntamente (3).

El uso clínico de la sangre y sus derivados ha cambiado de forma significativa con la aparición de enfermedades serotransmisibles (entre ellas la sífilis), el uso de este recurso requiere de un profundo conocimiento y de una responsabilidad profesional, que hace necesario que todas las personas involucradas en el área de la salud tengan un claro conocimiento de todas las propiedades y de todos los riesgos potenciales de esta práctica transfuncional (8).

Por lo antes planteado se puede inferir que una serología realizada con una prueba no treponémica reactiva no confirma el diagnóstico de sífilis, pero tampoco lo excluye una prueba no reactiva, por lo tanto cuando se utiliza un método inespecífico debe acompañarse de otra prueba serológica específica que permita determinar anticuerpos específicos (IgA, IgM o IgG) contra el *Treponema pallidum*.

Nuestro estudio logró demostrar que el inmunoensayo enzimático (ELISA) es la herramienta más segura y confiable para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre conjuntamente con el VDRL, cabe destacar que la inmunocromatografía es más rápida y aplicable sólo en caso de no disponer de otra prueba específica. El VDRL prueba inespecífica que sirve para la detección de anticuerpos no treponémicos fue capaz de determinar el mayor número de casos reactivos dada su capacidad de captar resultados débil reacti-

vos. Las pruebas inespecíficas VDRL/USR por si solas no descartan la posibilidad de infección.

## Referencias Bibliográficas

- (1) Rodríguez, I.; Álvarez, E.; Fernández, C. Aplicación de la Hemaglutinación de *T. pallidum* en el diagnóstico de la sífilis venérea. *Hig Epidemiol* 2002; 40(2): 108-11.
- (2) Villata Corell, J.J.; Sífilis. En: Farreras p, Rozman c. *Medicina Interna*. 13<sup>o</sup>ed. Madrid: Mozby, Doyma Libros, 1995; Vol. 2:3276-82.
- (3) Fuentes, A. Diagnóstico serológico de la sífilis. Servicio de Microbiología. Hospital Doce de Octubre. Madrid. Disponible en: <http://www.seimc.org/control/revi-Sero/sifilis2.htm>
- (4) Sáez, N., Delgado, C.; Romero, F.; Báez, R. El diagnóstico de laboratorio de sífilis. Revisión bibliográfica. *Rev cubana Med Gen Integr* 1997;13 (1): 43-48. Disponible en: [http://www.infomed.sld.cu/revis-tas/mgi/vol13\\_1\\_97/mgio7197.htm](http://www.infomed.sld.cu/revis-tas/mgi/vol13_1_97/mgio7197.htm)
- (5) (Gutman, LT.: *Treponema pallidum* Microbiología de Zinsser. 17<sup>o</sup>ed. La Habana: Editorial ciencia y técnica .1983. <http://www.geocities.com/ralv7/sifilis/sifilis.htm>.
- (6) Salinas, V.; Olmedo, CH. Seroprevalencia de enfermedades infecciosas en donaciones sanguíneas del Paraguay en los años 1998 y 1999. Tesis de Grado. Paraguay. Junio 2000.
- (7) Cortes, A.; Beltrán, M.; Olaya, B.; Hernández, M. Riesgo de enfermedades infecciosas transmitidas por transfusión en el Valle del Cauca, Colombia. *Colombia Med* 1999; 30:13-18.
- (8) Dalis Pérez, F.; Salinas, Mattar V. Prevalencia de la prueba VDRL reactiva en donantes del banco de sangre del hospital San Jerónimo de Montería: 1996-2001. *Infection* 2003; 7(1):15-20.
- (9) Alvarez Fernández, C. Evaluación de un ensayo Inmunoenzimático recombinante como prueba confirmatoria en el diagnóstico de la sífilis. 2003 Cuba
- (10) Reisner, BS.; Mann, LM.; Tholcken, CA.; Waite RT.; Woods, GL. Use of the *Treponema pallidum*- specific captia syphilis IgG assay in conjunction with the rapid plasma reagin to test for syphilis. *J Clin Microbiol*. May; 1997; 35(5):1141-3.
- (11) Pope, V.; Fears, MB.; Morrill, WE.; Castro, A.; Kikkert, SE. Comparison of the Serodia *Treponema pallidum* particle agglutination, Captia Syphilis-G., and SpiroTek Reagin II tests with standard test techniques for diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol* Oct; 2001; 39(10):3817.
- (12) D´errico, MM.; Maniottini, M.; Di Rosa, S.; Prospero, E.; Rufo, M.; Carle, F. Syphilis and blood donors: comparison of two different diagnostic strategies. *Eur. J. Epidemiol* 1996; 12:77-80.
- (13) Ebel, A.; Bachelart, L.; Alonso, JM. Evaluation of a new competitive immunoassay (Bio Elisa) for screening for *Treponema pallidum* antibodies at various stages of syphilis. *J Clin Microbiol*. Feb; 1998; 36(2):358-61.
- (14) Sato, NS.; De Melo, CS.; Zerbini, LC.; Silveira, EP.; Fagundes, LJ.; Udea, M. Assessment of the rapid test based on an immunochromatography technique for detecting anti-*Treponema pallidum* antibodies. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003 Nov-Dec; 45(6):319-22. Epub 2004 Jan 26
- (15) Castellano, A. Diferenciación de dos Antígenos para detectar anticuerpos Inespecíficos en Sífilis. Tesis de grado. Maracaibo, Venezuela. 1997.
- (16) Sánchez, Iris. Prueba de Hemaglutinación para sífilis (TPHA) en 1000 donantes de sangre. Tesis de grado. Maracaibo, Venezuela. 1982.
- (17) [www.msds.gov.ve](http://www.msds.gov.ve). Estadísticas de ETS. División de Enfermedades de transmisión Sexual Ministerio de Salud y Desarrollo social. Información de SIDA. Oficina de lucha contra el SIDA. 2006.