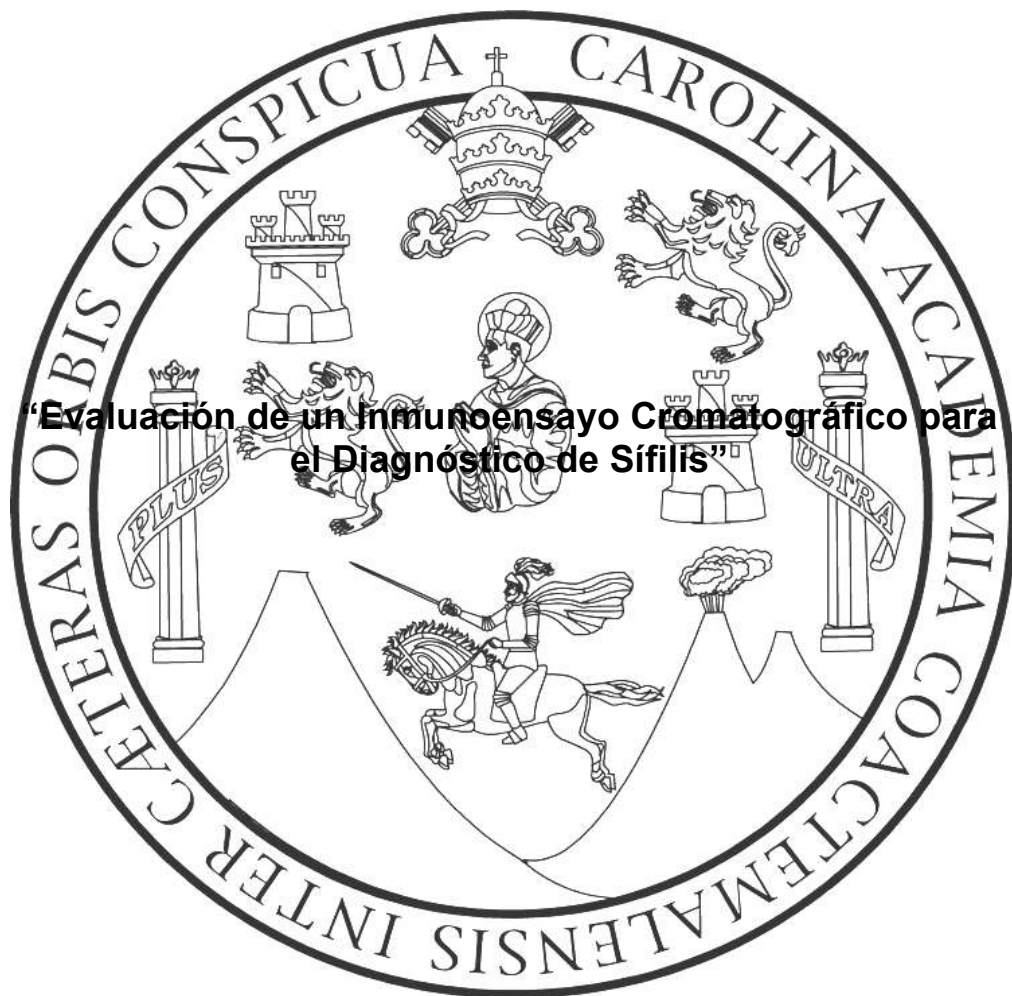


**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**



**OSCAR AREVALO RAMIREZ**

**QUIMICO BIOLOGO**

**Guatemala, Mayo de 2013**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**“Evaluación de un Inmuensoyo Cromatográfico para el Diagnóstico de Sífilis”**



**Informe de Tesis**

**Presentado por**

**Oscar Arévalo Ramírez**

**Para optar al título de**

**Químico Biólogo**

**Guatemala, Mayo de 2013**

## **JUNTA DIRECTIVA**

Oscar Cóbar Pinto, Ph. D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal I
Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. Fausto René Béber García	Vocal IV
Br. Carlos Francisco Porras López	Vocal V

## **DEDICATORIA**

A todas las comunidades de la república de Guatemala necesitadas de mejores servicios de salud.

A mis estimados y queridos progenitores, Doña Mercedes y Don Marco Antonio por cumplir con su responsabilidad de padres y educarme en los más sabios principios.

A mi hijo el Ing. Paolo. por su cariño, ejemplo y aliento en los momentos importantes.

A todas aquellas personas muy allegadas a mí, en su cariño y amistad, quienes en su momento, me brindaron su apoyo, amor y paciencia en el camino. Ellas saben muy bien quienes son.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco la motivación, el apoyo logístico y asesoría por parte del Lic. Gerardo Arroyo.

Al Lic. Edgar Antón y al Dr. Ernesto Velásquez, amigos que en su momento me brindaron su apoyo y me dieron la motivación para no desmayar en el objetivo de obtener mi licenciatura profesional.

A mí estimada amiga la señora Hilda de Vizcaíno, quien gestionó la donación del costoso kit de reactivos utilizada en la prueba de referencia, en la compañía de suministros de laboratorio, Merck C.A.

A mis ex - compañeros de aulas, Ricardo Gálvez (+) “El Conejo”, Mario del Valle “Mariote” y Marco T. Urizar “Chacho”. Quienes me brindaron el uso de las instalaciones de su laboratorio, el Laboratorio Químico Biológico, para la realización de parte del trabajo práctico efectuado.

Al Lic. Federico Nave, a la Licda. Marina García y la Licda. Margarita Paz de Ramírez, quienes además de revisores de la investigación, también me brindaron asesoría en la ejecución del presente estudio.

Eterno agradecimiento a nuestra Alma Mater la Universidad Carolingia de Guatemala.

## INDICE

	PAGINAS
<b>I. RESUMEN</b>	1
<b>II. INTRODUCCION</b>	3
<b>III- ANTECEDENTES</b>	5
<b>A. Historia</b>	5
1. Perspectiva histórica de la enfermedad	5
2. Aspectos históricos del diagnóstico	7
3- Historia natural de la sífilis	11
<b>B. Agente Etiológico</b>	16
1. Clasificación taxonómica	16
2. Aspectos morfológicos de los treponemas	17
3. Patogenia	18
<b>C Epidemiología</b>	18
1. Generalidades	18
2. Medidas para el control de la sífilis	18
3. Factores que influyen en la difusión de la enfermedad	19
4. Otros aspectos de importancia epidemiológica	19
5. Medidas para el control de los brotes sugeridas por el CDC	19
6. Estrategias adoptadas para erradicarla en países desarrolladas	20
7. Papel del laboratorio clínico en el control epidemiológico	20
8. Aspectos relevantes sobre el control epidemiológico y estadísticas recientes en Estados Unidos	20
9. Situación de la enfermedad en Guatemala	26

<b>D. Pruebas de Laboratorio en Sangre</b>	28
1. Microscopía directa	28
2. Métodos serológicos	29
a - Pruebas no treponémicas	29
b – Pruebas treponémicas	32
<b>E. Análisis y procedimientos para LCR</b>	37
<b>F. Tratamiento de la sífilis</b>	38
<b>IV. JUSTIFICACION</b>	39
<b>V. OBJETIVOS</b>	41
<b>A. Objetivo General</b>	41
<b>B. Objetivos Específicos</b>	41
<b>VI. HIPOTESIS</b>	42
<b>VII. MATERIALES Y METODOS</b>	44
<b>A. Universo y Muestra</b>	44
<b>B. Recursos</b>	44
1. Recurso humano	44
2. Recursos institucionales y privados	44
<b>C. Materiales</b>	45
1. Equipo	45
2. Cristalería	45
3. Reactivos	46
4- Otros materiales	47
<b>D. Métodos</b>	47
1. Obtención de la muestra de trabajo	47
2. Ejecución de los procedimientos de laboratorio	48
3. Técnicas de laboratorio	48

4.	Evaluación de la prueba investigada: Determine Sífilis TP	50
5.	Diseño estadístico de investigación	50
<b>VIII.</b>	<b>RESULTADOS</b>	54
<b>IX.</b>	<b>DISCUSION DE RESULTADOS</b>	57
<b>X.</b>	<b>CONCLUSIONES</b>	60
<b>XI.</b>	<b>RECOMENDACIONES</b>	61
<b>XII.</b>	<b>REFERENCIAS</b>	62
<b>XIII.</b>	<b>ANEXOS</b>	71



## I. RESUMEN.

Esta investigación es un aporte al conocimiento sobre el diagnóstico de laboratorio de las infecciones de transmisión sexual (ITS). El estudio de las mismas es de gran importancia por las condiciones actuales que se viven de explosión demográfica, pobreza, promiscuidad y comercio sexual, sobre todo en las áreas urbanas. Este tipo de estudios son más relevantes si se efectúan en grupos sociales marginados, considerados como de alto riesgo.

El Determine® Sífilis TP, es una prueba para el diagnóstico de sífilis en sangre, que está siendo utilizada actualmente en laboratorios clínicos de nuestro medio y otras partes del mundo, por lo que se consideró conveniente evaluarla.

En primer lugar, fue seleccionada una muestra poblacional compuesta por 100 individuos del grupo social conocido como “Niños de la Calle”, en la ciudad de Guatemala, quienes se encuentran clasificados epidemiológicamente como de alto riesgo, en lo que se refiere a infecciones de transmisión sexual y que acuden regularmente a la clínica Tzité de Médicos sin Frontera Francia.

Posteriormente se efectuó el diagnóstico de sífilis en las muestras de sangre, por medio de tres pruebas: VDRL, Determine® Sífilis TP e Immutrep® TP-HA.

En la segunda parte de la investigación se evaluó la precisión del Determine mediante análisis estadístico, determinándose su sensibilidad, especificidad, valores predictivos y concordancia mediante el formato o tabla de 2 X 2, utilizando como prueba de referencia la prueba de microaglutinación de *Treponema pallidum*: Immutrep® TP-HA.

Los resultados obtenidos indican que la prueba Determine® tiene una sensibilidad de 96.30 %, la especificidad es igual a 95.89 %, el valor predictivo positivo está en 89.66 % y el valor predictivo negativo es de 98.59 %. Todo con un índice de confianza igual a 95 %.

La concordancia entre la prueba investigada y la prueba de referencia, establecida por medio del índice de Kappa, fue de 0.9008 con un rango de confianza de 0.8058 a 0.9959.

El modelo estadístico de análisis utilizado, también permitió conocer que la prevalencia de seropositividad de anticuerpos a *T. pallidum* para la población estudiada fue de 27 % con base en los resultados de la prueba de referencia. Esta prevalencia se considera alta, aún para una población de alto riesgo. De los veintisiete casos, sólo doce pueden ser considerados con infección treponémica activa, ya que son los únicos que poseen un título de anticuerpos reagínicos superior a 1:8.

La evaluación practicada al inmunoensayo Determine ® Sífilis indica que es un método que identifica la presencia de infección por *T. pallidum* en la población estudiada, de manera sensible y específica.

## II. INTRODUCCIÓN.

De las infecciones de transmisión sexual (ITS), la sífilis es conocida como la “gran simuladora” porque en sus manifestaciones clínicas, en especial en la fase secundaria, puede parecerse a muchas otras enfermedades, cualidad que comparte con la tuberculosis. Tal característica demanda la necesidad de contar con recursos técnicos exactos para su diagnóstico.

Otros hechos relacionados con esta enfermedad, que ameritan atención y un diagnóstico eficaz son las severas complicaciones que se presentan, si la enfermedad sigue más allá de la fase temprana, tales como la carga de sufrimiento, la discriminación y las consecuencias sociales que acarrea para el individuo que la padece.

Este panorama de la enfermedad sifilítica plantea la necesidad de adoptar medidas para su tratamiento y control, de las cuales es fundamental la realización de un diagnóstico eficaz. Los aportes que se realicen en ese campo son por lo tanto importantes.

En la mayoría de los laboratorios clínicos locales se efectúan pruebas no treponémicas como el VDRL o el RPR, útiles para realizar un tamizaje de los casos. Estas son pruebas sensibles, pero poco específicas. La norma establecida en salud pública es que aquellos casos que resulten positivos a las pruebas reagínicas se les efectúe una prueba de confirmación treponémica. La alternativa es enviar la muestra a un laboratorio de referencia para corroborar el resultado. El método de confirmación debe ser una prueba estandarizada, de gran sensibilidad y especificidad. También son requisitos deseables que tenga gran reproducibilidad, sea sencilla de ejecutar y de bajo costo. En nuestro medio se dispone de tres métodos: la microaglutinación con antígeno de *T. pallidum* (MHA-TP), los anticuerpos fluorescentes (FTA-ABS) y el inmunoensayo enzimático (ELISA), los cuales requieren de equipo y montajes especiales, personal altamente entrenado y son de costo elevado.

Es deseable y necesario, en especial si se trabaja con poblaciones de alto riesgo, contar con una prueba treponémica, sencilla de ejecutar y de bajo precio, pero que sea sensible y específica, que tenga características demostrables con resultados y que concuerde con los métodos tradicionales de referencia.

Adicionalmente, muchas instituciones dedicadas al diagnóstico, utilizan la prueba Determine, sin tener a disposición datos sobre su sensibilidad, especificidad y concordancia con los métodos estándar. Por tales razones fue realizado el presente trabajo.

### III. ANTECEDENTES.

#### A. Historia.

##### 1. Perspectiva Histórica de la Enfermedad.

A través del tiempo la sociedad ha adoptado diferentes actitudes hacia las infecciones de transmisión sexual (ITS), en especial hacia la sífilis, la cual sin lugar a dudas, es la más dramática de las conocidas en la antigüedad.

La sífilis ha sido un verdadero flagelo para la humanidad y existen registros históricos de los estragos que ha causado desde el año 2,600 AC, durante el reinado del emperador chino Ho Ang Ty. Hay constancia histórica sobre las ITS en el código Hammurabi de Babilonia que datan del año 2200 AC. También hay descripciones de enfermedades venéreas, que coinciden con la sífilis en el Papiro Brugsch de la cultura egipcia, que datan del año 1350 AC. La enfermedad manifestó alta prevalencia durante la edad media y el renacimiento y no fue sino hasta la década de los 40's que empezó a controlarse eficazmente con el descubrimiento de la penicilina (1, 2).

Aún dentro de los profesionales de la salud existían actitudes de rechazo, marginación y estigma social, pasando por consideraciones moralistas y religiosas, hasta persecuciones por parte de autoridades legislativas y políticas. Un ejemplo, la declaración de un miembro del Royal College of Surgeons de Londres en 1900, quien consideró a la sífilis como una condición proveniente del cielo y que actuaba como una restricción a la indulgencia por la pasión carnal. Otros opinaron que la profilaxis mecánica y química predisponía a una "actividad sexual ilícita". Que solo cierta "élite" poseía el autocontrol necesario para poder utilizar estos beneficios (3, 4).

Por su parte los pacientes han sido y se han sentido marginados. Está el caso de aquellos enfermos que fueron encerrados en hospitales para "endemoniados" a principios del Siglo XX en Saint Louis Missouri.

Ejemplos de esto también se dieron en la Escocia del 1500 donde se marcó a las prostitutas con hierro candente en la mejilla.

Los primeros controles legales sobre las ITS, se dieron en Inglaterra entre los años 1100 y 1600, pero sin obtener resultados apreciables (5, 6, 7).

La palabra sífilis proviene del nombre ‘*Syphilo*’, pastor y protagonista del poema del médico polifacético italiano, Gerónimo Fracastoro (1478-1553), quien en el poema relata como Syphilo fue castigado por haber erigido altares prohibidos en la montaña. Dicho castigo por llevar una “vida inmoral y llena de vicios” consistió en padecer una nueva, terrible y desconocida enfermedad, llamada sífilis a partir de ese momento y descrita de manera magistral y didáctica por Fracastoro. Por sus ensayos sobre temas médicos se le considera el padre de la epidemiología. De hecho fue la primera vez que se esbozaba la primera teoría racional de la naturaleza de las infecciones

Entre los personajes famosos de la Historia de la civilización occidental se pueden mencionar algunos emperadores romanos como Tiberio y Calígula. En la edad media y el Renacimiento, a los Papas Julio II, contemporáneo de Miguel Ángel, y al Papa Alejandro VI (Rodrigo Borja). Al navegante Cristóbal Colón y a los conquistadores Hernán Cortez y Diego de Almagro. A reyes y emperadores como el rey Carlos VIII, El Afable y a Napoleón en Francia. A Pedro I, al Zar Iván El Terrible y a Catalina La Grande en Rusia. De la familia Hamburgo se pueden citar a Felipe II y Felipe IV de España y otros de la rama austriaca. Un ejemplo de cómo esta enfermedad alteró la historia de un pueblo, es el caso del rey Enrique VIII de Inglaterra, quién la padeció y transmitió a sus descendientes, Eduardo V (1537-1553) y su sucesora María Tudor (1556–1598).

Era tan usual presentar sífilis en el siglo XVI que el humanista Erasmo de Rotterdam (1469-1536), decía cínicamente: “Un hombre noble sin sífilis o no era demasiado noble o no era demasiado hombre”.

Entre los artistas de la música se puede mencionara a Franz List, Wolfgang Amadeus Mozart y Robert Schumann, los dos últimos fallecidos por envenenamiento por tratamiento con mercurio. También Ludwig van Beethoven y Paganini, la padecieron.

Se puede mencionar a grandes escritores como Moliere, William Shakespeare, Charles Baudelaire, Goethe, Frederick Nietzsche, Edgar Allan Poe y Oscar Wilde. El científico y naturista Charles Darwin.

También pintores famosos como Alberto Durero, Vicente Van Gogh, Edouard Manet y el español Goya.

Algunos políticos y personajes famosos como Lord Randolph Churchill, padre de Winston. El camarada Lenin, Hitler, Mussolini, Abraham Lincoln, Tomas Woodrow Wilson, Howard Hughes y Alfonso Capone.

Es interesante señalar que para 1910, la prevalencia de sífilis en Europa y sus 32 centros urbanos con más de medio millón de habitantes cada uno, era del 10 %, lo que representaba 1.5 millones de casos (8 - 10).

## 2. Aspectos Históricos del Diagnóstico.

A mediados 1800, el investigador francés Philip Record separó los conceptos de sífilis y gonorrea, como entidades patológicas y documentó los tres estadios (11).

El diagnóstico de sífilis ha sido dificultoso por años, porque el *T. pallidum* no es fácilmente cultivable y no es posible identificarlo por simples coloraciones de laboratorio.

Al agente causal de la sífilis se le designaba como *Spirocheta pallida*, hasta que en 1905 los investigadores Fritz Schaudinn y Erich Hoffman, lo describieron y designaron como *Treponema pallidum*, ellos utilizaron una modificación de la coloración de Giemsa, de material de lesiones de individuos que presentaban chancros. Fue Cole en 1909 quien describió el uso de la iluminación en campo oscuro para el examen de las espiroquetas, esto permitió describir su movilidad característica. En la actualidad el examen de campo oscuro es un método todavía utilizado (12, 13).

En relación al examen microscópico directo, una de las métodos más recientes es el de anticuerpos fluorescentes, modificado por el uso de anticuerpos monoclonales y micro técnicas de cortes histológicos, lo que ha permitido desarrollar la prueba directa de anticuerpos en tejidos conocida como DFAT-TP (14).

Wasserman en 1906 fue el primero en aplicar métodos serológicos al diagnóstico de la enfermedad y cuarenta años después, las investigaciones del Venereal Disease Research Laboratory produjeron el antígeno no treponémico más utilizado en la actualidad, el cual está constituido por cardiolipina purificada, lecitina pura y colesterol, en solución etanólica en las proporciones adecuadas. Mezclado todo en solución salina tamponada al 1 %, recibió el nombre de reagina en 1946. Este método conocido como VDRL es una

prueba de floculación por el principio del procedimiento. El antígeno tipo cardiolipina reacciona con anticuerpos no treponémico e inespecíficos derivados de las células dañadas del huésped por los treponemas (15, 16).

Otras pruebas no treponémicas derivadas del VDRL han venido surgiendo, como elUSR (Unheated Serum Reagin) en la cual ya no se inactiva el complemento por calentamiento. También está el RPR (Rapid Reagin Plasma) con la variante que utiliza plasma como muestra y partículas de carbón para absorber el antígeno. Luego se puede mencionar el “TRUST” (Toluine Red Unheated Test) con la modificación de usar el colorante rojo toluidina para visualizar la aglutinación de las partículas (17). Por último y dentro de este tipo de pruebas basadas en antígeno reagínico, está un método indirecto combinado con un ensayo enzimático inmunoabsorbente, tipo ELISA, muy útil para trabajar volúmenes grandes de muestras, porque posibilita la automatización (18).

Situados en la historia de las pruebas serológicas treponémicas, el primer paso que se dio fue cuando se utilizó por primera vez un antígeno derivado de treponemas en una prueba diagnóstica, la “Treponemal Pallidum Immobilization” (TPI) en 1949. Esto fue un gran adelanto en cuanto a la especificidad. Por dificultades técnicas y ejecución costosa, la TPI ha sido relegada solo a la investigación. Pero de todas maneras constituye a la fecha un patrón de referencia. Siempre dentro de las pruebas treponémicas, posteriormente se aplicó el principio de fijación del complemento y el uso de un antígeno treponémico, la proteína de Reiter, método diseñado por Kolmer, relegado después por problemas de especificidad (19).

Con el advenimiento de la tecnología de anticuerpos fluorescentes en 1957 surgió el procedimiento de anticuerpos absorbidos fluorescentes antitreponema, mejor conocido como FTA-ABS (Fluorescent Treponemal Absorption-Antibodies), por sus siglas en inglés. Considerado actualmente como patrón de referencia por excelencia, por su sensibilidad y especificidad. Este método ha experimentado diversos cambios tal como diferentes diluciones de la muestra, absorción de anticuerpos inespecíficos, hasta llegar a la técnica de doble coloración fluorescente y uso de luz incidente que se identifica como FTA-ABS.2D Test (20, 21).



A causa de las múltiples dificultades técnicas y alto costo, han surgido otros métodos más sencillos de ejecutar con propiedades de sensibilidad y especificidad, que concuerdan con el FTA-Abs. Uno de ellos es el inmunoensayo enzimático de absorción conocido por sus siglas en inglés como ELISA ( Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) , y que se viene utilizando desde 1975 (22). A partir de 1990 se ha determinado que el inmunoensayo enzimático basado en antígenos recombinantes, derivados de las proteínas de la membrana del *T. pallidum* como TpN15, TpN17 y TpN47, está entre los métodos más sensibles y específicos de la actualidad y permite detectar tanto IgG como IgM anti-treponémicas (23).

Un método que se ha convertido en la mejor alternativa del FTA-ABS como prueba de referencia es el de hemaglutinación del *T. pallidum*. La primera aplicación se efectuó en 1965. Al principio la técnica se efectuaba en tubo. Posteriormente se realizó en microvolúmenes para convertirse en el ensayo de microaglutinación para detectar anticuerpos a *T. pallidum*, conocido como TP-HA, que luego se convirtió en un juego comercial de reactivos. Este método utilizó primero eritrocitos de carnero como transportador de antígeno (24). Posteriormente apareció el método conocido como Hemagglutination Treponemal Test for Syphilis o HATTS, con la modalidad de eritrocitos de pavo sensibilizados y el uso de microplacas para efectuar la reacción (25).

El método de microaglutinación adquirió categoría de prueba de referencia a partir de 1977, cuando fue incluido en la guía del CDC sobre la serología para la sífilis (26). Ha venido sufriendo modificaciones como el uso de eritrocitos humanos del grupo O, partículas de gel o de polímeros como vehículos de antígeno. Esto ha disminuido considerablemente las reacciones inespecíficas de aglutinación por presencia de anticuerpos heterófilos. En consecuencia TP-HA está siendo reemplazado por *Treponema pallidum* Particle Agglutination o TP-PA (27). Una alternativa de aglutinación pasiva de partículas para la detección de anticuerpos al *Treponema pallidum*, es conocida comercialmente como Serodia.TP-PA. Esta prueba se basa en la utilización de acarreadores de partículas de gelatina sensibilizadas con antígeno de *Treponema pallidum* purificado (cepa

Nichols). Estas partículas sensibilizadas son aglutinadas en presencia de anticuerpos de *Treponema pallidum* en el suero del paciente infectado (28).

En el presente milenio han tomado auge varias pruebas rápidas tipo inmunoensayo cromatográfico, entre ellas el Determine Syphilis TP de Abbott Laboratorios. Este tipo de pruebas han demostrado rapidez y facilidad en la ejecución, así como sensibilidad y especificidad en su desempeño (29).

En tiempos recientes se han desarrollado nuevas metodologías con propósitos de investigación, tales como la determinación de anticuerpos tipo IgM, FTA-ABS IgM, FTA-ABS 19S IgM y Captia syphilis M test. Dosificar los anticuerpos IgM es útil en el diagnóstico de sífilis congénita, porque esta inmunoglobulina no atraviesa la placenta y por lo tanto no puede derivarse de la madre (30, 31).

Más sofisticados aun son los métodos por “blotting” y aquellos basados en biología molecular, como el procedimiento de la “Polimerase Chain Reaction” o PCR.

El Inmunobloting es un procedimiento que permite la detección de anticuerpos a proteínas individuales, aplicado en el método Treponemal Western Blot, permite el diagnóstico de sífilis. Se viene utilizando desde la década de los 90. En una descripción resumida del mismo, se tiene que una vez solubilizadas las proteínas del treponema son separadas por electroforesis según su tamaño molecular. Ya separadas se transfieren a membrana de nitrocelulosa la cual se deshidrata y corta en tiras, estas son incubadas con el suero del paciente. Las reacciones antígeno-anticuerpo se visualizan agregando un conjugado de enzima y globulina antihumana seguido de sustrato, esto produce una reacción de color. En la interpretación es generalmente aceptado que la detección de anticuerpos a inmunodeterminantes con masas moleculares de 15, 17, 44.5 y 47 kDa, son diagnósticos para sífilis adquirida. Estudios efectuados sugieren que este ensayo de inmunoblot es más sensible y específico que el FTA-ABS (32, 33).

Por su parte en las pruebas tipo PCR se trabaja con el ADN del *T. pallidum*, el cual se amplifica o replica por reacción en cadena a la polimerasa. Este proceso de replicación produce un ADN más específico lo que prácticamente elimina la posibilidad de detectar falsos positivos. Las pruebas tipo PCR para diagnóstico de sífilis tiene una especificidad del 100% y una sensibilidad de 79%. Son muy útiles en casos difíciles de diagnosticar,

como sífilis congénita, sífilis tardía y casos de infección persistente en individuos que han recibido tratamiento ineficaz (34 – 36).

### 3. Historia Natural de la Sífilis.

#### a) Prólogo:

La sífilis ha constituido siempre uno de los grandes enigmas de la medicina. Es sumamente variable en todos sus aspectos y la característica de su prolongado curso natural, hace que surjan muchas interrogantes acerca de la naturaleza de la interacción huésped-parásito.

En grupos de bajo status socio-económico de la era pre-penicilina, la prevalencia del mal alcanzó cifras del 25 %. Con frecuencia se presentaban casos de sífilis secundaria y terciaria (37).

Desde 1945, con el descubrimiento y desarrollo de los antibióticos, a décadas más recientes, han disminuido considerablemente el número de casos de sífilis reportados, que en su mayoría son de sífilis primaria y secundaria. Con marcada reducción de sífilis tardía. La incidencia de sífilis temprana a disminuido a proporciones manejables, que han oscilado entre un 5 a 10 %, para grupos de riesgo (38).

Información más detallada y reciente sobre aspectos estadísticos de la enfermedad se puede encontrar en la sección sobre epidemiología.

#### b) Orígenes de la sífilis:

En la búsqueda de la explicación sobre como la sífilis se originó y convirtió en una pandemia, se planteó inicialmente que había surgido en América y que con el descubrimiento y conquista había sido llevada a Europa y Asia. Sin embargo estas afirmaciones no tenían ningún fundamento histórico y fueron descartadas. Surgió entonces la teoría conocida como ambiental, la cual planteó que todas las treponematoses son variantes de una sola enfermedad, cuyas manifestaciones se ven modificadas por factores ambientales, tales como la temperatura y la humedad. En su apoyo se pueden hacer resaltar fenómenos como el parecido existente entre el *T. pallidum* y el *T. pertenue*, los cuales tienen estrechas similitudes antigénicas, que se han evidenciado por estudios de hibridación de ADN, genética molecular y microscopía electrónica. Esclarecer esta

relatividad entre treponemas muy parecidos, es de gran importancia epidemiológica, en los programas de erradicación de la sífilis y otras treponemosis. Posiblemente todavía pase mucho tiempo para que se conozca cómo y cuando se inició una de las grandes plagas que han afectado a la humanidad (39).

c) Evolución de la Enfermedad:

Un esquema general debe considerar el curso de la enfermedad no tratada: los aspectos de la transmisión, estadios o fases de la enfermedad y estudios experimentales efectuados.

i- Aspectos de la transmisión:

La vía principal y más frecuente de transmisión es el contacto directo con las lesiones, usualmente en la relación sexual. El contagio también puede ocurrir vía trasplacentaria o en una transfusión de sangre contaminada, pero de esto último se presentan relativamente muy pocos casos.

Para que el contagio ocurra se requiere exposición directa a la mucosa húmeda o a las lesiones cutáneas, por lo tanto solo se transmite durante los primeros años de la infección o sea en las etapas primaria y secundaria. Es una enfermedad sistémica de corto período de incubación.

La dosis mínima de bacterias para iniciar una infección, en inoculación experimental es una cantidad relativamente pequeña. En tanto que el riesgo de infección se estima en un 30% (40).

ii- Estadios de la enfermedad:

El estadio primario, en el cual el típico síntoma inicial es el chancro, una lesión en forma de úlcera, que aparece en el sitio inicial de inoculación, se presenta de 10 a 90 días, con un promedio de 21 días. Esta lesión usualmente es aislada, pero puede ser múltiple, indolora y asociada con adenopatía local. Sana espontáneamente en unas cuantas semanas, dejando una cicatriz y la enfermedad pasa a los siguientes estadios. Este síntoma puede no presentarse o pasar inadvertido, especialmente en las mujeres.

El estadio secundario, que se observa a las pocas semanas o meses, es manifestación de la diseminación del treponema por el torrente sanguíneo y linfático. Esta es la característica del segundo estadio. En él una enfermedad variable se desarrollará que

se caracteriza por malestar, fiebre baja, dolor de garganta, cefalea, adenopatía generalizada y se presenta un síntoma muy frecuente, un exantema de las mucosas y la piel de cualquier parte del cuerpo, denominado roséola sifilítica y que típicamente se observa mas en palmas de las manos y plantas de los pies. Si hay lesiones abiertas, son muy contagiosas.

Hay especial interés por el papel que desempeña una posible depresión de la respuesta inmunocelular, dentro del cuadro clínico que se presentan, tanto en la sífilis primaria como secundaria.

La evolución de los casos no tratados conduce al estadio terciario o sífilis tardía, con morbilidad y mortalidad características, es consecuencia de una amplia gama de síntomas graves en piel, huesos, sistema nervioso central y vísceras particularmente corazón y grandes vasos. En tejido mucocutáneo y huesos se presentan alteraciones graves denominadas gomas, que son lesiones granulomatosas destructivas. Estas manifestaciones indican el principio de la sífilis tardía. Los síntomas pueden presentarse entre dos y cuarenta años. De particular interés, por las graves secuelas que acarrea al paciente, es la neurosífilis en la que se puede presentar parálisis, meningoencefalitis, ceguera, tabés dorsal, etc. El examen completo de LCR se hace indispensable

Las conclusiones obtenidas de estudios de evolución natural de la sífilis son que un 33% de los casos infectados curan espontáneamente con pruebas no treponémicas no reactivas, no así las treponémicas que se mantienen positivas. Otra tercera parte no desarrolla síntomas progresivos de la enfermedad y sus pruebas no treponémicas permanecen reactivas con títulos altos. Mientras que el otro 33% si desarrolla el ciclo completo de la enfermedad hasta la etapa de sífilis tardía. De este último tercio un 17% presenta sífilis tardía benigna, un 8% manifiesta neurosífilis y el 8% desarrolla sífilis cardiovascular (41 - 43).

### iii. Sífilis latente.

Existe una condición conocida como sífilis latente, que se presenta aproximadamente en la tercera parte de las personas que adquieren la infección y no

reciben tratamiento, en la cual el *T. pallidum* persiste en el cuerpo del paciente sin causar síntomas o signos. Se subdivide en temprana, tardía y de categoría desconocida, basándose en la duración de la infección. Aún cuando no hay signos clínicos de la enfermedad, se observa alguna de las siguientes condiciones:

- \* Ningún diagnóstico pasado de sífilis, una prueba no treponémica no reactiva (v.g. VDRL o RPR) y una prueba treponémica positiva (v.g. ELISA o TPHA)
- \* Antecedentes de sífilis con alguna prueba no treponémica reactiva, con incremento de orden cuádruple.

Clasificación de la sífilis latente:

- Sífilis latente temprana: cuando el contagio ha ocurrido dentro del período de un año previo.
- Sífilis latente tardía: cuando la infección ha ocurrido hace más de un año.
- Sífilis de categoría desconocida: la fecha de la infección no puede ser establecida, pero si se ha presentado en alguna ocasión positividad en alguna prueba no treponémica (44, 45).

#### iv. Sífilis congénita-

Una consecuencia grave de la infección por *T. pallidum* es la sífilis congénita. Actualmente se le está prestando cuidadosa atención en los programas serios de atención en salud materno-infantil. Esta se presenta cuando el *T. pallidum* atraviesa la barrera placentaria a partir del tercer o cuarto mes de gestación, produciendo enfermedad fetal. Por tal razón el control prenatal de anticuerpos en la madre es una norma establecida en todos los países. La mejor muestra para evaluar el riesgo fetal es el suero materno.

Para el caso de un neonato sin sintomatología a la sífilis, pero en condición de riesgo a enfermedad sifilítica, lo indicado es hacer el examen completo de LCR. En la siguiente tabla se resumen algunos aspectos sobre los estadios y sintomatología de la sífilis. (46 - 48).

Tabla No. 1. Estadíos y Síntomas de la Sífilis

Estadío					
Primario		Secundario	Latente Precoz	Latente Tardío	Terciario
Tiempo	3 semanas a 3 meses Media de 21 días	Seis semanas a seis meses	Uno o dos Años	De dos a veinte años	Diez a veinte años
Serología	Variable	Positiva	Variable	Variable	Variable
Síntomas	Chancro único o múltiple. Linfadenopatía regional. Alteraciones del LCR en el 40%.	Roseola sifilítica. Pápulas. Lesiones musculares. Condilomas. Alopecia.	Asintomático. Recaídas En el 25%	Asintomático ¿Curación espontánea?	Gummas Neurosífilis Cardiovasc.

A partir del tercer mes de gestación, posibilidad de afectación fetal.

Tomado de (47)

v- Estudios experimentales:

Para conocer mejor el curso natural de la enfermedad, se han efectuado estudios de población. El de más renombre es el conocido como Estudio de Oslo (1890–1910) realizada por el profesor Boeck, cuyo objetivo era conocer las manifestaciones clínicas de pacientes voluntarios sin tratamiento. Las terapias disponibles en 1890 como los mercuriales llegaban a ser más perjudiciales, por su toxicidad, que la misma sífilis. La continuación del estudio por Gjestland, quién lo convirtió en un estudio prospectivo sobre 1978 pacientes, produjo los mejores frutos de la investigación (49).

vi- Estudio de la enfermedad en la era de los antibióticos hasta décadas recientes.

Ningún estudio similar al de Oslo, se ha llevado a cabo en los últimos años, en parte a causa de la efectividad de la Penicilina, ya que previene los estadíos subsiguientes. Investigaciones efectuadas en Estados Unidos por el US Public Health Service de 1947 a 1977, sobre aspectos epidemiológicos, indican que ocurrió activación de sífilis temprana en los 50's y otro ligero incremento en los 60's y los 70's.

Como consecuencia de las investigaciones iniciadas en las décadas de los 30 y los 40 en Tuskegee, Alabama, ya mencionadas en la descripción del curso de la enfermedad no tratada, ha surgido un programa de investigación y servicio social sobre las ITS, con énfasis en la sífilis y auspiciado por el United States Public Health Service (USPHS) siempre con sede en Alabama ( 50 - 52 )

## **B. Agente Etiológico.**

### 1. Clasificación Taxonómica: *Treponema pallidum*

reino: *Bacteria*

clase: *Spirochaetes*

orden : *Spirochaetalis.*

familia: *Spirochaetaceae.*

género : *Treponema.*

especie : *pallidum.*



Las espiroquetas son un grupo de bacterias con forma de espiral similar a un tirabuzón. Las especies patógenas se encuentran en tres géneros:

*Borrelia*, *Leptospira* y *Treponema*. Dentro de este último género hay tres especímenes patógenos para el hombre: a) el propio *Treponema pallidum subesp. pallidum*, causante de la sífilis venérea ; b) el *T. pallidum subesp. pertenue* que causa el pian o frambesia y c) el *T. pallidum subesp. Endemicum* produce la sífilis endémica o bejel. La enfermedad conocida como pinta o carata es producida por otra especie el *Treponema carateum*.

Los tres especímenes del *T. pallidum* son muy difíciles de diferenciar por los métodos tradicionales de laboratorio, antigénicamente son prácticamente iguales y no es posible cultivarlos.

La frambesia o pian y la pinta son dos enfermedades endémicas en poblaciones de climas tropicales (53) .

## 2. Aspectos Morfológicos de los Treponemas:

Son microscópicos, invisibles a la microscopía directa, visibles solo por medio de coloraciones especiales, como la de Fontana o utilizando iluminación y microscopía de campo oscuro.

Su pared y membrana celulares son similares a otras bacterias gram negativas y como tales reaccionan a esta coloración, pero por ser muy delgados caen fuera del punto de resolución de la microscopía convencional. El *T. pallidum subesp. Pallidum*, denominado de acá en adelante solamente como *Treponema pallidum*, está constituido por las siguientes estructuras principales: una membrana exterior, fibrillas o filamentos axiales, discos de inserción, capa de peptidoglicano, membrana citoplasmática, túbulo citoplasmáticos o cilindro protoplasmático y ribosomas.

No es posible cultivarlo en los medios convencionales, pero pueden preservarse de 4 a 7 días a 25° C, en condiciones anaeróbicas, en un medio enriquecido con albúmina, bicarbonato de sodio, piruvato, cisteína y suero bovino. Se propaga bien en cultivos de células, como el caso de la cepa virulenta de Nichols, por medio de inoculación intra testicular en conejo (54 – 56) .

### 3. Patogenia.

Posee como factor de virulencia la capacidad de fijarse a las células del hospedador en piel o mucosas y alcanzar los tejidos sub-epiteliales a través de lesiones inaparentes o quizás a través de las células dando lugar a una lesión primaria. Se disemina por sangre uniéndose al epitelio vascular secretando una sustancia similar al muco polisacárido de los tejidos del hospedador camuflando de esta manera el antígeno y pasando así al espacio perivascular donde produce destrucción de los vasos, la infección causa endarteritis (inflamación del revestimiento de las arterias) o endocarditis obliterante, inhibición del aporte sanguíneo y ulceración. Estos factores dan lugar al chancro, en donde ocurre sucesivamente necrosis y destrucción progresiva del tejido. Hay posterior diseminación por los vasos sanguíneos a todo el cuerpo. (57, 58).

## C. Epidemiología.

### 1. Generalidades

Casi todos los casos de sífilis aparecen después de un contacto sexual con lesiones infecciosas. Otras maneras de contagio menos frecuentes son la exposición intrauterina y la transfusión sanguínea.

Un paciente con sífilis y sin tratamiento es una amenaza para él mismo, por las severas secuelas de la enfermedad y es un peligro de contagio para otras personas.

Para formarse una idea de cómo estuvo la situación epidemiológica en el mundo al final del pasado milenio se citan datos provenientes de los Estados Unidos que indican un promedio de 40,000 casos anuales en el período de 1985 a 1990, casi exclusivamente casos de sífilis temprana. La infección es dos veces más frecuente en hombres que en mujeres jóvenes, afecta más a la raza afro-americana, sobre todo en zonas urbanas y es una enfermedad de riesgo en relación a prostitutas, homosexuales, bisexuales y sus parejas (59).

### 2. Medidas para el Control de la Sífilis:

a) Que todos los contactos de casos diagnosticados sean examinados por espacio de tres meses previos al apareamiento del chancro en el paciente infectado.

- b) En caso de sífilis secundaria, todos los posibles contactos deben ser examinados tengan o no el chancro, por período de un año hasta obtener un diagnóstico definitivo.
- c) Establecer tratamiento después de efectuado el diagnóstico, sin embargo si ocurrió un contacto con una persona infectada, el tratamiento para la segunda persona debe instituirse inmediatamente con o sin diagnóstico, considerando un período de un año atrás (60, 61).

### 3. Factores que influyen en la difusión de la enfermedad:

La cuestión del por qué unas personas se contagian y otras no, es imposible resolverla solo por características sociodemográficas. Para contestar esto deben ser estudiadas otras variables tales como: fenómenos socioculturales, estructura social, características socio psicológicas y la forma como estos factores influyen en la conducta de las personas. Importantes factores a considerar podrían ser:

- a) Considerar que el fenómeno es dinámico y que hay retroalimentación.
- b) Abordar el problema considerando a las parejas y no a los individuos.
- c) Analizar los mensajes que la población afectada recibe y cuáles son sus respuestas.

### 4. Otros datos de importancia epidemiológica:

- a) La sífilis no es una enfermedad muy contagiosa, la probabilidad de adquirirla de una persona infectada es de 1 a 10.
- b) Individuos que padecen de enfermedades venéreas, han tenido por lo menos cinco contactos sexuales durante un período corto de tiempo.
- c) De los grupos de riesgo los drogadictos están en primer lugar y dentro de ellos la prostitución por drogas o dinero para conseguirlos, es un factor epidemiológico muy importante (62).

### 5. Medidas para el control de los brotes, sugeridas por los Centros de Control de Enfermedades de Estados Unidos de Norte América ( CDC ) .

- a) Vigilancia sobre la información recopilada;
- b) Generación de hipótesis;
- c) Evaluación de la Salud Pública, servicios clínicos y servicios de laboratorio (63).

#### 6. Estrategias adoptadas para erradicarla, en países desarrollados:

En Estados Unidos de Norteamérica existe un plan nacional para erradicar la sífilis para el año 2005, objetivo que ya ha sido alcanzado en otros países desarrollados en Europa.

El Plan propone las siguientes estrategias a seguir:

- a) Reforzar la vigilancia epidemiológica.
- b) Involucrar a la sociedad y que la intervención sea desde el punto de vista de pareja.
- c) Rápida respuesta a brotes epidémicos.
- d) Intensa promoción en salud (64).

#### 7. Papel del laboratorio clínico en el control epidemiológico:

El servicio de laboratorio es parte importante del grupo de salud en el manejo de los brotes y su papel fundamental deberá consistir en efectuar las pruebas de confirmación de diagnósticos clínicos, detección temprana de casos y estudios de tamizaje. Este servicio debe comprometerse en implementar un programa completo de pruebas que incluya lo siguiente:

- a) Examen de especímenes de úlceras genitales por microscopía de campo oscuro para detectar los treponemas.
- b) Pruebas tamiz tipo VDRL o RPR, esenciales en el diagnóstico y control de del tratamiento.
- c) Contar con una prueba treponémica al alcance o de fácil referencia (65).

#### 8. Aspectos relevantes sobre el control epidemiológico y estadísticas recientes en Estados Unidos:

Como parte del control de los focos endémicos de sífilis, se han ensayado con buenos resultados métodos de mercadeo y comunicación por redes. Con esto se ha logrado identificar núcleos de infección y mejor acceso a los pacientes (66).

Un hecho de gran importancia actual es la relación existente entre el VIH y las ITS ulcerativas como la sífilis, el herpes simple y el chancro blando, ya que se reconoce que la patogénesis de estas determina una prevalencia más alta del letal virus. Esto a causa del trauma de la piel que facilita el acceso del VIH a los capilares y a las células inflamatorias, blanco del virus (67 – 69).

Respecto a cifras, se presentan en primer término datos de todo el territorio de los estados Unidos y las consideraciones sobre dicha información, pues ahí se cuenta con suficiente información estadística confiable, es un país desarrollado y existe una relación cultural y científica estrecha.

Para estos reportes se han tomado como base para los cálculos, los censos poblacionales disponibles más recientes, al tiempo de las publicaciones.

Datos provenientes del Programa Nacional de Vigilancia, indican que las tasas de incidencia, o sea nuevos casos sobre 100,000 habitantes, en sífilis primaria y secundaria reportadas, decrecieron durante los años 90s y alcanzaron su punto más bajo durante el año 2000, desde que se iniciaron los reportes en 1941. Sin embargo el número de casos se han incrementado paulatinamente en los primeros años del presente milenio (70).

A continuación se presenta la situación en los grandes centros urbanos de EUA, para poder observar los cambios que se dan en las grandes ciudades.

TABLA 2. Sífilis en todos sus Estadíos. Casos y Tasas Reportados en Áreas Estadísticas Metropolitanas ( MSAs: Metropolitan Statistical Areas). Estados Unidos. Período del 2002 al 2006. Resumen.

AÑO	CASOS	TASA / 100,000 h (*)
2002	24,346	16.1
2003	26,233	16.8
2004	25,554	16.2
2005	25,859	16.2
2006	28,681	18.0

Datos tomados de (71) & (72)

(\*): Las tasa son de 50 MSAs (Metropolitan Statistical Areas), las cuales son las ciudades más populosas de los Estados Unidos de Norte América, según censos poblacionales del año 2000.

Se puede observar que el número de casos se ha incrementado paulatinamente durante el período 2002 – 2006. En las Áreas Metropolitanas las tasas de incremento son mucho mayores que las de todo el país (71).

Para más información de cómo se encuentra la situación actual de la sífilis en el mundo desarrollado. Se muestran estadísticas, a nivel nacional, recopiladas por los Centros de Control de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de Norteamérica, registradas en las Tablas 2 y 3. Y también se representan más adelante en las Figuras 1 y 2.

Tabla 3.

TABLA No. 3. Casos y tasas de sífilis 1aria. & 2aria. Estados Unidos.		
Período del 2000 al 2008		
AÑO	No. De CASOS	TASA
2000	5,979	2.1
2001	6,103	2.1
2002	6,862	2.4
2003	7,177	2.5
2004	7,980	2.7
2005	8,724	2.9
2006	9,756	3.3
2007	11,466	3.8
2008	13,500	4.5

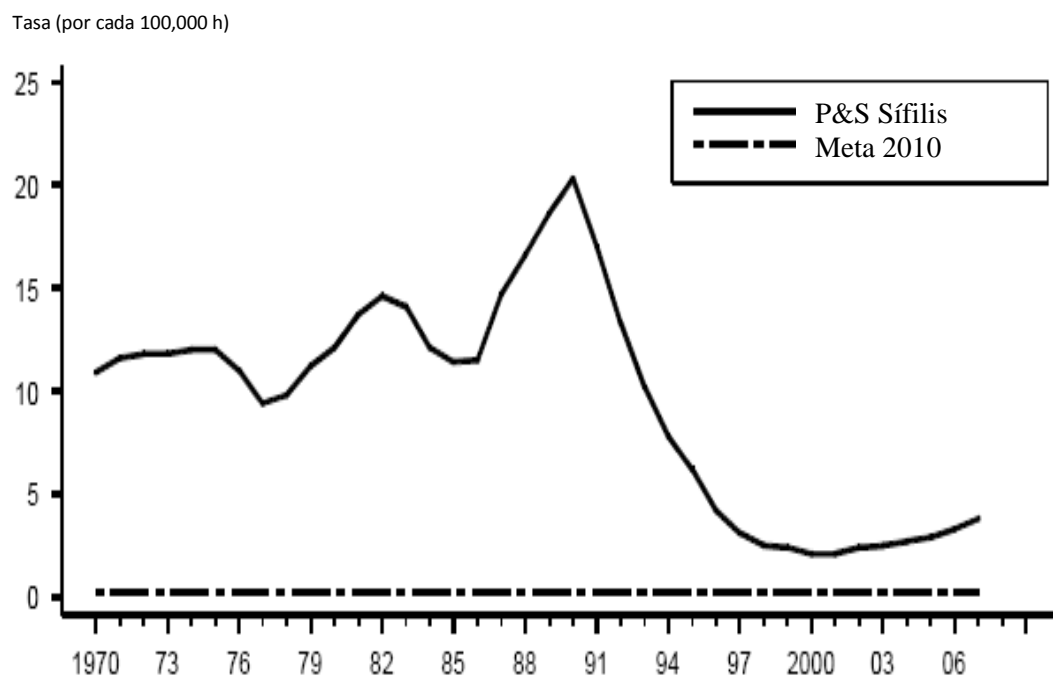
Datos tomados de (73, 74).

Para citar más ejemplos en años subsiguientes, se puede observar en la Tabla 3, como se presentan, número de casos y tasas en el período 2000 – 2008. Se observa por que en el año 2006 los casos de sífilis primaria y secundaria, reportados en las clínicas del CDC, se incrementaron a 9,756, de los 8,724 casos en el 2005. Lo cual representa un incremento del 11.8 %. Esto significa que la tasa de sífilis en EUA fue 13.8 % más alta, en el 2006 que en el 2005. Lo cual se traduce en 3.3 casos versus 2.9 casos / 100,000 habitantes, respectivamente. Los incrementos continúan en los años subsiguientes 2007

y 2008, no obstante los esfuerzos y planes por erradicar la sífilis en los Estados Unidos (73, 74).

Parte de la información de las Tablas 2 y 3 se representan gráficamente a continuación en las Figuras 1 y 2 respectivamente.

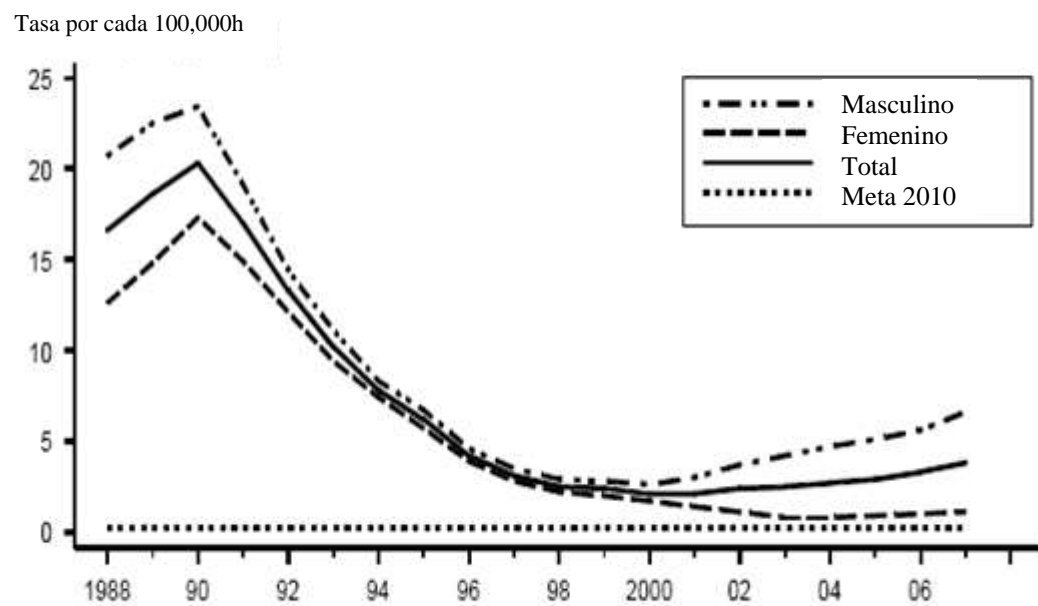
Figura 1: Sífilis Primaria y Secundaria: Tasas reportadas en Estados Unidos. Período 1970 – 2006. Y la meta de erradicación para el 2010.



Tomado de (73, 74)

Nota: La meta de erradicación de la sífilis para el 2010 es 0.2 casos por 100,000 h. de población.

Figura 2: Sífilis primaria y secundaria- Tasas: Total y por Sexo: Estados Unidos, 1988-2007 y la meta de personas saludables 2010.



Tomado de (73, 74).

Nota: La meta de erradicación de la sífilis para el 2010 es 0.2 casos por 100,000 h. de población.



Se pueden hacer algunas consideraciones generales sobre la sífilis en los Estados Unidos, según los datos presentados anteriormente y que proporcionan un perfil:

La tasa de sífilis primaria y secundaria reportada en los Estados Unidos decreció durante los años 90s y en el año 2000. También puede observarse que tuvo su valor más bajo desde que se iniciaron los reportes en 1941.

Por aparte también se reportó en este estudio del CDC, que durante el período 2005- 2006 se incrementó el número de casos reportados de sífilis latente temprana en un 12.4 %, esto es de 8,176 casos a 9,186. Mientras que la sífilis tardía y latente tardía se incrementó en un 9.95%, esto es de 16,049 a 17,644.

En tanto que el número total de casos de sífilis (primaria, secundaria, latente temprana, tardía, latente tardía y congénita) tuvo un incremento de 11.0%, esto es de 33,288 casos subió a 36,935.

Finalmente, se presenta a continuación en la Tabla 4, los casos reportados por clínicas ajenas a los sitios administrados por el CDC

Tabla 4. Sífilis Primaria y Secundaria — Casos reportados por sexo. Origen del reporte: Estados Unidos, 1999-2006.

<i>Hombre</i>			<i>Mujeres</i>				<i>Total</i>					
<i>Non-STD Fuente</i>		<i>STD Fuente</i>	<i>Non-STD Fuente</i>		<i>STD Fuente</i>		<i>Non-STD Fuente</i>		<i>STD Fuente</i>			
<i>Año</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>	<i>Casos</i>	<i>%</i>
1999	1,610	42	2,224	58	1,352	49	1,425	51	2,964	45	3,652	55
2000	1,565	44	1,967	56	1,193	49	1,252	51	2,758	46	3,221	54
2001	2,099	51	2,035	49	1,025	52	942	48	3,125	51	2,978	49
2002	3,132	59	2,135	41	869	55	725	45	4,001	58	2,861	42
2003	3,979	67	1,886	32	741	61	444	36	4,722	66	2,331	32
2004	4,374	65	2,244	33	762	61	477	38	5,137	64	2,722	34
2005	5,031	68	2,222	30	853	64	463	35	5,885	67	2,686	31
2006	5,447	66	2,630	32	890	61	531	36	6,340	65	3,163	32

Datos tomados de (73, 74).

Las proporciones de sífilis primaria y secundaria reportadas por otras clínicas fuera del control del CDC-STD aumentaron de 1999 al 2006. En el caso de los hombres el incremento fue de 42 % al 66% y para mujeres del 49% al 61%.

La suma de datos totales, no coincide a veces, porque hubo pérdida de información en las clínicas que no pertenecen a los programas del CDC-STD.

Por aparte se han efectuado estudios en grupos de riesgo, según investigaciones específicas del CDC, los mayores incrementos se observan en ciertos grupos sociales como el de hombres que tienen sexo con hombres, en los casos de sífilis congénita y en neonatos (75).

Para tratar de resolver la situación, en el 2006 el CDC retoma el Plan Nacional para eliminar la sífilis de los Estados Unidos. Los objetivos inmediatos para el año 2010 son primero reducir la tasa de sífilis primaria y secundaria a 2.2 casos/ 100,000 H., segundo reducir la sífilis congénita a 3.9 casos/100,000. y tercero llevar la relación de casos de sífilis de raza negra y raza blanca a una proporción de 3:1 (76).

#### 9. Situación de la enfermedad en Guatemala:

En nuestro medio el problema de la sífilis es prácticamente endémico, aunque la incidencia no es muy alta, según datos proveniente de la Dirección General del Ministerio de Salud. La información recabada se presenta en la siguiente tabla:

Tabla 5. Número de casos por año. Ciudad de Guatemala

AÑO	No. De Casos Positivos al VDRL
1998	450
1999	513
2000	365

Tomado de: (77, 78).

Los datos fueron obtenidos de la población que acude a los Centros de Salud, para solicitar la Tarjeta de Sanidad, la cual es exigida al solicitar trabajo en comercios e instituciones en donde hay atención directa al público. Situación en la que les es solicitado el resultado de la prueba de la cardioplipina. Se les efectuó la prueba del VDRL. La fuente no específica si se realizó alguna prueba de confirmación (77, 78).

En los tres años subsiguientes lo más relevante fueron dos estudios efectuados por el MSPAS (Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social y la ASI (Asociación de Salud Integral). El primero se efectuó sobre prevalencia de VIH e ITS en TCS (trabajadoras comerciales del sexo), en las ciudades de Guatemala, en Puerto. San José, Escuintla y en Puerto Barrios, Izabal. Esto entre octubre del 2001 y Enero del 2002, sobre un total de 536 mujeres. La prevalencia encontrada para sífilis fue del 10 %. Se efectuó primero la prueba tamiz del RPR y se confirmaron los positivos con MHA-TP (79, 80).

El segundo estudio realizado, similar al anterior, se hizo en HSH (Hombres que tienen Sexo con otros Hombres), en el mismo período de tiempo, siempre por parte del MSPAS a través de su Programa Nacional de Control y Transmisión de ITS / VIH / SIDA. Se encontró que la prevalencia de sífilis en 165 individuos fue igual al 13.3 %. Como pruebas diagnósticas se recurrió al RPR como prueba preliminar de diagnóstico y al MHA-TP como prueba de confirmación (81).

Otros datos provenientes del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) y el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica y el Sistema de Información de Salud republica de Guatemala (SIGSA) se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Casos de Sífilis todos sus estadios y Sífilis Congénita. Rep. De Guatemala

Año	Sífilis Numero Total de Casos	Sífilis Congénita No. Total de Casos
2004	454	15
2005	343	42
2006	298	95

Tomado de (82, 83).

Como una crítica constructiva, ciertamente puede decirse que la forma como el Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social (MSPAS) maneja la situación y la información de la sífilis es deficiente. No hay información completa sobre el método de laboratorio empleado para identificar los casos y tampoco hay datos suficientes sobre realización de pruebas de confirmación.

Por otra parte, el Centro Nacional de Vigilancia Epidemiológica del MSPAS, no facilitan la información o las personas que la manejan no es fácil localizarlas. Esta es una información que debería estar disponible al público.

La información disponible en Internet del MSPAS, es incompleta y desordenada. Todo el mundo sabe que la Cardioplipina o VDRL es una prueba que se exige para obtener la llamada Tarjeta de Sanidad, pero sobre la cantidad de pruebas efectuadas a la fecha, no hay información completa en la WEB y mucho menos de los resultados de esas pruebas.

#### **D. Pruebas de Laboratorio en Sangre.**

A continuación se describen las generalidades de los métodos y técnicas de diagnóstico de laboratorio, principalmente los utilizados en esta investigación.

Dependiendo del estadio de la enfermedad, si es primario, secundario o más avanzado, existen dos clases de métodos: el de microscopía directa para visualizar e identificar la presencia de treponemas principalmente para el estadio primario y los métodos serológicos para sífilis en sangre en todos los estadios.

##### **1. Microscopía Directa.**

Puede hacerse por coloraciones como la de Fontana, el método del campo oscuro o mediante técnicas de anticuerpo fluorescente. Esta última es por la observación directa de anticuerpos fluorescentes al *Treponema pallidum*. El método es conocido como DFA-TP: Direct Fluorescent Antibody – Treponema Pallidum (Fluorescencia Directa de Anticuerpos al T.P.). Utiliza anticuerpos al T.P. conjugados a fluoresceína. Por la naturaleza de esta investigación estos métodos no se entrarán a considerar en detalle (84).

## 2. Métodos Serológicos:

Las pruebas serológicas permanecen como el método de elección para el diagnóstico de sífilis. La infección del *T. pallidum* produce diferentes patrones de respuesta inmunológica.

Las pruebas se subdividen en dos grupos, las no treponémicas y las treponémicas y el principio de ambas es la búsqueda de anticuerpos contra el *T. pallidum*.

### a) Pruebas no treponémicas:

Su fundamento es la investigación de anticuerpos tipo reagina. La prueba clásica es el VDRL o Venereal Disease Research Laboratory. En ella están basadas todas las pruebas no treponémicas. En esta clase de pruebas, anticuerpos a antígenos tipo fosfolípidos ligados a la superficie de los treponemas, tienen una reacción cruzada con antígenos cardiolipínicos mamíferos. Los ensayos de floculación para detectar estos anticuerpos a los fosfolípidos, han sido desarrollados como pruebas no específicas de tamizaje, tales como la prueba VDRL, su modificación elUSR (Unheated Serum Reagin) y el ensayo Rapid Plasma Reagin o RPR.

El tipo de reacción observado es el de floculación en la cual se observan partículas suspendidas, que pueden o no aglutinar, que flotan en el líquido de reacción.

Como ventajas de este tipo de pruebas, se tiene que son de ejecución sencilla, rápidas, baratas y tiene excelente sensibilidad, especialmente en sífilis primaria.

Entre sus desventajas se pueden señalar que no se pueden usar en sangre completa, el VDRL requiere el uso de un microscopio, en tanto que el RPR utiliza un rotador en sus procedimientos. Ambos pueden producir con cierta frecuencia resultados falsos-positivos. Pueden ocurrir reacciones cruzadas con otras treponematosis diferentes de la sífilis. Y resultados falsos – negativos se pueden presentar por el fenómeno de pro-zona por exceso de anticuerpo.

En las técnicas modificadas actuales ya no es necesario desactivar el complemento, como tenía que hacerse anteriormente. Existen modificaciones a la técnica del VDRL, como es la observación macroscópica en el RPR, de amplio uso.

Dentro de las pruebas no treponémicas la prueba VDRL en LCR es la prueba más conocida para el diagnóstico de la neurosífilis, por su sencillez de ejecución, sensibilidad y bajo costo.

En el **VDRL** el antígeno que se utiliza está compuesto principalmente de cardiolipina, colesterol y lecitina. Este antígeno detecta anticuerpos tipo IgG e IgM, clase antilípidos, por la naturaleza lipídica de la pared celular del treponema. (85 – 88)

La variante utilizada fue una modificación del VDRL, conocida en el mercado como **Omega® Immutrep** de Merck (89) y está en la categoría conocida como **USR**.

i- Características y cualidades de las pruebas no treponémicas desde el punto de vista diagnóstico:

- Clínicamente indicadas en cualquier caso en que se sospeche un caso de sífilis.
- Los anticuerpos humorales pueden ser detectados con seguridad después de un lapso de una a cuatro semanas después del contagio. Sin embargo después de 8 semanas todas las pruebas tipo VDRL o RPR deben ser positivas.
- La sintomatología de la sífilis secundaria es muy variable, sólo un VDRL o RPR puede hacer diagnóstico diferencial.
- La determinación de títulos de anticuerpos, con este tipo de pruebas, permiten controlar el curso de la enfermedad, el tratamiento y hacer pronóstico.

ii- Interpretación de las pruebas no treponémicas: la evaluación de los datos se basará en los siguientes aspectos:

- En una población de bajo riesgo, todo resultado reactivo debe ser confirmado con una prueba treponémica; puede tratarse de un resultado positivo-falso.
- Considerar siempre el estadio de la enfermedad.
- En sífilis primaria temprana, un 30% dará un resultado no reactivo. Un resultado no reactivo después de 3 meses excluye el diagnóstico de sífilis primaria
- En sífilis secundaria, 99 % de los pacientes darán resultados reactivos con títulos arriba de 1:16.

- Pacientes con pruebas reactivas tanto no treponémicas como treponémicas en ausencia de un cuadro o historial clínico sugestivo, se deberán considerar como casos de sífilis latente y deberá seguirse un protocolo específico.

ii- Recomendaciones en la ejecución de este tipo de pruebas:

- Seguir al pie de la letra las indicaciones del método.
- De preferencia siempre trabajar con suero y usar EDTA como anticoagulante, si fuese necesario utilizar alguno.
- Efectuar un control de calidad de los reactivos utilizados.
- Saber y tomar en cuenta, que si se trabaja con plasma o líquido del cordón umbilical puede haber problemas.
- Controlar el fenómeno de pro-zona, para sueros con anticuerpos altos.
- Considerar que existe de 1 a 2% de positivos-falsos dentro de la población en general.
- Drogadicción por vía endovenosa da un 10 % de falsos-positivos.
- Utilizar solo una clase de prueba en monitoreo de pacientes

iv - Notas técnicas sobre el procedimiento del **VDRL**:

- Utiliza un agitador rotatorio de 180 ciclos por minuto (\*), que describa un círculo de 2 cm de diámetro, en un plano horizontal.  
(\*). El prototipo es el distribuido por Scientific Products American Hospital Supply Company.
- Emplear placas de vidrio con anillos de cerámica que limitan círculos a 14 mm de diámetro.
- Para la interpretación del resultado de la floculación, se sugiere el siguiente esquema:

Negativa	=	ninguna reacción o ligeras irregularidades.
Dudoso	=	leve o ligera rugosidad.
Positivo débil	=	acúmulos pequeños.
Positivo	=	acúmulos medianos o grandes (90 – 92).

b) Pruebas treponémicas.

La característica esencial de este tipo de pruebas es que utilizan antígenos derivados de treponemas, entre los que se pueden citar por más conocidos: la cepa de Reiter y la de Nicholson, ambas del *T. pallidum*. La de Reiter se originó en 1922, es factible de reproducirse en medios de cultivo, se considera no patógena para el hombre y los animales. En su estructura posee una proteína, carbohidratos y dos fracciones lipoides. Posee gran especificidad y sensibilidad.

La cepa de Nicholson fue aislada en 1912 y solo se conserva por pasajes seriados en animales de experimentación. Se considera patógena para el hombre y uno de sus usos más comunes es la prueba del TPI. Su estructura química es similar (93, 94).

De los métodos treponémicos existentes fueron seleccionados para esta investigación la microhemaglutinación (MHA-TP) y la inmunocromatografía en placa absorbente, también conocido como inmunoensayo cromatográfico.

i- La prueba MHA-TP: Micro Hemoaglutinación del *Treponema pallidum* :

Está basada en el principio de microaglutinación y el método original utiliza eritrocitos de carnero como soporte del antígeno *T. pallidum*. El suero del paciente se mezcla con un diluyente-absorbente hecho a base de treponemas de Reiter, más tampones estabilizadores.

El suero se coloca en la microplaca y se agregan los eritrocitos sensibilizados con el antígeno. Aquellos sueros que contengan anticuerpos reaccionarán con estas células para formar una fina capa de eritrocitos en el fondo de la microcelda como señal de reacción positiva. Sueros sin anticuerpos formarán un botón de eritrocitos en el centro de la microcelda. Se corre un control de eritrocitos no sensibilizados para descartar reactividad inespecífica.

El principio de la microhemaglutinación en el ensayo MHA-TP establece que cuando una muestra positiva, previamente diluida, es mezclada con los eritrocitos de carnero sensibilizados, los anticuerpos al antígeno sensibilizante producen aglutinación de las células. Estas células forman un patrón característico de aglutinación en el fondo de la



celda o pozo de una placa de titulación denominada microplaca. En ausencia de los anticuerpos los eritrocitos forman un botón en el fondo y centro de la celda.

De los procedimientos existentes por el método del MHA-TP, el desarrollado por Fusizoki Laboratories en Tokio, ha dado buenos resultados por la sencillez de su ejecución y no necesita equipo sofisticado. Podría llegar a sustituir a las pruebas no treponémicas de tamizaje con la ventaja de ser una prueba treponémica.

Una técnica alternativa similar, también basada en el principio de hemaglutinación es el Hemaglutination Treponemal Test Syphilis o HATTS. La única variante es que utiliza eritrocitos de pavo. Este procedimiento fue desarrollado por los Laboratorios Difco, Detroit, Michigan.

De este procedimiento ya han surgido modificaciones que permiten automatizaciones. Esto permite trabajar grandes volúmenes de muestras con mayor rapidez.

La prueba de micro aglutinación de treponemas se ha planteado como alternativa a la absorción de anticuerpos fluorescentes treponémicos, conocido por sus siglas en inglés como FTA-Abs, que se considera la prueba confirmatoria por excelencia (95 - 97).

El MHA-TP guarda correlación con el FTA-Abs, según se observa en la información de la siguiente tabla:

Tabla No 7. Comparación entre FTA-ABS y MHA-TP.

Test	Estadío sífilis				Especificidad
	Primario	Secundario	Latente	Tardío	
FTA-ABS	98 (93-100)	100	100	96	98 (95-99)
MHA-TP	82 (69-90)	100	100	94	99 (98-100)

Tomado de (98, 99).

La alternativa utilizada para realizar el diagnóstico por el procedimiento de microaglutinación fue la prueba **Immutrep® TP-HA**, de la cual se describen algunas de sus características con detalle, por ser la prueba seleccionada en esta investigación como prueba treponémica de confirmación:

El Immutrep® TP-HA es una prueba de hemaglutinación pasiva, específica y sensible utilizada para la detección de anticuerpos al *Treponema pallidum* en suero y líquido cefalorraquídeo.

El juego de reactivos está constituido por eritrocitos de ganso sensibilizados al *T. pallidum* tratados con ácido tánico como adsorbente de antígeno y formalinizados, eritrocitos de ganso no sensibilizados tratados con ácido tánico y formol, solución diluyente tamponada, suero control positivo y suero control negativo.

Este método es producido por los laboratorios Omega Diagnostics Ltda., de Escocia, Reino Unido, con el nombre de Immutrep® TP-HA, es una prueba de hemaglutinación para *Treponema pallidum* en el diagnóstico serológico de sífilis.

En de la caja del juego de reactivos del Immutrep® TP-HA, viene un instructivo inserto, en el cual se informa que con el mismo se obtuvo una sensibilidad de 98.5 %, una especificidad de 98.6 % y una reproducibilidad del 100 % en muestreos efectuados en diferentes centros clínicos europeos, sobre un total de 1084 personas. Según estudio efectuado contra otros dos ensayos para diagnóstico serológico de sífilis, no especificados (100).

ii- Método de inmunoensayo en placa cromatográfica :

La alternativa utilizada fue la técnica **Determine® Sífilis TP**.

Descripción del ensayo:

Es un ensayo inmunocromatográfico treponémico, para la detección cualitativa a simple vista, de los anticuerpos frente a los antígenos del *Treponema pallidum*.

La placa cromatográfica tiene un extremo absorbente señalado con una flecha, una superficie absorbente en forma de tira a lo largo de la cual se enmarcan dos ventanas de reacción. La primera ventana a lo largo del trayecto es la ventana control que contiene

todos los elementos que intervienen en la reacción y que permite efectuar un control de calidad de la reacción. Separada por unos pocos centímetros está la ventana de reacción del paciente que tiene adsorbidos en forma de banda los antígenos inmovilizados del *Treponema pallidum*. Desde el trayecto inicial de la tira se encuentra adsorbido el conjugado de coloide selenio de los antígenos del *Treponema pallidum*. Ejecución y principios biológicos del procedimiento:

- La muestra se aplica en el extremo absorbente, traspasa el área del conjugado, lo reconstituye y se mezcla con él.
- La mezcla del suero con el conjugado de coloide selenio de los antígenos del *T. pallidum* traspasa la fase sólida de la placa hasta llegar a los antígenos inmovilizados del *T. pallidum* localizados en la ventana de resultados del paciente.

Entonces puede ocurrir que:

- Si los anticuerpos frente al *T. pallidum* están presentes en la muestra, se unen al coloide de selenio de los antígenos del *T. pallidum* y a los antígenos del *T. pallidum* de la ventana de resultados del paciente. El resultado es la formación de una banda de color rojo en la ventana control y otra en la ventana del paciente. Esto se interpreta como una prueba positiva.
- Si los anticuerpos frente al *T. pallidum* no están presentes en la muestra, el coloide de selenio de los antígenos del *T. pallidum* traspasa la ventana de resultados del paciente y no aparece ninguna banda roja en la ventana del paciente. Si se debe observar la banda, en la ventana de control. Esto se interpreta como una prueba negativa.

En la caja donde vienen los reactivos de la prueba Determine ®, se encuentra adjunta una hoja con la siguiente información: Instrucciones, características del método e información sobre su especificidad y sensibilidad, ambas señaladas en un 100 %, esto de un estudio efectuado sobre 441 individuos. También se indica que fueron tomados como referencia otros dos ensayos comercializados para diagnóstico serológico de sífilis. No se especifica cuales fueron esos ensayos de referencia. La prueba Determine ® es producida por los laboratorios Abbott en su división de Tokio, Japón y distribuida en Guatemala por Merck, C.A (101).

Dicha prueba ha sido sometida a diferentes evaluaciones para determinar su viabilidad y utilidad. Una de estas evaluaciones fue la que efectuó el SDI (Sexually Transmitted Diseases Diagnostics Initiative), una rama de la WHO (OMS), sobre seis pruebas o inmunoensayos rápidos, seleccionados entre veinte pruebas comercialmente disponibles a nivel mundial. Dentro de las seis se seleccionó al Determine® Sífilis TP. El propósito de esa búsqueda, era encontrar una prueba útil y factible en trabajos de campo, en países en desarrollo para la atención primaria en el cuidado de la salud.

Las seis pruebas fueron evaluadas en 8 laboratorios en diferentes partes de Europa y África, seleccionados por el SDI. Se trabajaron 789 muestras archivadas de suero, que tuvieron una sensibilidad dentro de un rango de 85 a 98 % y una especificidad entre 93 y 98 %. Los resultados fueron comparados con el ensayo de hemoaglutinación al T. pallidum o TPHA y con el ensayo de aglutinación de partículas al T. pallidum o TPPA. Ambos utilizados como estándares de referencia.

La prueba Determine Sífilis TP en particular tuvo una sensibilidad de 97.2 %, considerada muy alta y una especificidad de 94.1%, considerada como aceptable. En términos generales una prueba con una sensibilidad muy alta, tiene una especificidad moderada y viceversa.

Como resultado de la investigación del SDI, la prueba Determine® fue seleccionada junto con otras tres pruebas para posteriores evaluaciones sobre su factibilidad y utilidad en trabajos de campo.

Existen en el Mercado más de 20 compañías que fabrican pruebas anti-treponémicas rápidas y simples, y que pueden utilizar como muestra de trabajo, sangre entera, suero o plasma. La mayoría utilizan tiras inmunocromatográficas recubiertas de antígenos de T. pallidum. Las reacciones de Antígeno–Anticuerpo aparecen como una línea de color en la membrana. La mayor cantidad de estas pruebas de diagnóstico rápido son apropiadas para su uso en la atención primaria de salud, ya que no requieren ningún equipo; pueden realizarse en tres o cuatro pasos; requieren una capacitación mínima; y dan una lectura visual en 8-20 minutos. Se pueden almacenar a temperatura ambiente durante 6 a 12 meses y el costo va de US \$ 0.40 a \$2.00.

Evaluaciones efectuadas sugieren que algunos inmunoensayos tienen rendimiento comparable a las pruebas de confirmación (102, 103).

c) Pruebas treponémicas en comparación con las no treponémicas:

- Los resultados de las pruebas treponémicas están reservados para confirmar los resultados de las no treponémicas y para cuando los síntomas y / o historia clínica estén en desacuerdo con los resultados de estas últimas.
- Las treponémicas son cualitativas y no se recomiendan para monitorear reinfecciones ni eficacia de tratamientos.
- Los resultados de las pruebas treponémicas permanecen positivos de por vida en el 86 % de los casos, aún después de tratamiento (104).

**E. Análisis y procedimientos para LCR.**

Este análisis está indicado para casos, en donde clínicamente se sospeche sífilis latente o congénita.

- En primer lugar debe señalarse que el VDRL es un buen método para su estudio por su sencillez de ejecución, alta sensibilidad y bajo costo.
- El propio método Immutrep® TP-HA es útil para la detección de anticuerpos en LCR. Esto puede verificarse en la literatura inserta del juego de reactivos Immutrep.
- También puede recurrirse al método modificado de ELISA con inmunoabsorción previa de anticuerpos inespecíficos.
- Puede utilizarse un método más sensible y específico como el inmunoblot, conocido como “Western blot” que detecta anticuerpos IgG e IgM. En este método los determinantes antigénicos del *T. pallidum* se separan por electroforesis en gel, se recogen en forma de manchas (de ahí el término “blot”) en papel de nitrocelulosa. Las manchas se incuban con la muestra problema y luego se detectan los anticuerpos con un conjugado enzimáticamente marcado. La especificidad es del 90 % y la sensibilidad superior al 80 % (105).

## **F. Tratamiento de la Sífilis.**

El tratamiento de elección para la sífilis y otras treponematosis es la penicilina. La razón fundamental de esto es que no existe hasta la fecha ninguna evidencia de mecanismos de resistencia por parte de los treponemas.

De las diferentes fórmulas penicilínicas existentes, la que ofrece mejores resultados en la penicilina depositaria Penicilina G Benzatínica, porque tiene la cualidad de producir concentraciones del antibiótico bajas, pero prolongadas, con cifras de 1.1 Ug/ml, superior a la Concentración Mínima Inhibitoria ( MIC ) para *T. pallidum* la cual va de 0.005 a 0.1 Ug/ml y que expresado en unidades internacionales promedio es igual a 0.23 UI/ml, para este antibiótico. Con una dosis de 2.4 millones de unidades, se obtienen concentraciones treponemicidas por 3 ó 4 semanas, suficiente para el tratamiento de un caso de sífilis primaria.

Los antibióticos de elección para un tratamiento alternativo, cuando la Penicilina esté contraindicada podrían ser Tetraciclina, Eritromicina o Amoxicilina. Incluso pueden ser utilizadas cefalosporinas como la Cefaloridina.

Dado que la penicilina es la droga de elección principal, es conveniente considerar algunas de sus características de biodisponibilidad, metabolismo y farmacocinética:

1. Elevada y favorable relación riesgo-beneficio.
2. Buena absorción desde sitios intramusculares.
3. El metabolismo y excreción se efectúan a nivel renal.
4. La concentración pico en suero se alcanza de 30 a 60 minutos después de la inyección i.m. Si se duplica la dosis, también hay duplicación en la concentración sérica (106 - 108).

#### IV. JUSTIFICACIÓN.

La razón más importante para efectuar este estudio es la naturaleza de la enfermedad que se investiga. Dentro de las infecciones de transmisión sexual (ITS), la sífilis ha sido un fenómeno de salud de gran complejidad médica y social, por lo que cualquier contribución para su diagnóstico, control y tratamiento será de gran relevancia.

Las infecciones de transmisión sexual son un problema de salud que cada día cobra más importancia, especialmente dentro de los grupos de población de alto riesgo, los cuales cada vez se hacen más numerosos por los fenómenos sociales que se viven en la actualidad.

Es un hecho importante que la infraestructura de salud del país, ofrece los servicios de laboratorio clínico completo, casi solo en los centros urbanos grandes y las necesidades de un diagnóstico exacto en el caso de sífilis, sobretodo en el control prenatal, deben cubrirse en todo el territorio nacional. Se debe contar con una herramienta analítica confiable y práctica, como podrían ser inmunoensayos como el investigado.

La experiencia y el conocimiento sobre el tema indican que las ITS mantienen entre sí relaciones epidemiológicas, por lo que la información que se obtenga de una de ellas, puede ser de utilidad en la investigación de otra.

La información existente en nuestro medio, al momento actual, sobre pruebas de diagnóstico rápido para sífilis, es realmente limitada. Hay poca información completa y fidedigna en cuanto a las características y cualidades de este tipo de pruebas. Tampoco se ha recabado información sistemática sobre nuestra población, en especial sobre los grupos de riesgo. Ni se tiene conocimiento sobre efectuar diagnósticos de laboratorio de la enfermedad en las condiciones precarias, de nuestra realidad nacional, en poblaciones apartadas y áreas marginales. Es por lo tanto necesario efectuar evaluaciones rigurosas con herramientas analíticas precisas.

Dentro del panorama global de este problema de salud, los procedimientos y métodos de diagnóstico desempeñan un papel fundamental en la identificación de la enfermedad. La precisión con la que se realice el diagnóstico es determinante en el pronóstico y tratamiento de sífilis.

Entre las diferentes pruebas de laboratorio que a lo largo del tiempo se han utilizado e investigado, ninguna de ellas llena todos los requisitos deseables de sensibilidad, especificidad, precisión, rapidez, sencillez de ejecución y accesibilidad por su costo. Sin embargo es importante efectuar la búsqueda de aquella que llene la mayor cantidad de las características deseadas.

Luego de las anteriores consideraciones, es primordial comprobar cuales son las características de eficacia y sencillez que posee el inmunoensayo cromatográfico en estudio y que justifiquen su uso como herramienta en el diagnóstico clínico de casos de sífilis, en todas sus etapas.



## V. OBJETIVOS.

### A. Objetivo General.

Evaluar la especificidad y sensibilidad del inmunoensayo cromatográfico Determine Sífilis TP ® para el diagnóstico de sífilis.

### B. Objetivos Específicos.

1. Establecer la concordancia existente entre los resultados obtenidos con la prueba en estudio y otros dos métodos diagnósticos.
2. Identificar la presencia de infección por *Treponema pallidum* en la población estudiada.

## **VI. HIPÓTESIS.**

El inmunoensayo cromatográfico Determine Sífilis TP ®, es un método diagnóstico de sífilis, sensible y específico.

### **HIPOTESIS ALTERNA.**

El inmunoensayo cromatográfico Determine Sifilis TP ®, es un método diagnóstico de sífilis, no sensible e inespecífico.

## VII. MATERIALES Y METODOS.

### A. Universo y Muestra.

El universo de trabajo es la juventud de la ciudad capital de Guatemala y la muestra seleccionada la compuso un grupo de 100 jóvenes de 13 a 19 años, denominados popularmente como “niños de la calle”. Es un grupo de población considerado como de alto riesgo en ITS. Estos jóvenes acudieron en su momento, a la clínica Tzité de la institución Médicos Sin Fronteras Francia, en búsqueda de atención en salud y han venido siendo atendidos por esta institución desde hace varios años.

La muestra de trabajo la constituyeron cien sueros provenientes de un lote de 500 sueros provenientes de la población estudiada y que se venían acumulando en el congelador del Laboratorio Citológico y Clínico, Citolab. Esto en los últimos tres meses previos al inicio del segundo semestre del 2006, periodo en que se efectuó el trabajo de campo, de esta investigación. A todo este lote de sueros se les efectuó la prueba Determine ® Sífilis TP en Citolab. A una parte de este lote total, cien sueros en total, que se constituyó en la muestra de trabajo, se les corrieron dos pruebas más para diagnóstico de sífilis, como parte de esta investigación, el VDRL y el Immutrep ® TP-HA, en el laboratorio particular denominado Laboratorio Químico Biológico. La selección y extracción de la muestra de trabajo se efectuó por el método de conveniencia

### B. Recursos.

#### 1. Recurso Humano:

- a) Asesor: Licenciado Gerardo Arroyo.
- b) Investigador: Bachiller Oscar Humberto Arévalo Ramírez.

#### 2. Recursos Institucionales y Privados:

- a) Laboratorio Citológico y Clínico CITOLAB.
- b) Laboratorio Químico Biológico.
- c) Biblioteca de la Dirección General de Salud del MSPAS.
- d) Biblioteca de la Facultad de CC QQ y Farmacia.

- e) Unidad de Informática y Biometría de la Facultad de CC QQ y Farmacia.
- f) Biblioteca del Laboratorio Nacional de Salud del MSPAS.

### **C. Materiales.**

#### **1. Equipo.**

- Centrífuga para tubos con ajuste de revoluciones por minuto y medidor de tiempo de centrifugación (“Timer”).
- Refrigeradora con unidad de congelación que proporciona una temperatura mínima de (-) 20° C.
- Un juego de pipetas automáticas para medir volúmenes de 10 a 1000 UL, incluyendo volúmenes intermedios.
- Agitador mecánico rotativo con dispositivo para ajuste de revoluciones por minuto y que alcance al menos 180 r.p.m.
- Reloj de tiempo tipo “Timer” para control de tiempos de reacción e incubación.
- Microscopio binocular que trabaje con luz del espectro visible y proporcione un aumento mínimo de 400 D.
- Cámara de humedad.

#### **2. Cristalería.**

- Tubos de ensayo de 13 x 100mm (DE x L), capacidad 10 ml.
- Tubos de ensayo de 10 x 75mm (DE x L), capacidad 5 ml conocidos como de hemólisis.
- Láminas portaobjetos nuevas de 1 x 3 pulgadas.
- Láminas portaobjetos de 1 x 3 pulgadas. Con extremo esmerilado, de 1mm de espesor con dos círculos enmarcados de cerámica de 1 cm. de diámetro.
- Pipetas serológicas de 1 ó 2 ml, graduadas en centésimas de mililitro.
- Placa de vidrio plano transparente con 6 o 12 círculos de cerámica de 14mm de diámetro.

### 3. Reactivos.

#### a) VDRL:

Para realizar el VDRL se utilizó el juego de reactivos marca **Omega**®, **Immutrep VDRL** compuesto por los siguientes reactivos:

- Solución de antígeno cardiolipina en suspensión lista para su uso, constituida por lecitina, cloruro de colina, tampón de fosfatos y EDTA; según las especificaciones de la OMS.
- Suero control positivo para el VDRL.
- Suero control negativo para el VDRL.
- Solución salina fisiológica, para efectuar diluciones; esta es adicional al juego de reactivos y se preparó en Laboratorio Clínico Biológico.

#### b) Inmunoensayo.

Para efectuar el inmunoensayo cromatográfico se trabajó con el método **Determine Sífilis TP**®, fabricado por Abbott Laboratorios, presentación en tarjetas y disponible en bolsas de 10 unidades, que contiene lo siguiente:

- Tarjetas inmunocromatográficas para una prueba, con un área de aplicación de muestra, una ventana de lectura de muestra y una ventana de lectura de control interno.

#### c) Prueba de referencia.

Se utilizó el método de microhemaglutinación treponematácea (MHA-TP) con el juego de reactivos marca **Immutrep**® **TPHA**, Omega Diagnostics y distribuido en Guatemala por Merck C.A. Contiene los siguientes reactivos:

- Reactivo células testigo o eritrocitos sensibilizados en frasco con 8.5 ml. Que contiene antígeno de *T. pallidum* adsorbido sobre eritrocitos de ganso preservados con formol y ácido tánico, concentración aprox. 0.36 % peso/ vol. Este frasco viene identificado como “Células Prueba”. Es solución en concentración de trabajo.

- Reactivo células control, es una solución de eritrocitos de ganso no sensibilizados debidamente preservados, concentración aprox. 0.36 % p/v. Es un frasco con 8.5 ml de solución de trabajo identificada como “Células Control”.
- Diluyente, que es una solución tamponada de suero de conejo al 0.4 %. Solución en concentración de trabajo. Frasco de de 19 ml identificado como “DIL.”
- Reactivo control positivo, es una solución tamponada de suero positivo que contiene anticuerpos contra *T. pallidum*, prediluida en proporción 1: 20. Solución de trabajo. Frasco de 1.0 ml identificado como “Control Positivo”.
- Reactivo control negativo, es una solución tamponada de suero libre de anticuerpos al *T. pallidum*, concentración de trabajo. Viene en frasco de 1.0 ml identificado como “Control Negativo”.

#### 4. Otros.

- Puntas plásticas descartables para pipetas automáticas.
- Microplacas descartables con filas de 12 o más microceldas de fondo en “U”.
- Placas de plástico o vidrio para cubrir las microplacas al incubarlas.
- Una lupa de aumento.

### D. Métodos

#### 1. Obtención de la Muestra de Trabajo.

De un lote de muestras provenientes del universo de trabajo establecido, se efectuó un muestreo por conveniencia y de manera similar se fijó el tamaño de la muestra de trabajo en la cantidad de 100 sueros. Para hacer esto se procedió a seleccionar los últimos 100 sueros de un lote de aproximadamente 500, que se encontraban almacenados y preservados en el congelador de Citolab. Los sueros se habían venido acumulando a lo largo del primer semestre del año 2006. El lote completo de muestras se examinó en Citolab por el inmunoensayo cromatográfico Determine® Sífilis.

## 2. Ejecución de los Procedimientos de Laboratorio.

La siguiente etapa práctica de la investigación consistió en realizarle al lote de los 100 sueros dos pruebas más, de diagnóstico serológico para sífilis, el VDRL como prueba no treponémica de apoyo al diagnóstico y el Immutrep TP-HA como prueba treponémica de confirmación al diagnóstico. Esta tarea se efectuó durante el segundo trimestre del año 2007, por parte del investigador.

Los resultados obtenidos del inmunoensayo cromatográfico le fueron revelados al investigador hasta que finalizó las pruebas de confirmación. Este hecho le confirió al estudio carácter de doble ciego, respecto a la ejecución de la prueba Determine®.

## 3. Técnicas de Laboratorio:

### a) Procedimiento para el inmunoensayo cromatográfico, Determine® Sífilis TP:

Las tarjetas del Inmunoensayo están contenidas dentro de un sobre de cartoncillo y vienen pegadas unas con otras. Se separan las tarjetas necesarias doblando y rasgando las líneas de puntos entre estas y a continuación se procede a:

- Retirar el plástico de protección que protege las tarjetas.
- Añadir 50 uL de suero, con una pipeta de precisión, en el área o ventana de aplicación de muestra, señalada por una flecha.
- Esperar 15 minutos como mínimo (no más de 24 horas) y leer el resultado.
- Interpretación del resultado:

Positivo: 2 barras.

Tanto en la ventana de control (“Control”), como en la ventana de los resultados del paciente, aparece una barra rojiza en cada una de las ventanas. Cualquier tipo de tonalidad roja que pueda aparecer en la ventana de resultados del paciente, implica que el resultado es positivo.

Negativo: 1 barra.

En la ventana de control (“Control”) aparece una barra roja y en la ventana de resultado del paciente no aparece ninguna barra roja.



No válido : Ninguna barra rojiza en la ventana de control.

Nota 1: Si no aparece ninguna barra roja en la ventana de control, el resultado no es válido y se debe repetir el ensayo. Esto aunque aparezca o no, barra alguna en la ventana de resultados del paciente.

Nota 2: el resultado del inmunoensayo es positivo aunque la barra de la ventana de resultados del paciente sea de un tono más claro o más oscuro que la barra de la ventana de control.

b) Procedimiento para el VDRL: prueba en lámina.

- Colocar y repartir 50 uL del suero sobre la lámina con círculos de cerámica de 14mm de diámetro.
- En cada corrida de sueros problema correr un suero control positivo, un suero control negativo y un control de solución salina 0.85 % .
- Agregar una gota de 1/60 de ml de la suspensión de antígeno, a cada círculo con muestras y controles. Esto se logra calibrando una jeringuilla de 3 ml con aguja No. 18 con la punta recortada.
- Rotar las láminas durante 4 minutos a 180 r.p.m. y 1.9 cm. de diámetro, utilizando un rotador.
- Evaluación del resultado: Observar al microscopio con el lente objetivo 40X, inmediatamente después de la rotación:

Interpretación:

Sin grumos: negativo.

Grumos de reconocimiento inseguro: reacción dudosa.

Grumos pequeños pero nítidos: débilmente positivo.

Grumos grandes: positivo.

Nota: A toda muestra con reacción positiva de grumos grandes, deberá hacerse una dilución seriada desde 1:2 hasta 1:64, con solución salina 0.85 %

c) Procedimiento para la prueba de microhemaglutinación treponematácea o TP-HA :

Cada prueba requiere 4 celdas o pocitos de una microplaca.

- Dispensar solución diluyente en la microplaca de la siguiente manera:  
25 uL en las filas 1, 3 & 4 y 100 uL en la fila 2.
- Dispensar 25 uL de cada una de las muestras y controles en las celdas de la fila 1.

Mezclar bien y transferir 25 uL de la fila 1 a la fila 2.

Mezclar bien y transferir 25 uL de la fila 2 a la fila 3.

Mezclar bien y descartar 25 uL de la fila 3.

Transferir 25 uL de la fila 2 a la fila 4.

- Agregar 75 uL de reactivo “ Control cells” , bien mezclado, a la fila 3.
  - Agregar 75 uL de reactivo “ Test Cells”, bien mezclado, a la fila 4.
- Golpear suavemente la orilla de la microplaca para mezclar bien.
- Nota: la dilución final en las filas 3 y 4 es 1/80.
- Pasar un paño húmedo en la parte inferior de la microplaca, para eliminar la interferencia de cargas electrostáticas.
  - Cubrir las micro placas con tapadera plana de plástico para prevenir desecación y dejar incubar de 45 a 60 minutos en un lugar fresco, oscuro y libre de cualquier vibración. Alternativamente puede dejarse incubando por toda la noche.
- Observar los patrones de hemaglutinación.

#### 4. Evaluación de la Prueba Investigada: el Inmunoensayo Determine ® Sífilis TP.

Después de realizado el inmunoensayo Determine ® a la muestra poblacional seleccionada, se seleccionaron 100 sueros al azar y se les efectuaron las dos pruebas de evaluación y confirmación elegidas, el VDRL como prueba de apoyo y la microahemaglutinación del *T. pallidum* (TPHA) como prueba de referencia. Con los resultados de estas pruebas se efectuó un análisis estadístico de sensibilidad, especificidad y de concordancia de acuerdo a un diseño estadístico de investigación conveniente para este propósito.

Al momento de aprobarse el informe final de esta investigación se informará a la clínica Tzité de la institución Médicos sin fronteras sobre los resultados obtenidos para colaborar con el control epidemiológico de la enfermedad, en la población estudiada.

#### 5. Diseño Estadístico de Investigación.

La selección de la muestra y tamaño de la misma se realizó por conveniencia y quedó fijado en un  $n = 100$  sueros. Un factor importante dentro del diseño de investigación es que se trabajó sobre una población de alto riesgo, como la

que se definió y en donde la prevalencia estimada está alrededor de un 10%, la cual se conoce como probabilidad *a priori*. Trabajar con esta prevalencia o más grande, permite lograr mayor eficiencia en la evaluación del método investigado. La prevalencia señalada es similar a la de otros grupos de riesgo, presentes en nuestro medio (TCS y HSH), a los que se hace referencia anteriormente en la sección de epidemiología y que están debidamente documentados.

En el análisis de resultados, se efectuó estimaciones de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de las tres pruebas involucradas en el estudio: Determine<sup>®</sup>, VDRL y TPHA. Esto mediante un formato básico para la Tabla de 2x2, basándose en los resultados de las pruebas, los cuales pueden ser: positivo verdadero, negativo verdadero, positivo falso y negativo falso.

También se determinó la prevalencia de la población estudiada. Todos estos parámetros encontrados se muestran en el capítulo de resultados.

El modelo básico de la Tabla de 2 x 2 se aplicó en su momento a la prueba investigada el Determine<sup>®</sup> Sífilis TP y a la prueba de confirmación el TP-HA. Ver capítulo de Resultados más adelante para ver datos.

Modelo de la Tabla de 2 X 2:

Prueba Investigada Determine <sup>®</sup> Sífilis	Prueba de Referencia: TPHA		
	Result (+)	Result (-)	Totales
Result. Pos	Positivo Verdadero	Positivo Falso	Positivos Determine
Result. Neg	Negativo Falso	Negativo Verdadero	Negativos Determine
Totales	Positivos TPHA	Negativos. TPHA	Total Pruebas ( 100 )

Esta tabla de 2 x 2 puede presentarse en un modelo algebraico, convertido en un cuadro de clasificación de datos, en la siguiente forma:

Cuadro de Clasificación de Datos:

Resultados prueba de referencia						
			( + )		( - )	
Resultados prueba Rápida.	( + )		a		b	
	( - )		c		d	
			a + c		b + d	

En donde:

a = resultado positivo verdadero

b = resultado positivo falso

c = resultado negativo falso

d = resultado negativo verdadero

Formulas matemáticas para los Parámetros Estadísticos:

Prevalencia =  $a + c$

Sensibilidad de la prueba =  $a / a + c$

Especificidad de la prueba =  $b / b + d$

Valor predictivo positivo =  $a / a + b$

Valor predictivo negativo =  $d / c + d$

Con los resultados obtenidos, mediante los respectivos cálculos, se estableció la medida de concordancia entre las variables en cada una de sus categorías o clases, por medio de la determinación del Índice o Coeficiente de Kappa.

El análisis de concordancia por medio del método de Kappa se efectuó con base en los resultados obtenidos y comparando la sensibilidad y especificidad de los respectivos métodos (109, 110).

Tres son los conceptos básicos en que se fundamenta el análisis de concordancia:

- ° Comparación de dos métodos clínicos de laboratorio binarios (de resultado positivo ó negativo) aplicados a un mismo grupo de personas. Utilizando uno de los métodos como prueba de referencia.
- ° Se utiliza un modelo estadístico para el análisis de la concordancia, partiendo del planteamiento de que ambos métodos son independientes o hipótesis nula y al ser esta rechazada por la prueba estadística, el resultado es que ambos métodos están asociados en cierto grado. Esto se logra comparando el resultado con el criterio del método de Kappa o Cohen-Kappa, utilizado como modelo.
- ° La Tabla de criterios para el modelo de Kappa puede consultarse en el Capítulo ANEXOS, al final del documento.

Los valores obtenidos para este índice se compararon con criterios establecidos en la Tabla de Criterios para el Índice de Kappa (111–112). (Ver Anexo 3)

## VIII. RESULTADOS.

La información de la investigación efectuada se presenta de la siguiente manera:

En primer término se muestran los resultados individuales de cada una de las pruebas efectuadas Determine, VDRL y TP-HA. Estos datos se registraron en el Cuadro 1, titulado: Resultados Individuales: Determine, VDRL y TP-HA. Ver capítulo ANEXOS.

Para el manejo de resultados también se utilizó la Tabla 6, titulada: Resultados Totales de las pruebas Determine, VDRL y TP-HA. Más sus Parámetros de Sensibilidad, Especificidad y Concordancia. Ver sección de ANEXOS.

Con base a la información de los datos individuales consignados en Tabla 1 y 6, se estableció que:

Con el inmunoensayo Determine se obtuvo un total de 29 positivos, para presencia de anticuerpos treponémicos. De estos resultados positivos solo uno de ellos dio un resultado positivo débil, esto es cuando se observa una banda rosada de tonalidad pálida. Los 28 restantes, todos dieron resultados nítidos.

De esos 29 resultados positivos, dos de ellos fueron “positivos falsos”. Al interpretarlos con base a la prueba de referencia.

La misma prueba dio un total de 71 resultados negativos. Al correlacionar estos resultados con la prueba de referencia, la prueba falló en identificar dos negativos verdaderos dándolos como falsos positivos.

En cuanto a los resultados obtenidos con el VDRL, utilizado como prueba de apoyo al diagnóstico, los datos son de 30 positivos para la presencia de anticuerpos reagínicos. Tres de estos resultados fueron positivos falsos.

Por su parte los resultados negativos para el VDRL fueron 70. La prueba falló en identificar tres negativos verdaderos dándolos como falsos positivos.

Respecto al análisis estadístico de resultados, los datos fueron analizados para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valores predictivos y prevalencia, mediante un cuadro de clasificación de datos y formato de 2x2.

Para el análisis estadístico del Determine frente al TP-HA, se utilizó primero un cuadro de clasificación de datos, identificado como Cuadro 2, que se elaboró con los datos individuales de las pruebas en cuestión, el cual se presenta a continuación:

**Cuadro 2:** Clasificación datos: Determine vrs TP-HA.

Prueba diagnóstica (Determine)	Prueba de referencia (TPHA)		
	POS. ( + )	NEG. ( - )	Total
Positivo	26	3	29
Negativo	1	70	71
Total	27	73	100
Nivel de confianza 95%.			

Fuente: datos experimentales.

Y en segundo lugar, mediante las fórmulas específicas se procedió al cálculo de los parámetros estadísticos respectivos:

**Cuadro 3:** Valores de Parámetros para Determine® vrs. TP-HÁ.

	Valor	IC (95%)
Sensibilidad (%)	96.30	94.40 - 98.19
Especificidad (%)	95.89	95.18 - 96.60
Valor predictivo + (%)	89.66	87.86 - 91.45
Valor predictivo - (%)	98.59	97.87 - 99.31
Prevalencia (%)	27.00	26.45 - 27.55

Fuente: datos experimentales.

Los parámetros calculados permitieron determinar que el grado de sensibilidad del Determine fue igual a 96.30 %. Mientras que la especificidad estuvo en 95.89 %.

En tanto que el Valor Predictivo Positivo fue de a 89.66 % y el Valor Predictivo Negativo estuvo en 98.59 %. La información de referencia para estos parámetros, en cuanto al Índice de Confianza se establece en 95 %.

El otro aspecto que se consideró fue la concordancia de la prueba investigada respecto a la de referencia, mediante análisis de concordancia entre dos observadores con dos categorías. El procedimiento es comparar la sensibilidad y la especificidad del Determine y la prueba de referencia, por medio del Índice de Kappa

El valor obtenido del Índice de Kappa fue de 0.9008. Para este índice el rango esperado correspondiente está entre 0.8058 y 0.9959. Con un nivel de confianza de 95 %.

También se efectuó el mismo tipo de análisis para la prueba VDRL, respecto a la prueba de referencia y se obtuvieron los subsiguientes datos que se consignan en los Cuadros 4 y 5.

**Cuadro 4:** Clasificación de datos. VDRL vrs. TP-HA

Prueba de apoyo (VDRL)	Prueba de referencia (TPHA)		
	POS. (+)	NEG. (-)	Total
Positivo	22	8	30
Negativo	5	65	70
Total	27	73	100

Fuente: datos experimentales.

**Cuadro 5:** Valores de Parámetros: VDRL vrs TP-HA.

	Valor	IC (95%)
Sensibilidad (%)	81.48	79.54 - 83.42
Especificidad (%)	89.04	88.31 - 89.77
Valor predictivo + (%)	73.33	71.51 - 75.10
Valor predictivo - (%)	92.86	92.11 - 93.61
Prevalencia (%)	27.00	26.45 - 27.55

Fuente: datos experimentales.

Se pudo determinar que la sensibilidad fue de 81.48 %. En tanto que la especificidad quedó establecida en 89.04 %.

Se obtuvo un Valor Predictivo Positivo igual a 73.33 % y un Valor Predictivo Negativo de 92.96 %.

En tanto que la concordancia entre dos observadores con dos categorías para el VDRL respecto al TP-HA, con un nivel de confianza de 95 %, fue igual a 0.6814. El rango esperado va de 0.5219 a 0.8408.

En cuanto a la población estudiada, respecto a identificar en ella la presencia de infección por *Treponema pallidum*, se pudo observar que el índice de sospecha o prevalencia obtenida estuvo en 27 %. Tomando como base los resultados obtenidos con la prueba de referencia.



## IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

En cuanto al método Determine ® Sífilis TP se refiere, la **sensibilidad** encontrada fue de **96.30 %**. Expresado en datos esto significa que de los 27 pacientes con sífilis (TP-HA positivos), 26 si fueron diagnosticados por la prueba y uno fue negativo falso. Esta sensibilidad se considera bastante aceptable y se cubrió así satisfactoriamente el primer requisito de la precisión. El significado de esto es que la prueba investigada tiene la capacidad para detectar la enfermedad de manera eficiente cuando el paciente tiene la enfermedad.

Con respecto a la **especificidad** del Determine ®, el valor obtenido fue de **95.89 %**. Los datos reflejan esto de la siguiente manera, 71 pacientes tuvieron un resultado negativo y 2 de ellos fueron falsos positivos. Se puede afirmar entonces que es alta la probabilidad de obtener un resultado negativo en personas sin la enfermedad.

Como término de comparación cabe señalar que los resultados obtenidos por esta investigación y los efectuados por el SDI (Sexually Diseases Initiative), rama de la WHO, son similares. Dicha institución internacional obtuvo una sensibilidad igual a 97.2 % y la especificidad fue de 94.1 %. Se utilizó el TPHA y el TPPA como métodos de referencia. Este estudio fue efectuado en el 2003 (102).

En lo que se refiere al valor predictivo de una prueba positiva o probabilidad *a posteriori*, los datos que se obtuvieron para calcularlo fueron de 29 pacientes con la prueba Determine ® positiva, de los cuales 26 tuvieron un resultado positivo verdadero y 3 con resultado positivo falso, esto según el respectivo cuadro de clasificación de datos (Cuadro 3). El resultado del **V P P es de 89.66 %** y representa la proporción de pacientes con resultado positivo al Determine ® que efectivamente tenían los anticuerpos contra el *T. pallidum*. Este valor se considera que fue aceptable para la prueba. Sin embargo de acuerdo a estos resultados, es necesario confirmar los resultados positivos al Determine ®, con una prueba de referencia más específica, ya que se presentaron 3 casos que dieron resultado positivo falso, que corresponde aproximadamente a un 10%.

El valor predictivo de una prueba negativa o **VPN fue de 98.59 %**. En términos de resultados, esto significa que de 71 pacientes con Determine® negativo, hay uno cuyo resultado es negativo falso, siempre tomando como base el cuadro de clasificación de datos (Cuadro 3). Este valor expresa la probabilidad que tiene el paciente de dar un resultado negativo a la prueba Determine® Sífilis, sin tener los anticuerpos al treponema. Se estima que este parámetro fue un resultado muy bueno para la prueba.

Aunque los resultados negativos de la prueba son bastante confiables, la condición clínica del paciente es el factor determinante.

Por su parte el valor obtenido para la **prevalencia** de la enfermedad **igual al 27 %**, basado en los resultados de la prueba TPHA, fue bastante alto. Este dato es consistente para una población de alto riesgo. Sin embargo es necesario señalar que no se diferenciaron casos con sífilis activa de casos con memoria inmunológica, porque no se contaba con información clínica de los pacientes ni era propósito de esta investigación. Sin embargo si se efectuó titulación de anticuerpos por medio de la prueba VDRL a todos los casos que dieron positivo a cualquiera de las pruebas utilizadas. El resultado de esto es que un 29.62 % de esos casos positivos tiene títulos altos de anticuerpos (arriba de 1:16) a la prueba de la cardiolipina.

En cuanto al análisis de **concordancia** el **Índice de Kappa** obtenido fue de **0.9008**, con un rango de confianza establecido de 0.8058 a 0.9959. El resultado obtenido se comparó con los estándares establecidos en la Tabla No 9. Tabla de Referencia para el Índice de Kappa (Ver Anexos) Se determinó que su valor estaba dentro del rango de 0.8 a 1.0 que corresponde a casos de concordancia casi perfecta (112).

Sobre la metodología de trabajo seleccionada para efectuar esta investigación puede afirmarse que hubo algunos aspectos que favorecieron la ejecución del estudio y la obtención de resultados fueron:

A. Seleccionar el método de microaglutinación como referente, resultó ser una elección acertada, después de revisar otros métodos como el FTA-Abs de anticuerpos fluorescentes o el inmunoensayo enzimático conocido como ELISA, ya que el TPHA es un método de conocidas y aceptables cualidades de precisión, no requiere de equipo

sofisticado y caro, es de ejecución sencilla y costo moderado por prueba. Todas estas características fueron convenientes para las circunstancias en que se realizó la investigación, de escaso presupuesto y equipo especial y costoso no disponible.

B. Efectuar la prueba de confirmación TP-HA a toda la muestra poblacional, los 100 sueros, fue un aspecto que contribuyó bastante en la calidad de los resultados obtenidos,. Algo que inicialmente se tenía contemplado solo para aquellas muestras que dieran resultado positivo con el Determine. Sífilis TP ® o el VDRL. Con esta medida se disminuyó la probabilidad y proporción de resultados falsos, tanto positivos como negativos.

C. La circunstancia de efectuar el estudio sobre una población, como lo son los llamados “Niños de la Calle”, considerados como de alto riesgo, determinó la probabilidad de encontrar un mayor número de casos positivos, lo que permitió conocer el potencial de sensibilidad de la prueba investigada.

Es importante comentar que aunque los datos obtenidos por medio de esta investigación sobre la sensibilidad y especificidad sobre el inmunoensayo Determine ®, son aceptables, no concuerdan con los datos consignados en el folleto inserto en la caja del juego de reactivos.

Los datos consignados son:

Sensibilidad del Determine. Casos diagnosticados con sífilis = 100%

Sensibilidad de las pruebas de referencia:

Ensayo A = 97.73 %            Ensayo B = 94.32 %

Especificidad Determine. Casos sin sífilis = 100 %

Especificidad de las pruebas de referencia:

Ensayo A = 100 %            Ensayo B = 100%

La información es incompleta pues no identifica a las pruebas de referencia A y B, solo indica que están disponibles en el mercado (101).

## X. CONCLUSIONES.

1. La sensibilidad encontrada para el inmunoensayo cromatográfico Determine Sífilis TP® fue de 96.36%.
2. La especificidad de la misma prueba quedó establecida en 95.89%.
3. El grado de concordancia entre la prueba Determine y el método de referencia utilizado, el TP-HA, fue igual a 0.9008.
4. Se identificó la presencia de infección por *Treponema pallidum* en el 27% de la población investigada
5. De acuerdo con los resultados obtenidos, el inmunoensayo Determine Sífilis TP® demostró ser una prueba útil para el diagnóstico en pacientes con sífilis, sencilla, rápida de realizar y no requiere equipo sofisticado y costoso.

## **XI. RECOMENDACIONES.**

1. Confirmar todos los resultados positivos obtenidos por la prueba Determina Sífilis TP, con un método de referencia como el TP-HA o el FT-Abs. Considerando que el valor predictivo positivo fue de 89.66%, lo que representa un 10.34% de resultados falsos positivos.
2. Se sugiere el uso del Determine como herramienta diagnóstica de sífilis en jornadas sanitarias de amplia cobertura, especialmente en trabajos de campo, en donde existen limitaciones de equipo y personal altamente calificado.
3. Se recomienda darle continuidad a este tipo de estudios, efectuando investigaciones de campo y trabajando con muestras de sangre completa.
4. Efectuar un estricto control epidemiológico con pruebas de laboratorio precisas y prácticas, sobre las ITSs que producen ulceración, como la sífilis, pues esto se consideran un factor predisponente a la infección por el VIH.
5. Se recomienda el uso del Determine ®, o inmunoensayos similares, en programas de salud pública para el control prenatal de la sífilis y en la erradicación de la sífilis congénita.

## XII. BIBLIOGRAFIA.

1. Potenziari B JC.(1997) La Medicina en la Historia. Culturas Precolombinas. *Revista del Centro Médico de Caracas*, 42, 42-46.
2. Potenziari B, J C & Potenziari Bradella S.D.(2008)- Historia de las enfermedades venéreas. *Acta Biomédica. Fac. de Med. U. de Venezuela*, 36, 1-20.
3. Noble R C. *Sexually Transmitted Diseases*. (1982) New York: Medical Examination Publishing. p.412.
4. Acton W. (1969). *Prostitution*. New York, p.62
5. Burriham J C. (1971). Medical inspection of prostitutes in America, in the nineteenth century. The St.Louis experiment and its sequels. *Bull Hist. Med*, 45, 203 – 204.
6. Burford E J.(1973). *Horrible Synne A Look at London Lechery. From Roman to Cromwellian Times*. London: Calder and Boyards, p.543
7. Rosebury T. (1971) *Microbes and Morals: The Strange Story of Venereal Disease*. New York: Viking Edit., p146.
8. Potenziari J C. (2006). *Historia de la Urologia*. Venezuela: Edit Moore, p.249
9. Hollander M H. (1970). The medical profession and sex. *Am J Obstet Gynecol*, 108, 139 – 140.
10. Morton RS. (1985). A clinical look at the morbus gallicus. *Eur J Sex Trans Dis.*, 2, 133- 140
11. Sanabria A. (1999). Compendio de Historia Universal de la Medicina .Venezuela: Ediciones de la Biblioteca- EBUC. *Colección Ciencias Médicas*. 52: 23-21.
12. Turnes AL. (2005). A 100 años del descubrimiento del Treponema pallidum: la sífilis en la Medicina del 2005. Disponible en <http://www.smu.org.uy/dpmc/hme/historia/articulos/sifilis.pdf>.
13. Larsen S A, Steiner B M & Rudolph A H. (1995). *Laboratory Diagnosis and Interpretation of test for Syphilis*.
14. Ito F et al. (1992). Specific immunofluorescent staining of pathogenic treponemes with a monoclonal antibody. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 831 – 838.

15. Henry J B. (2005). *El laboratorio en el Diagnóstico Clínico.*(20 ed.) Madrid: Ed. Marban Libros, S.L., p 1239 – 1243.
16. Rudolph A.H, et al.(1993). *Laboratory diagnosis of syphilis unit 16.* (22 ed.) Chicago., p. 486 – 491-
17. Larsen S A. 1990. Tolidine red unheated serum test (TRUST). P. 119 – 127. (In S.A. Larsen, E.F Hunter and S.J. Kraus. (ed.) *A Manual of test for syphilis.* 8th ed. American Public Health Association, Washington, D. C.).
18. White T J & Fuller S A. (1989). Visuwel Reagin, a nontreponemal enzyme-linked immunosorbent assay for the serodiagnosis of syphilis. *Jour. Clin Microbiol.*, 27, 2300-2304.
19. Larsen, S. A., Hunter, E. F. and Kraus, S J. (1990) *A Manual of tests for syphilis.* (8 ed.) Washington D.C.: American Public Health Association, p. 129 – 140.
20. Hunter E F. Fluorescente treponemal antibody-absortion test (FTA-ABS).(1990). pag. 129 – 140. (In S.A. Larsen, E. F. Hunter and S. J. Kraus (ed.). *A manual tests for syphilis*, (8<sup>th</sup> ed.) American Public Health Association, Washington, D.C..
21. Hunter E F, et al. (1979). Double Staining Procedure for the Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption (FTA-ABS) test. *Br. Jour Vener Dis.*, 55, 105 – 108.
22. Stevens R W, Schmitt M.E. (1985). Evaluation of an enzyme-linked immunoabsorbent assay for treponemal antibody. *Jour of Clinic Micro.*, 21, 399- 402.
23. Young H. et al. (1998). Novel recombinant – antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis. *Jour Clinic Microbiol.*, 36, 913 – 917.
24. Rathlev T. (1967). Haemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. *Br Jour Vener. Dis.*, 43, 181 – 185.
25. Tomizawa T, Kasamatsu S, Yamaya S. (1969). Usefulness of the hemagglutination test using *Treponema pallidum* antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis. *Jpn Jour Med Sci Biol*, 22, 341 – 350.
26. Centres for Disease Control. (1977). *Guidelines for evaluation and acceptance of new syphilis serology test for routine use.* CDC, Atlanta. 46p.
27. Deguchi M, et al. (1994). Evaluation of the gelatine particles agglutination method for determining *T. pallidum* antibody. *Journ Jpn Assoc Infect Dis.*, 68, 1271-1277

28. Nesteroff S. (2004). Serology: Syphilis. Westmead, NSW: RCPA Quality Assurance Programs Pty Limited. p.13
29. Scharfb, L. (2003). Laboratory-based evaluation of rapid syphilis tests. *Diagnostics Evaluation Series.*, 1, 6 – 19.
30. Lefevre J C, Bertrand M A, Bauriaud R. (1990). Evaluation of the Captia enzyme immunoassay for detection of immunoglobulins G. and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *J. Clin. Microbiol.*, 28, 1704 – 1707.
31. Stoll B J, et al. (1993). Improved serodiansis of congenital syphilis with combined assay approach. *Jour Infect Dis.*, 167, 1099 – 2002.
32. Norris S J, et al. (1993). Polypeptides of Treponema pallidum: progress toward understanding their structural, functional and immunologic roles. *Micro Rev.*, 57, 750 – 759.
33. Byrne, R.E. et al. (1992)- Evaluation of a *Treponema pallidum* western blot assay as a confirmatory test for syphilis. *J. Clin. Microbiol.*, 30, 115 – 122.
34. Gimpel E, et al. (1991). Use of polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect amniotic fluid, fetal and neonatal sera, and cerebrospinal fluid. *Jour Clinic Microbiol.*, 29, 1711- 1718.
35. Wicher K, et al. (1999). Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third d millennium. *Microbes & Infection.*, 1, 1035-49.
36. Sanguineti-Diaz C. (2000). Pruebas de Laboratorio en el Diagnostico de la Sífilis. *Dermatología Peruana.*, 10 (Supl. 1 ), 9 – 11.
37. Sparling P. F. *Natural history of syphilis*. P 213 – 219. ( In K. K. Holmer, et al. (ed). Sexually transmitted diseases. 2 ed. New York: McGraw-Hill Information Services Co. 1990.
38. Gerbase A C, Rowley J T and Mertens T E. (1998) Global epidemiology of sexually transmitted diseases. *Lancet*, 351 (Suppl. III), 2 – 4.
39. Hollander D.H. (1981). Treponematosis from pinta to venereal syphilis, revised hypothesis for temperature determination of disease patterns. *Sex. Trans. Dis*, 8, 34 – 39.
40. Fieldsteel A H. (1983). *Genetics of Treponema, in Pathogenesis and Immunology of Treponemal Infection* . New York: R. R. Schell, D.F. Musher ( Eds. ), p. 397.



41. Eldestein H., Karp r. & Green J. A. (1990). Prevalence of untreated syphilis in veterans: a case for routine screening. *Serodiagnosis and Immunotherapy in Infections Diseases*, 4 (2), 121 – 130.
42. Tramont EC. (1995). Syphilis in adults: From Christopher Columbus to Sir Alexander Fleming to AIDS. *Clin Infect Dis.*, 21, 1361- 1363.
43. Forbes B A, Sahm D F and Weissfeld A S. (2004). *Diagnostico Microbiologico*. (11ed)- Argentina- Bailey & Scott, p 1134. (621 – 628).
44. Centres for Disease Control and Prevention. (1997). Case definitions for infectious conditions under public health surveillance. *MMWR*; 46:34-38.
45. Bradley S. (2003). Recommendations for Public Health surveillance of Syphilis in the United States.; CDC Division of STD Prevention. P., 58 ( 7 – 16 ).
46. Ávila-Reyes R. et al. (2001). Sífilis congénita. Comunicación de un caso. *Enf Infec y Micro.*, 21 (4), 115-22.
47. Stoll B J, et al. (1993). Improved serodiagnosis of congenital syphilis with combined assay approach. *J. Infect. Dis.*, 167, 1093 – 1099.
48. Fuentes A. (2000). Diagnostico Serológico de la Sífilis. Control Calidad Seimc, Madrid. P. 8 (1 – 4). Disponible en: <http://www.seim.org/control/revisero/siflis 2.htm>.
49. Gjestland T. (1955). The Oslo study of untreated syphilis. An Epidemiological investigation of the natural course of syphilitic infection. Based on a restudy of the Boeck-Bruusgaard material. *Act Derm Vener*, 35, 46-56.
50. Rockwel D. H. , et al. . (1964). The Tuskegee study of untreated syphilis. *Arch. Intern. Medicine*, 14, 792 – 801.
51. Darrow W W. (1979). Social stratification, sexual behavior and sexually transmitted diseases. *Sex Transm Dis.*, 228: 79-83.
52. CDC. . (2007). National Center for STD Prevention. Tuskegee study and Health Benefit Program. P.39. Disponible en:[http://www.cdc.gov/nhhstp/docs/NCHHSTP.2007.Annual\\_report\\_final-c.pdf](http://www.cdc.gov/nhhstp/docs/NCHHSTP.2007.Annual_report_final-c.pdf).
53. Smilbert R. M. (1984). Genus III Treponema Schaudimn, p. 49-57. ( In Bergey´s. Manual of Systematic Bacteriology. 6 ed. Vol I. Baltimore: Williams / Wilkins, R.R. Krieg & J. R. Holt. Vol I p. 1023 ).

54. Lennette E H, Balows H A, Haussler W. J, Shadomy H. J. (1985). Manual of Clinical Microbiology. ( 4a. Ed.) Washington, D. C.: American Society for Microbiology,. p. 842.
55. Joklik W K, Willett H P, Amos D B y Wilfert C M. (1994). Zinsser Microbiology. (20 ed) Buenos Aires : Ed. Pan Americana, 1145p. ( p890-915 ).
56. Fieldsteel A H. et al. (1981). Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture. *Infect Immunol.*, 32, 908-910.
57. Harrison. Compendios de Medicina Interna. (1995). Madrid: Editorial Interamericana. Mc Graw-Hill. (13 ed). 1238 p. ( 224-226 ).
58. Austin F E. et al. (1981). Distribution of superoxide desmutase, catalase and peroxidase activities among *Treponema pallidum* and other spirochetes. *Infect Immunol.*, 33, 372-375.
59. Goodman R A., Peavy J V. (1996). Describing epidemiological data. p. 60 - 80. (In Greg M. B. Field Epidemiology (4 ed) . N Y City:Oxford University Press. P 382 ).
60. CDC Division of STD Prevention CDC. (2000). Sex. Transs. Dis Surveillance U. S. Depart. Of Health and Human Service. Public Health Service Atlanta, CDC., p, 1 – 57.
61. Farley T A. et al. . (2000). Strategies for syphilis prevention, finding from surveys in a high-incidence area. *Sex Trans Dis.*, 27, 305-310.
62. Rolfs R, Golberg M, Sharar R G. (1980). Risk for syphilis cocaine use and prostitution. *Am Jour Public Health.*, 80: 853-654.
63. Lin F. et al. (2001). Syphilis Outbreak Assessment. *Sex Trans Dis.*, 3, 131-135.
64. CDC. (1999). The national plan to eliminate syphilis from the United States. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, CDC, p. 1 - 84.
65. Centres for Disease Control and Prevention. (2005). "STD surveillance 2005 "National profile.". Atlanta, p, 1–26. Disponible en [www.cdc.gov/std/stats05/syphilis.htm](http://www.cdc.gov/std/stats05/syphilis.htm) .
66. Rothenberg H, et al. (2000). Social Network Methods for Endemic Foci of Syphilis. *Sex Transm Dis.*, 27, 12-18.
67. Bloocker M E, et al. (2000)- HIV Prevalence in Patients with Syphilis in United States. *Sex Transmit Dis.*, 27, 53-59.

68. Cohen M S. (1998), Sexually transmitted disease enhance HIV transmission no longer hypothesis. *Lancet.*, 351 (Suppl. III), p, 5-7.
69. Rompalo A M, *et al.* (1997) Definitions of genital ulcer disease and variation in risk for prevalent human immunodeficiency virus infection. *Sex. Trans. Dis*, 24 (7), 436-442.
70. Centres for Diseases Control and Prevention. (2006). Primary and Secondary Syphilis. United States. 2004. MMWR., 55, 269 – 273.
71. STD Surveillance 2006. CDC. Table of contents, 23. Disponible en [http://www.cdec.gov/std/stats/06/tables/table 23. htm](http://www.cdec.gov/std/stats/06/tables/table%2023.htm).
72. Centres for Disease Control and Prevention. (2000). *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006*. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centres for Disease Control and Prevention.
73. Centres for Disease Control and Prevention. (2007). *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006*. Supplement [1]. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centres for Disease Control and Prevention, 29pp. Disponible: [http:// www.cdc.gov/std/syphilis 2006/](http://www.cdc.gov/std/syphilis/2006/).
74. Centres for Diseases and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Surveillance, 2008. Table 1. Disponible en: [http://www.cdc.gov/std/stat/08/tables/1. htm](http://www.cdc.gov/std/stat/08/tables/1.htm).
75. D'Souza G, Lee JH, Paffel JM. (2003). Outbreak of syphilis among men who have sex with men in Houston, Texas. *Sex Transm Dis*, 30, 872-873.
76. Centres for Diseases Control and Prevention. (2009). Division of STD. The National Plan to Eliminate Syphilis from de U.S., P. 84 (p. 1 – 11).
77. Ministerio de Salud. Dirección General de Salud (MSPAS). (1999). Boletín Epidemiológico, Vigilancia Epidemiológica.. No. 16. P. 67. (pp. 62 – 66).
78. Ministerio de salud Pública y Asistencia Social. (2001). Dirección General de Salud. Boletín Epidemiológico, Vigilancia Epidemiológica. No. 17. p. 61. (pp.52 – 56)
79. Rodríguez M. A., Mayorga R., Álvarez S., García M. A. (2000). Caracterización comentada de Contextos de Vulnerabilidad para la Adquisición de ITS/VIH/SIDA en cuatro poblaciones de la Ciudad de Guatemala. OASIS, PASCA, OPS.

80. Pinzón Z, Soto R J, Aguilar S. (2003). Estudio Multicéntrico de Prevalencia de VIH / ITS y Comportamientos en TCS (Trabajadoras Comerciales del Sexo). Publicación del Ministerio de Salud y ASI (Asoc. de Salud Integral) de Guatemala.
81. Pinzón Z, Soto R J, Aguilar S. (2003). Estudio Multicéntrico de Prevalencia de VIH / ITS y Comportamientos en HSH ( Hombres que tienen Sexo con Hombres). Ministerio de Salud y asistencia Social, Guatemala.
82. Ministerio de Salud y Asistencia Social. Epidemiología. (2006). p.42.  
Disponible en: [mepas.gob.gt/2006](http://mepas.gob.gt/2006).
83. MSPAS. Centro Nacional de Epidemiología. (2007). Semana epidemiológica en Guatemala, 475, p 6 (4-6).
84. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. 1995; Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clinical Microbiology Reviews*, 8, 1-21.
85. Larsen S A, Hunter E F, Kraus S K. (1990). A manual of test for Syphilis.(8<sup>th</sup> ed.) Washington D.C.: American Public Health Association. 157 p., 73 -74.
86. Peeling R W, Ye H. (2004) Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. *Bulletin of the WHO*. 82: 439 – 446.
87. World Health Organization. (1999). Laboratory tests for the detection of reproductive tract infections, Available from <http://www.wpro.who.int/pdf/rti.pdf>.
88. Rose N R, *et al.* Manual of Clinical Laboratory Immunology.(4 ed.) Washington D.C.: Editors. *Am. Society for Micro.* 1992: 910 p, 468 - 472.
89. Wiener lab. Doc. Tec. VDRL test. (2000). Rosario, Argentina: Wiener. P.4.
90. Creighton E T.; Rapid Plasm. Reagin (RPR) 18 mm circle card test. p. 103 - 112 ( In S.A. Larsen, E.F. Hunter and S.J. Kraus. Manual of test for syphilis. 8<sup>th</sup> ed. Washington, D.C.: American Public Health Association, 1990).
91. Young H. (2000). Guidelines for serological testing for syphilis. *Sexually Transmitted Infections*. 76, 403-4055.
92. Henry J B. (1996). Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods (19th. ed.). Philadelphia: W.B Saunders. 1556 pp.
93. Meyer J C. Laboratory Diagnosis of Syphilis. (1996). *Curr Probl Dermatol*. 24, 1–11.
94. Bernina Wentworth & Franklin Judson, (1984). *Laboratory Methods for Diagnosis of STD*. Washington D.C.: American Public Health Association.(

95. Tomizawa T, et al. (1969.); Usefulness of the hemagglutination test using *Treponema pallidum* antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis. *Jpn Jour Med Sci Biol.* 22, 341 – 350.
96. Microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies (MHA - TP). (1982) Atlanta Georgia. Centres for Disease Control.
97. Coffey E M, Bradford L L, Naritomi I S, Wood R M. (1972). Evaluation of qualitative and automated quantitative microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*. *Appl Micro.* 24, 3069 - 3077.
98. Larsen S, Hambie E, Pettit D, Perryman M, Kraus S. (1981). Specificity, sensitivity and reproducibility among the fluorescent treponemal antibody absorption test, the microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies and the hemagglutination treponemal test for syphilis. *J Clin Microbiol* 14, 441- 445.
99. Augenbraun M, et al. (1998). Treponemal Specify Test for the Serodiagnosis of Syphilis. *Sexually Transmitted Diseases*, 25, 549 – 552.
100. Omega Diagnostics. Doc. Tec. Immutrep ® TPHA. *Treponema pallidum*. (2004) HMA Serodiagnóstico de sífilis. Scotland, Omega Dx. P.8
101. Abbott Laboratories. Div. Dainabot Co. Doc. Tec. Determine ® Syphilis TP. 1998. Tokio, Japón. Abbott. P. 11.
102. World Health Organization. Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases.(WHO/TDR). (2003). Laboratory-based evaluation of rapid syphilis tests. Diagnostics Evaluation Series. 1, 20 – 25. Disponible en: [www.who.int/std\\_diagnostics](http://www.who.int/std_diagnostics).
103. Lien TX, et al. (2000). Seroderquist: Evaluation of rapid diagnostic tests for the detection of human immunodeficiency virus types 1 and 2, hepatitis B surface antigen, and syphilis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene.* 62, 301- 309.
104. Van Dick E, Meheus A Z, Piot P. (2000). *Diagnostico de Laboratorio de las ITS*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.
105. Schmitz J L, et al. (1994). Laboratory diagnosis of congenital syphilis by immunoglobulin M (IgM) and IgA immunoblotting. *Clinical and diagnostic laboratory immunology.* 1, 32 – 37 .

106. Idsoe O, et al. (1972). Penicillin in the treatment of syphilis. *Bulletin WHO.* 47 (Suppl.), 1 – 6.
107. Onoda Y. (1979). Clinical Evaluation of Amoxicillin in the treatment of syphilis. *Jour Int Med Res.* ;7, 539 – 542.
108. Glicksman J M, et al. (1968). Parenteral cephaloridine treatment of patients with early syphilis. *Arch Intern Med.* 121, 342 –344.
109. Trapp R.G. (1993). *Biostatística Médica. Manual Moderno* (3a. ed). Mexico, D.F.: Dawson-Saunders B.
110. Knottnerus J A, van Weel C, Muris J W. (2002). Evaluation of diagnostic procedures. *Brit Med Jour.* ; 324: 477-80.
111. Azzimonti Renzo J C. (2005). Concordancia entre Dos Test Clínicos. *Act Bioquim Clín Latinoam,* 39 (4), 435-436.
112. Fleiss J L.(1981). *Statistical Methods for Rates and Proportions.* (2ed.). New York: J. Wiley & Sons.

### XIII. ANEXOS

#### Anexo 1. CUADRO1: Resultados Individuales: VDRL, Determine y TPHA

#	No.	PRUEBAS			#	No.	PRUEBAS		
Orden	Clave	VDRL- Tit.	Determine	TP-HA	Orden	Clave	VDRL-Tit.	Determine	TP-HA
1	A - 1720	2+; 1:8	POS.	POS 2+	51	B - 0280	NEG	NEG	NEG
2	A - 1766	NEG.	NEG	NEG	52	B - 0410	3+; 1:32	POS	POS 3+
3	A - 1769	4+; 1:64	POS.	POS - 2+	53	B - 0492	NEG	NEG	NEG
4	A - 1804	NEG.	NEG	NEG	54	B - 0540	NEG	NEG	NEG
5	A - 1806	NEG.	NEG	NEG	55	B - 0618	1+; {D}	NEG	NEG
6	A - 1841	3+; 1:32	POS.	POS 4+	56	B - 0629	NEG	NEG	NEG
7	A - 1843	1+; no tit.	POS.	POS 3+	57	B - 0630	NEG	NEG	NEG
8	A - 1844	NEG.	NEG	NEG	58	B - 0655	NEG	NEG	NEG
9	A - 1845	NEG.	NEG	NEG	59	B - 0665	NEG	NEG	NEG
10	A - 1846	1+; no tit.	POS.	POS. 3+	60	B - 0707	NEG	NEG	NEG
11	A - 1899	NEG.	NEG	NEG	61	B - 0874	NEG	POS	POS 3+/4+
12	A - 1900	NEG.	NEG	NEG	62	B - 0933	NEG	NEG	NEG
13	A - 1902	NEG.	NEG	NEG	63	B - 0939	NEG	NEG	NEG
14	A - 1903	NEG.	NEG	NEG	64	B - 0949	NEG	NEG	NEG
15	A - 1938	1+; no tit.	POS.	POS. 2+	65	B - 0964	1+; {D}	NEG	NEG
16	A - 1940	2+; 1:8	POS.	POS 2+/3+	66	B - 0966	NEG	NEG	NEG
17	A - 1942	NEG.	NEG	NEG	67	B - 0991	NEG	NEG	NEG
18	A - 1954	1+; no tit.	POS.	POS. 2+	68	B - 1008	1+; no tit	POS	POS 2+
19	A - 2006	NEG.	NEG	NEG	69	B - 1151	NEG	NEG	NEG
20	A - 2022	3+; 1:32	POS.	POS 2+	70	B - 1171	NEG	NEG	NEG
21	A - 2079	1+; {D}	NEG	NEG	71	B - 1189	NEG	NEG	NEG
22	A - 2198	3+; 1:16	POS.	POS 3+/4+	72	B - 1274	NEG	NEG	NEG
23	A - 2214	NEG.	NEG	NEG	73	B - 1275	1+; {D}	POS	NEG
24	A - 2217	NEG.	NEG	NEG	74	B - 1288	NEG	NEG	NEG
25	A - 2218	NEG.	NEG	NEG	75	B - 1325	2+; 1:4	POS	POS 4+
26	A - 2232	NEG.	NEG	NEG	76	B - 1326	NEG	NEG	NEG
27	A - 2367	2+; 1:8	POS.	POS 3+/4+	77	B - 1436	NEG	NEG	NEG
28	A - 2388	1+; 2+	NEG	NEG	78	B - 1452	NEG	NEG	NEG
29	A - 2487	2+; 1:8	POS.	POS 2+/3+	79	B - 1492	3+; 1:16	POS	POS 2+
30	A - 2552	NEG.	NEG	NEG	80	B - 1573	NEG	NEG	NEG
31	A - 2729	1+	POS.	POS 1+	81	B - 1588	NEG	NEG	NEG
32	A - 3067	1+	POS.	POS 1+	82	B - 1635	1+; {D}	NEG	NEG
33	B - 0028	NEG.	NEG	NEG	83	B - 1656	NEG	NEG	NEG
34	B - 0029	NEG.	NEG	NEG	84	B - 1663	NEG	NEG	NEG
35	B - 0038	NEG.	NEG	POS 3+	85	B - 1701	NEG	NEG	NEG
36	B - 0056	NEG.	NEG	NEG	86	B - 1749	NEG	NEG	NEG
37	B - 0061	NEG.	NEG	NEG	87	B - 1907	NEG	NEG	NEG
38	B - 0076	NEG.	NEG	NEG	88	B - 2077	2+; 1:4	POS	POS 1+
39	B - 0077	4+; 1:64	POS.	POS 4+	89	B - 2132	NEG	NEG	NEG
40	B - 0079	NEG.	POS débil	POS 2+	90	B - 2183	NEG	NEG	NEG
41	B - 0081	3+; 1:32	POS	POS 1+	91	B - 2394	NEG	NEG	NEG
42	B - 0092	2+; 1:8	POS	POS 4+	92	B - 2483	NEG	POS	NEG
43	B - 0093	NEG.	POS	POS 4+	93	B - 2577	NEG	NEG	NEG
44	B - 0094	NEG.	NEG	NEG	94	C - 0127	NEG	NEG	NEG
45	B - 0139	NEG.	NEG	NEG	95	C - 0154	NEG	POS	POS 1+
46	B - 0154	NEG.	NEG	NEG	96	C - 0379	NEG	POS	NEG
47	B - 0173	1+; {d}	NEG	NEG	97	C - 0160	NEG	NEG	NEG
48	B - 0174	NEG.	NEG	NEG	98	D - 0103	NEG	NEG	NEG
49	B - 0199	NEG.	NEG	NEG	99	D - 0165	NEG	NEG	NEG
50	B - 0274	1+; {D}	NEG	NEG	100	D - 0314	NEG	NEG	NEG

Fuente: datos experimentales

**Anexo 2. Tabla 6:** Resultados Totales de las Pruebas VDRL, Determine®, TPHA y sus Parámetro de Sensibilidad, Especificidad y Concordancia.

n = 100

Tipo de Prueba	Result. Positivo	Result. Negativo	Totales	Sensibilidad Frente TPHA %	Especificidad Frente TPHA %	CONCORDANCIA (Índice de Kappa)	
						Valor	Interpretación
VDRL	30	70	100	81.48	89.04	0.6814	Moderada
Determine® Syphilis TP	29	71	100	96.30	95.89	0.9008	Casi perfecta
Immutrep® TPHA	27	73	100	---	---	---	---

Fuente: Datos experimentales

### Anexo No. 3

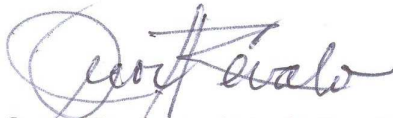
Para la estimación y análisis de la concordancia inter-pruebas se establece que:

Tabla 9. Valores del Índice de Kappa

La Tabla de Criterios para el Método de Kappa es la siguiente:
a). Si I. De Kappa igual a 0, la concordancia es pobre
b). Si I. De Kappa está entre 0.0 y 0.2, la concordancia es muy leve.
c). Si I. De Kappa está entre 0.2 y 0.4, la concordancia es leve.
d). Si I. De Kappa está entre 0.4 y 0.6, la concordancia es moderada
e). Si I. De Kappa está entre 0.6 y 0.8, la concordancia es substancial o buena.
f). Si I. De Kappa está entre 0.8 y 1.0, la concordancia es casi perfecta.

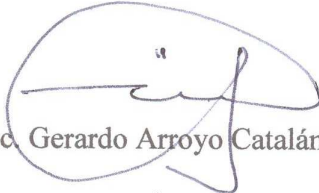
Tomado de (112).






Oscar Humberto Arévalo Ramírez

Autor



Lic. Gerardo Arroyo Catalán, MSc.

Asesor



Licda. Alba Marina Valdés de García, MA.

Revisora



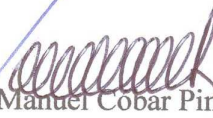
Licda. Ana Margarita Paz de Ramírez, M.A.

Revisora



Licda. María Eugenia Paredes, MA.

Directora



Oscar Manuel Cobar Pinto, Ph.D.

Decano