

DCNE
\$500.00

20 JUN 1984

FECHA DE DEVOLUCION

El último sello marca la fecha tope para ser devuelto este libro.
El lector pagará \$5.00 pesos por cada día que pase una semana después del vencimiento.

26 MAR. 2002
14 FEB. 1985
08 MAR. 1985

UNIVERSIDAD DE MONTERREY
VENCIMIENTO
MAYO 9 1994
BIBLIOTECA

UNIVERSIDAD DE MONTERREY
VENCIMIENTO
MAYO 9 2002
BIBLIOTECA

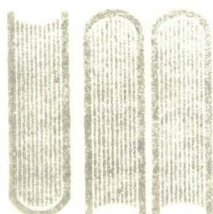
Biblioteca

09 MAYO 2002

VENCIMIENTO

UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD
DE MONTERREY

Título:

ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE TRES
METODOS PARA EL DIAGNOSTICO
DE LA SIFILIS: RPR, VDRL
Y MHA-TP

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

QUE PRESENTA

Subv:
MARICELA CABALLERO GONZALEZ

Folio: 900247

EN OPCION AL TITULO DE
LICENCIADO EN QUIMICA CON
ESPECIALIDAD EN ANALISIS CLINICOS

*No. Bo.
Juan G. Sainz*

MONTERREY, N. L.,

MAYO DE 1984

*Clasif.
040.54
C112e
1984
C.1*

A MIS PADRES, que con su amor, esfuerzo y dedicación me han dado el mejor regalo del mundo: ** Mi Profesión **, especialmente a mi madre Sra. Nora González de Caballero que por su cordura y gran sentido de responsabilidad supo orientarme siempre por el camino del bien; y muy especialmente a mi padre, amigo y maestro ejemplar Q.B.P. Mario Caballero Caballero por su gran calidad humana, su apoyo y comprensión. Para ellos, todo mi respeto, cariño y eterno agradecimiento.

A MIS HERMANOS, con todo cariño por su confianza, apoyo y amistad.

A TI ROGELIO, gracias por tu infinita paciencia y comprensión, gracias por ser alguien tan especial en mi vida, pero sobre todo: GRACIAS POR TU AMOR.

A DIOS NUESTRO SEÑOR, por haberme dado el ser y la dicha de haber llegado a ser alguien en la vida.

Mi más sincero agradecimiento a la Srita.
Q.F.B. Laura Elvira García Tovar, por su
asesoría en la realización de este estudio,
por su confianza y valiosa amistad.

Un profundo agradecimiento también a mis
maestras y amigas:

Q.F.B. Ma. Lourdes Martínez M.

Q.F.B. Maricela Ramírez B.

Q.F.B. Silvia Teresa Jaramillo.

por haber sembrado en mí la semilla de la
sabiduría.

Agradezco la colaboración brindada por los
Laboratorios de Análisis Clínicos del Hospi-
tal José E. González y de la Secretaría de
Salubridad y Asistencia, así como a la Sra.
Q.F.B. Evangelina Guzmán de Gómez y al Dr.
Esteban Ramos.

I N D I C E

	<u>Página</u>
Introducción	1
Materiales y Métodos	22
Resultados	30
Discusión y Conclusiones	37
Resumen	42
Bibliografía	43

INTRODUCCION

La historia médica y social de la sífilis ha sido una de las más interesantes hasta nuestros días, ya que esta enfermedad existió en Europa antes de 1495, como lo indican las recetas mercuriales que se usaban para el tratamiento de la grosse vérole y malfranzoso en el siglo XII, y que fueron descubiertas por Sudhoff Garrison en 1929. Alrededor de 1494, después del regreso a Europa de los marineros de Colón, el padecimiento se hizo epidémico en dicho continente. Este hecho y la falta de pruebas convincentes de que la sífilis existía en Europa antes del descubrimiento del Nuevo Mundo, su contagiosidad extrema y su patogenicidad hicieron creer que la enfermedad había sido im-

portada de América. Se han investigado cuidadosamente los restos óseos de pueblos primitivos del Centro y Sudamérica para determinar si existía o no entre ellos antes que Colón llegase a este hemisferio. Las pruebas de que la sífilis existía en la era precolombiana entre los aborígenes Aztecas e Incas han sido cada vez más numerosas, sin embargo la cuestión aún no ha sido dilucidada, pero el origen de este padecimiento en el Nuevo Mundo parece más que probable, no obstante, fue reconocido en Europa hasta fines del siglo XV con diversas denominaciones: "enfermedad italiana", "enfermedad francesa" y "greatpox". (23,29).

La sífilis es una enfermedad infecciosa del ser humano con manifestaciones variables causadas por la espiroqueta Treponema pallidum. La palabra treponema deriva del Griego que significa "hilo que gira". Los microorganismos típicos son espirales delgadas que miden alrededor de 5 a 20 micrómetros de longitud por 0.09 a 0.5 micrómetros de diámetro; los extremos se encuentran finamente ahusados y están formados por 8 a 14 espiras, las cuales están espaciadas regularmente una de otra a una distancia de un micrómetro. Su motilidad es lenta y gira constantemente alrededor de su eje mayor que por lo general es recto, además realiza movimientos de flexión pero rara vez rota. (1,3,6,32).

La estructura del T. pallidum está constituida de una vaina externa que envuelve a la célula, una membrana citoplas-

mática en donde se localizan los poros de inserción, en los cuales desembocan los seis filamentos axiales que se encuentran entre la vaina externa y las capas del cilindro protoplásmico que incluye la pared y la membrana celular. Se ha demostrado en la actualidad que las cepas patógenas poseen una capa externa de tipo cápsula que no está presente en las especies no patógenas. (16,32).

Los microorganismos treponémicos poseen un alto contenido de glucolípidos, el filamento axial está constituido de aminoácidos y las capas de la membrana citoplasmática contienen lipoproteínas. Actualmente se está estudiando la composición de la envoltura externa y de los componentes celulares, pero hasta ahora no se ha encontrado un componente único de T. pallidum que de lugar a la producción de anticuerpos protectores. (32).

Debido a que no se ha logrado el cultivo del microorganismo en medios artificiales, en huevos fecundados o en cultivos de tejidos no se han podido realizar estudios sobre su fisiología, sin embargo, se han establecido los requerimientos de cultivo basados en 11 aminoácidos, vitaminas, sales minerales y seralbúmina para una cepa, probablemente saprófita (Cepa de Reiter), permitiendo de esta manera el desarrollo del microorganismo. (16).

Las cepas patógenas de T. pallidum no pueden hacerse cre-

cer in vitro, aunque pueden sobrevivir de cuatro a siete días a 25°C en un medio anaerobio que contenga albúmina, bicarbonato de sodio, piruvato, cisteína y un ultrafiltrado de suero bovino; los microorganismos pueden permanecer viables por años en congelación con CO₂ sólido en un medio de glicerol al 15%, -la desecación mata a las espiroquetas así como la elevación de la temperatura a 42°C. Los treponemas pierden su movilidad y mueren rápidamente por efecto de los arsenicales trivalentes y metales pesados como el mercurio, antimonio y bismuto. Los microorganismos permanecen viables por lo menos 24 horas en sangre total o en plasma almacenados a 4°C, lo cual es de gran importancia en las transfusiones sanguíneas, sin embargo, en la actualidad el riesgo ha sido eliminado con el uso de sangre preservada. (3,7,10,12).

En condiciones naturales, la sífilis se presenta sólo en el hombre y la infección se transmite por contacto directo, generalmente por contacto sexual. Las espiroquetas se multiplican localmente en el sitio de entrada y algunas se diseminan a los ganglios linfáticos regionales y alcanzan la corriente sanguínea. La evolución de la enfermedad no tratada presenta tres etapas:

1.- ENFERMEDAD PRIMARIA. Después de 3 a 6 semanas, la enfermedad se manifiesta por la aparición del chancro que es típicamente una lesión única, no dolorosa y firme, con

una superficie limpia y dura (chancro duro), bordes elevados y color rojizo; caracterizado por el predominio de linfocitos y células plasmáticas. La lesión infecciosa se localiza en la piel o en las mucosas de los órganos genitales; puede pasar desapercibida en mujeres, en las cuales con frecuencia se localiza en el cuello del útero o pared vaginal. En aproximadamente el 10% de los casos la lesión primaria es extragenital, por ejemplo en los labios, la lengua, las amígdalas, el área anorrectal y sitios menos comunes tales como los dedos, las palmas de las manos y plantas de los pies. (6,30,32,35).

2.- ENFERMEDAD SECUNDARIA. De 2 a 10 semanas después de la "lesión primaria", la cual cura espontáneamente, se desarrollan las lesiones secundarias, consistentes en un exantema eritematoso y en pápulas húmedas y pálidas (condilomas) en la región anogenital, en las axilas y en la boca. Los signos clínicos importantes incluyen fiebre, dolor de garganta, linfadenopatía generalizada, cefalea y erupción cutánea; puede haber también meningitis sífilítica, coriorretinitis, hepatitis, nefritis o periostitis. Estas lesiones también sanan espontáneamente. Todas las lesiones primarias y secundarias de la piel y mucosas tienen espiroquetas en abundancia, son altamente infecciosas y pueden ocurrir dentro de los primeros tres a cinco años después de la infección, pero a partir de entonces el individuo ya no es infeccioso, no presenta signos ni síntomas

de enfermedad activa, pero continúa siendo serorreactivo. (16,30,32).

3.- ENFERMEDAD TERCIARIA. De 3 a 10 años después de la última evidencia de enfermedad secundaria, el paciente puede desarrollar lesiones localizadas, no progresivas de elementos dérmicos o estructuras granulomatosas de sostén, que se denominan "gomas"; en estos casos las espiroquetas son extremadamente escasas o están ausentes por lo cual se le denomina "sífilis terciaria benigna". (32).

En el período terciario pueden estar afectados varios órganos como piel, huesos e hígado, pero principalmente los sistemas cardiovascular y nervioso. (16,32).

NEUROSIFILIS. Durante los estadios temprano de la sífilis, aproximadamente un tercio de los pacientes presentan complicaciones del sistema nervioso central, pero sólo la mitad de éstos, si no son tratados, desarrollan neurosífilis tardía. El intervalo entre la enfermedad primaria y la neurosífilis tardía habitualmente es de más de cinco años. Esta puede ser asintomática o, puede presentarse en una variedad de formas, incluyendo demencia paralítica, tabes dorsal, esclerosis amiotrófica lateral, sífilis meningovascular, convulsiones, atrofia óptica y cambios gomatosos en la médula. (6,32).

SIFILIS CARDIOVASCULAR. Aproximadamente 10 a 40 años después de la sífilis primaria, el paciente no tratado puede desarrollar signos de problema cardiovascular. Los órganos más comunmente involucrados son los grandes vasos, donde se desarrollan arteritis sifilítica aórtica y pulmonar. La reacción inflamatoria también puede causar estenosis, con angor, insuficiencia miocárdica y muerte. (6,16,32).

SIFILIS CONGENITA. Es el resultado de la infección transplacentaria del feto en desarrollo y a menudo es una forma muy severa y mutilante de la enfermedad. Al inicio, el T. pallidum es liberado directamente en la circulación del feto, dando como resultado espiroquetemia con amplia diseminación. El aborto en la sífilis congénita habitualmente ocurre durante el segundo trimestre de embarazo, y rara vez se encuentran reacciones histopatológicas en tejidos fetales antes de ese momento. Se ha creído que el feto está protegido de la infección congénita hasta la decimosexta semana de embarazo cuando se atrofia la capa de células de Langhans del corion. La mujer sifilítica embarazada que no ha sido tratada puede transmitir la infección al feto en cualquier estadio clínico de la enfermedad. Este puede presentar hepatoesplenomegalia, ictericia, anemia hemolítica, neumonía y complicación múltiple de huesos largos, y por otra parte puede desarrollar los signos de lúes congénita durante la niñez, queratitis intersticial, dien-

tes de Hutchinson, nariz de silla de montar, periostitis y diversas anomalías del sistema nervioso central. (6,27, 32,35).

En el cuadro No. 1 se muestran las principales secuelas de la sífilis congénita tardía.

CUADRO 1

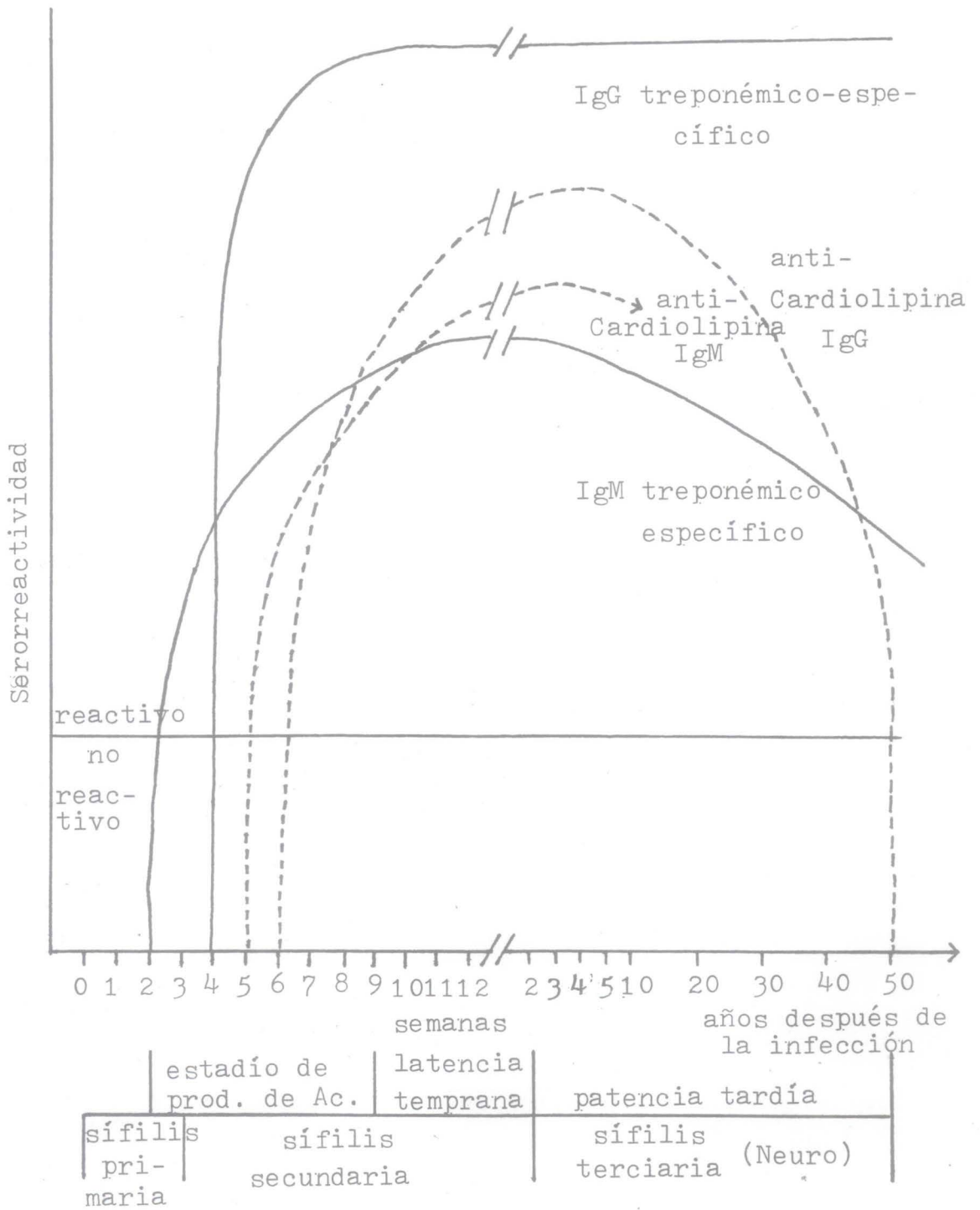
Secuelas	% total de pacientes
Nudosidad frontal de Parrot	87
Maxilar corto	84
Arco palatino elevado	76
Tríada de Hutchinson	75
Dientes de Hutchinson	63
Queratitis intersticial	9
Sordera del octavo par	3
Nariz en silla de montar	73
Molares en forma de cúpula	65
Signo de Higouménakis	39
Protuberancia relativa del maxilar inferior	26
Rágades	7
Tibia en sable	4
Escápula escafoidea	0.7
Articulación de Clutton	0.3

Durante la infección inicial con T. pallidum, se producen anticuerpos humorales IgG e IgM en el momento en que aparece el chancro, los cuales persisten largo tiempo en el paciente no tratado. Si éste recibe un tratamiento adecuado, los anticuerpos IgM declinan durante los dos años siguientes, pero los anticuerpos IgG habitualmente persisten durante toda la vida del paciente. Los estadios de la sífilis continúan su curso a pesar de la respuesta de anticuerpos humorales. En la figura No. 1 se muestra el tiempo de la aparición y prevalencia de los anticuerpos en cada uno de los estadios de la sífilis. (19,32).

En la sífilis primaria ocurre la inhibición de la inmunidad mediada por células. Los linfocitos de personas sifilíticas muestran una respuesta reducida o ausente específicamente frente a los antígenos treponémicos. Las áreas paracorticales de los ganglios linfáticos presentan una disminución de linfocitos. Además de estas características, hay evidencias de que una población de linfocitos tiene una función de tipo supresora. Estos hallazgos pueden ayudar a explicar la evolución de la enfermedad primaria en personas que han presentado una respuesta de anticuerpos frente a la infección. (32).

Sin embargo, las personas con sífilis secundaria tardía y sífilis terciaria presentan inmunidad mediada por células frente a antígenos treponémicos.

FIGURA 1



La inhibición de la migración de leucocitos es una evidencia de que la inmunidad mediada por células es activada durante los estadios de la sífilis, además estudios experimentales han demostrado la activación no específica de macrófagos, varias semanas después de la infección con T. pallidum. (32).

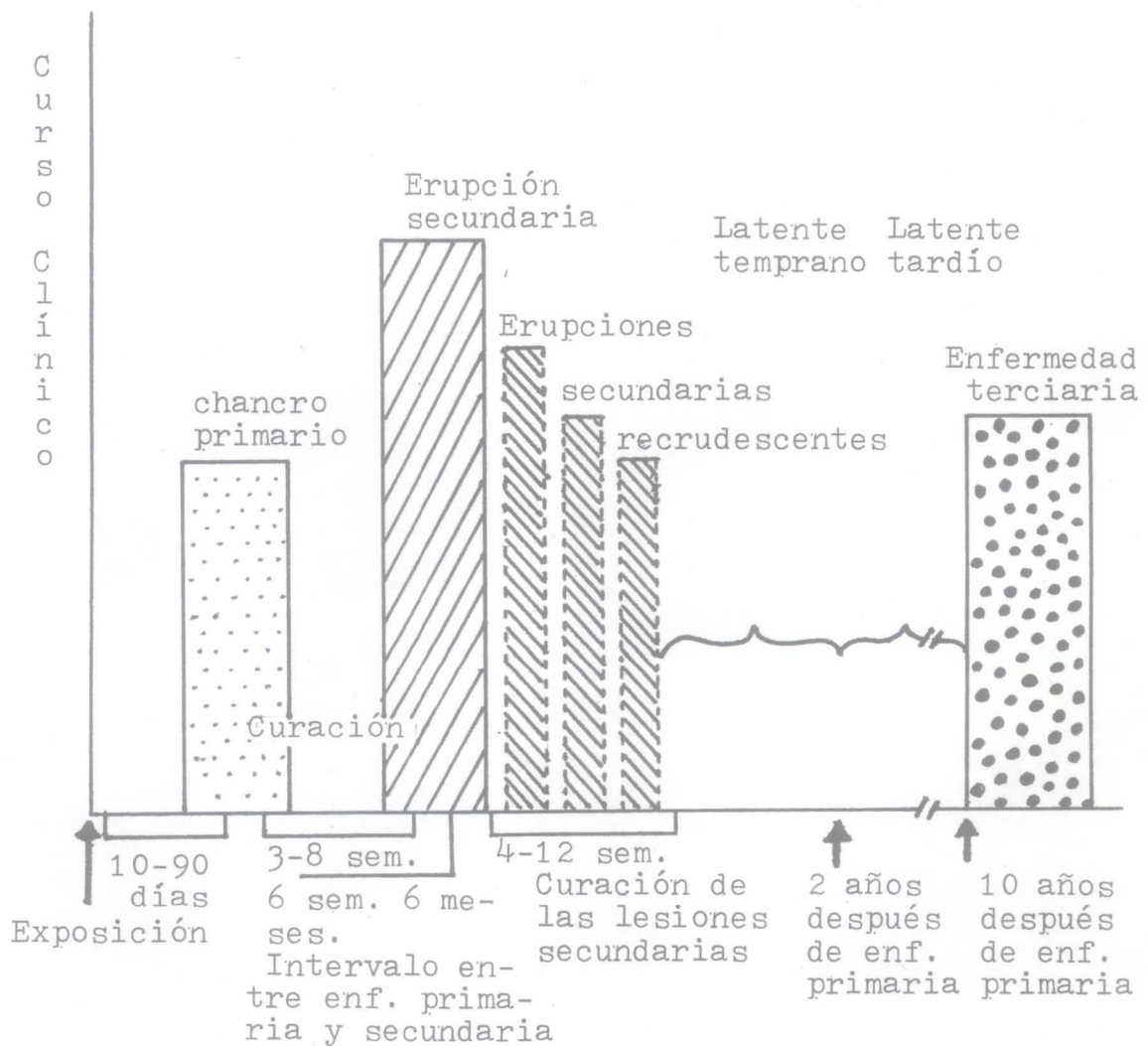
Las personas con sífilis no tratada presentan una resistencia relativa a la reinfección de forma tal que la aparición de un chancro en una segunda infección es poco usual y probablemente depende del inóculo. Después de la reexposición, las personas que no han recibido tratamiento pueden desarrollar un aumento del nivel de anticuerpos humorales. En personas que han sido tratadas especialmente si el tratamiento se administró durante estadios secundarios o primarios, el efecto protector de la enfermedad previa es menor, y es común observar enfermedad activa después de la reinfección. Aunque la sífilis activa o previa modifica la respuesta del paciente a una reinfección posterior, la protección es sólo relativa y no confiable. El curso de la sífilis no tratada se muestra en la figura No. 2 . (32).

Para establecer correctamente el diagnóstico y los períodos de la sífilis en un paciente, se requiere una integración de la historia clínica y pruebas de laboratorio como son la microscopía de campo oscuro y las pruebas serológicas que han ganado importancia en la actualidad y son fundamen-

tales en el diagnóstico de esta enfermedad. (4,9,10,18,20).

Los procedimientos de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis se describen en el cuadro No. 2.

FIGURA 2



CUADRO 2

- 1.- Examen en campo obscuro para la identificación directa del T. pallidum.
 - a) De lesiones primarias, secundarias, congénitas o de reinfecciones.
 - b) Recolección de líquido seroso de la base de la lesión.

- 2.- Examen serológico.
 - a) Pruebas reagínicas para escrutinio, control del tratamiento y sífilis congénita.
 - b) Pruebas confirmatorias para detectar anticuerpos treponémicos:
 - Inmunofluorescencia (FTA-ABS).
 - Microhemaglutinación (MHA-TP).
 - Inmovilización (TPI).

- 3.- Examen de líquido cefalorraquídeo para la Neurosífilis.
 - a) Cuenta de células.
 - b) Determinación de Proteínas Totales.
 - c) Pruebas serológicas en LCR.

- 4.- Examen de biopsias para estudios histopatológicos.

- 5.- Estudio de radiografías para sífilis cardiovascular y sífilis tardía benigna.

Existen diversas pruebas serológicas para el diagnóstico de la sífilis que se clasifican en dos grupos:

I) PRUEBAS NO ESPECIFICAS.

En estas pruebas se utiliza como antígeno una solución coloidal constituida de cardiolipina, lecitina y colesterol, la cual se hace reaccionar con anticuerpos no treponémicos llamados comunmente reagínicos. Dichos anticuerpos son inmunoglobulinas de las clases IgG e IgM y pueden ser detectados mediante el uso de dos tipos de métodos: (1) Pruebas de Fijación de Complemento como las de Wassermann y Kolmer, y (2) Pruebas de Floculación como las de Kahn, Hinton, Kline, Mazzini, VDRL (Venereal Disease Research Laboratory), RPR (Rapid Plasma Reagin) y ART (Automated Reagin Test). (1,9,14,22).

Las pruebas empleadas actualmente en los laboratorios clínicos son el VDRL y el RPR. Se utilizan como pruebas de escrutinio y para valorar la eficacia del tratamiento al determinar el título de anticuerpos. El RPR es una modificación de la prueba del VDRL, sólo que la reacción antígeno anticuerpo puede ser leída macroscópicamente porque se agrega al extracto antigénico partículas de carbón, las cuales facilitan la visualización del complejo formado. (3).

II) PRUEBAS ESPECIFICAS.

En éstas se utilizan antígenos del Treponema pallidum

que van a reaccionar directamente con anticuerpos treponémicos. Estas pruebas se emplean para confirmar la validez de una prueba reagínica positiva, para diagnosticar sífilis congénita y estadios tardíos de la sífilis. (3,20).

El primer procedimiento en el cual se utilizaron treponemas como fuente antigénica fue el llamado TPI (Inmovilización del Treponema pallidum) desarrollado en 1949 y que consiste en utilizar treponemas vivos como antígeno (extraído de cultivos en testículos de conejos), los cuales se ponen en contacto con el suero del paciente y después se observan con microscopio de campo oscuro para evaluar su movilidad. La inmovilización de los treponemas se interpreta como resultado positivo. (6,31).

El desarrollo más significativo en las dos últimas décadas en la serología de la sífilis es la detección de anticuerpos contra el treponema por medio de antigamma globulina humana marcada con fluoresceína (FTA) en la cual se emplean microorganismos liofilizados de la cepa de Nichols como antígenos. El antígeno se fija a un portaobjetos y se aplica el suero de prueba, permitiendo la reacción del anticuerpo antitreponema con el antígeno. El portaobjetos se cubre con isotiocianato de fluoresceína y la presencia o ausencia de anticuerpos se determina por medio de microscopía fluorescente. La modificación de este método que se emplea actualmente es la prueba del FTA-ABS (absorción de anticuerpos tre-

ponémicos fluorescentes), en la cual los sueros de prueba son preabsorbidos con treponemas de Reiter previamente desintegrados por medio de ondas ultrasónicas para eliminar los anticuerpos de grupo. (19,25,29).

Una última aportación a la serología de la sífilis es el desarrollo de un método de hemaglutinación llamado MHA-TP (Microhemaglutinación del T. pallidum), es altamente específico y es tan sensible como la prueba del FTA-ABS, excepto en la sífilis primaria. En la MHA-TP se utilizan glóbulos rojos de carnero, los cuales han sido tratados para que adsorban treponemas en su superficie. Cuando se mezclan con suero que contiene anticuerpos antitreponema, los eritrocitos se aglutinan. Experiencias posteriores con este método permitirán determinar su utilidad como prueba primaria para confirmar la enfermedad. (2,5,8,21).

Todas las pruebas serológicas disponibles para la sífilis producen ocasionalmente resultados reactivos en pacientes en quienes no hay evidencia de infección sifilítica. Estas reacciones habitualmente se denominan "falsos positivos biológicos" (FPB) para distinguirlas de reacciones positivas debidas a errores técnicos. La mayoría de los FPB ocurren con pruebas no treponémicas (inespecíficas). (3, 6,32).

Para propósitos clínicos, las reacciones FPB pueden clasi-

ficarse como agudas, en las cuales la reactividad desaparece en seis meses y crónicas, en las cuales la reactividad persiste. (32).

FALSOS POSITIVOS BIOLÓGICOS AGUDOS. Las dos terceras partes de las reacciones FPB son de este tipo y ocurren en pacientes con otras enfermedades agudas, especialmente Neumonía, Hepatitis, Endocarditis Bacteriana Subaguda, Varicela, Mononucleosis Infecciosa, Escarlatina, Vacunaciones y enfermedad exantematosa viral (cuadro No. 3). El pronóstico de la salud del paciente no es afectado por el hallazgo. El título de anticuerpos habitualmente es bajo menor de 1:8 y en muchos casos el FTA-ABS no es reactivo. (11,13,32).

FALSOS POSITIVOS BIOLÓGICOS CRÓNICOS. Muchos pacientes con reacciones FPB crónicas presentan o desarrollan enfermedad sistémica. La drogadicción, Hepatitis crónica, vejez, Lepra Lepromatosa y colagenopatías se asocian con estas reacciones. El anticuerpo detectado con la prueba del VDRL en reacciones FPB crónicas es predominantemente IgM, mientras que en la sífilis es principalmente IgG. Los pacientes con reacciones FPB crónicas y Lupus eritematoso Sistémico comúnmente presentan FTA-ABS reactivo. (cuadro No. 4). (20,32).

CUADRO 3

Condiciones reportadas que producen
reacciones FPB agudas

Bronquitis
Chancro blando
Coccidioidomicosis
Difteria
Hepatitis
Influenza
Leptospirosis
Linfogranuloma venéreo
Paludismo
Mononucleosis Infecciosa
Ictericia
Sarampión y Rubéola
Angina parótida
Pelagra
Neumonía bacteriana y viral
Embarazo
Rinitis
Escarlatina
Septicemia
Tiña
Tripanosomiasis (poco común)
Tuberculosis
Tifo
Vacunaciones
Varicela
Angina de Vincent

CUADRO 4

Condiciones reportadas que producen reacciones FPB crónicas	
Enfermedad de Addison	Bejel
Dermatitis atópica	Brucelosis
Enfermedad autoinmune	Dermatomiositis
Cirrosis hepática	Epilepsia
Enfermedad de la colágena	Glomerulonefritis
Enfermedad de tejido conectivo	Anemia hemolítica
Diabetes mellitus	Anemia perniciosa
Eritema nudoso	Histoplasmosis
Tiroiditis de Hashimoto	Lepra
Púrpura trombocitopénica	Linfosarcoma
Lupus eritematoso	Mieloma múltiple
Leucemia linfocítica	Pinta
Condiciones alérgicas mayores	Fiebre reumática
Carcinomatosis	Artritis reumática
Infarto al miocardio	Sarcoidosis
Drogadicción	Escleroderma
Periarteritis nudosa	Vejez
Tuberculosis	Pian o frambesia
Crioglobulinemia	Paludismo (usualmente
Disproteïnemia	ocurre en FPB agudos).

Desde 1946, la penicilina es el antibiótico de elección para esta infección tanto en los animales de experimentación como en el hombre. No existen evidencias aún de que la resistencia del microorganismo a la penicilina haya aumentado durante las últimas tres décadas, por este motivo, continúa siendo el único agente antimicrobiano utilizado para el tratamiento de todos los estadios de la sífilis. La concentración mínima inhibitoria de penicilina para el T. pallidum es de aproximadamente 0.004 unidades por mililitro, lo que hace que sea uno de los microorganismos patógenos más sensibles. (3,16,28,32).

En 1981, Sandra A. Larsen, Edith A. Hambie y colaboradores realizaron unos estudios en los Estados Unidos en donde probaron la especificidad, sensibilidad y reproducibilidad entre el FTA-ABS, la MHA-TP y la Hemaglutinación para el T. pallidum, utilizando 920 sueros y encontraron que las tres pruebas daban resultados comparables. No obstante, la prueba de Hemaglutinación y la de Microhemaglutinación (MHA-TP) para detectar anticuerpos contra el microorganismo eran poco sensibles en pacientes con sífilis primaria. (17).

Thomas W. Huber y colaboradores en 1982 encontraron que la reactividad de los sueros de 109 pacientes con una infección primaria fue de un 98.2 % en la prueba del FTA-ABS, 92.7% en el RPR, 72.5% en la MHA-TP y un 72.5% en

el VDRL. (15).

En 1978, se probaron 628 sueros de personas normales y con una variedad de distintas enfermedades y condiciones. Se les practicaron las pruebas del RPR, VDRL, FTA-ABS y MHA-TP para comparar la especificidad de estos métodos. La MHA-TP dió el porcentaje más bajo de reacciones falsas positivas (1.6%), le siguió el FTA-ABS con un 3.3% y la prueba que más porcentaje de reacciones falsas positivas presentó fue el RPR con un 10.8%. (24,33,34).

Puesto que en nuestro país, la sífilis es un problema de salud pública, es importante establecer pruebas de diagnóstico confiables y fáciles de realizar a nivel de cualquier laboratorio de Análisis Clínicos.

Por tal motivo, el propósito de este trabajo es detectar semicuantitativamente la presencia de anticuerpos contra el Treponema pallidum con la técnica de MHA-TP y la presencia de anticuerpos reagínicos con las pruebas del VDRL y el RPR con el objeto de evaluar parámetros importantes como son la reproducibilidad, sensibilidad, especificidad, precisión y exactitud de las técnicas utilizadas.

M A T E R I A L E S Y M E T O D O S

En este estudio se recolectaron 175 sueros de pacientes con reacciones luéticas positivas, las muestras se obtuvieron de diferentes hospitales, Centros de Salud y Laboratorios privados de las ciudades de Monterrey N.L., Reynosa y Río Bravo Tamps., en el transcurso de los meses de Enero a Abril de 1984. A cada uno de los sueros se les practicaron las pruebas de RPR (Rapid Plasma Reagin) y VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) en forma cualitativa y cuantitativa, y la prueba semicuantitativa de MHA-TP (Microhemaglutinación del Treponema pallidum), llevándose a cabo en el Laboratorio de Análisis Clínicos de

la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Monterrey.

A. METODO CUALITATIVO PARA LA PRUEBA DEL RPR. (*)

1. Colocar en un círculo de la tarjeta una gota de suero del paciente.
2. Agregar una gota de antígeno (*).
3. Mezclar perfectamente.
4. Mantener la tarjeta en rotación por 8 minutos.
5. Interpretar los resultados macroscópicamente.

B. METODO CUANTITATIVO PARA LA PRUEBA DEL RPR. (*)

1. Colocar 0.5 ml. de solución salina 0.9% (1) recién preparada en una serie de tubos.
2. Agregar 0.5 ml. de suero al primer tubo y mezclar.
3. Transferir 0.5 ml. del primer al segundo tubo, mezclar y continuar esta operación hasta el último tubo.
4. Descartar 0.5 ml. del último tubo.
5. Colocar una gota de cada dilución en distintos círculos de la tarjeta.
6. Agregar una gota de antígeno (*) a cada gota de suero diluido.

(*) RPR, Bioclin, S. A.

(**) VDRL, BIO LAB, S. A.

(***) Cellognost-Sífilis, Química Hoechst.

7. Mezclar perfectamente.
8. Mantener la tarjeta en rotación por 8 minutos.
9. Interpretar los resultados macroscópicamente.

C. METODO CUALITATIVO PARA LA PRUEBA DEL VDRL. (**)

1. Inactivar el suero durante media hora a 56°C .
2. Colocar 0.05 ml. del suero recién inactivado en una concavidad de la placa de titulación.
3. Agregar una gota (1/60 ml.) de la emulsión antigénica (**).
4. Agitar la placa por 4 minutos en una superficie lisa.
5. Observar microscópicamente con el objetivo de 10 X.
6. Interpretar los resultados.

D. METODO CUANTITATIVO PARA LA PRUEBA DEL VDRL. (**)

1. Inactivar el suero durante media hora a 56°C .
2. Colocar 0.5 ml. de solución salina 0.9% (1) recién preparada en una serie de tubos.
3. Agregar 0.5 ml. del suero recién inactivado al primer tubo y mezclar.
4. Transferir 0.5 ml. del primer al segundo tubo, mezclar y continuar esta operación hasta el último tubo.
5. Descartar 0.5 ml. del último tubo.
6. Colocar 0.05 ml. de las diluciones en cada una de

las concavidades de la placa de titulación.

7. Agregar una gota (1/60 ml.) de la emulsión anti-génica (***) a cada dilución.
8. Agitar la placa por 4 minutos en una superficie lisa.
9. Observar microscópicamente con el objetivo de 10 X.
10. Interpretar los resultados.

E. METODO SEMICUANTITATIVO PARA LA MHA-TP. (***)

I. Absorción de Aglutininas Inespecíficas.

1. Mezclar 0.020 ml. de suero, 0.005 ml. de Células de Absorción (***) y 0.175 ml. de Medio de Absorción (***)).
2. Incubar 30 minutos a temperatura ambiente.
3. Centrifugar 2 minutos a 2000 r.p.m.
4. Utilizar el sobrenadante.

II. Método Semicuantitativo.

1. Colocar 0.025 ml. de Medio de Absorción (***) en las cavidades 3 y 4.
2. Colocar 0.025 ml. del suero previamente absorbido en las cavidades 1, 2 y 3.
3. Mezclar por rotación del dilutor el contenido de la cavidad 3.
4. Transferir 0.025 ml. de la cavidad 3 a la cavidad 4.

5. Descartar 0.025 ml. de la cavidad 4.
6. Agregar 0.025 ml. del Medio de Absorción (***) a las cavidades 1, 2, 3 y 4.
7. Colocar 0.050 ml. del Reactivo Control (***) en la cavidad 1.
8. Colocar 0.050 ml. del HIA Cellognost-Sífilis (***) en las cavidades 2, 3 y 4.
9. Agitar la placa manualmente o con un vibrador mecánico.
10. Cubrir la placa (con laminilla de plástico o de vidrio) y dejarla reposar durante 2 a 3 horas a temperatura ambiente en un lugar libre de vibraciones y protegidos de la luz solar directa o del calor excesivo.

III. Pruebas Control.

Por cada serie de determinaciones se usarán 2 hileras de la placa de microtitulación para pruebas de control.

HILERA 1.

1. Pipetear 0.100 ml. de Medio de Absorción (***) en la primera cavidad y 0.025 ml. en las cavidades 2 al 5.
2. Colocar 0.025 ml. de Suero Control Negativo (***) en la primera cavidad y mezclar perfectamente.

3. Transferir 0.025 ml. de la primera cavidad a la segunda y subsecuentemente a la cavidad 3, después de mezclar perfectamente, descartar 0.025 ml.
4. Colocar 0.075 ml. del Reactivo Control (***) en la cavidad 2 y 4; y 0.075 ml. del Reactivo HIA (***) en las cavidades 3 y 5.

HILERA 2.

1. El suero Control Positivo (***) se prueba como cualquier suero normal, pero sin la absorción de aglutininas, utilizando el método semicuantitativo para evaluarlo.

F. INTERPRETACION DE RESULTADOS.

Prueba del RPR.- La coaglutinación producida al mezclar la suspensión de antígeno con un suero positivo puede ser leída macroscópicamente ya que se formarán grumos negros y con suero negativo se tendrá una suspensión homogénea.

Prueba del VDRL.- Las reacciones se leen microscópicamente, con el objetivo seco débil (10X). Las partículas del antígeno aparecen en forma de cilindros cortos a este aumento y dependiendo del tamaño de los conglomerados de éstas, se interpretan los diferentes grados de positividad.

LECTURA

Sin grumos o con leve grado de aspereza.	NEGATIVO (N)
Grumos pequeños.	DEBIL POSITIVO (DP)
Grumos medianos y grandes.	POSITIVO (P)

Prueba de MHA-TP.- Para observar las placas, se colocan sobre un espejo de tal forma que se pueda observar el patrón de sedimentación desde abajo. Si es necesario, la placa puede leerse desde la parte superior contra un fondo blanco.

PATRON

RESULTADO

Los eritrocitos uniformemente dispersos sobre el fondo del pozo. Los bordes de el aglutinado ocasionalmente rugosos.	Positivo
Sedimentación de bordes indefinidos, grumoso.	Positivo
Anillo o punto agrandado con bordes ligeramente irregulares.	Positivo
Anillo bien definido, compacto o puntos con iguales características.	Negativo

Para la evaluación de los resultados, los patrones de aglu-

tinación del suero control positivo deben observarse cuidadosamente.

Si se observa una reacción de aglutinación con el reactivo control, significará que los anticuerpos heterófilos han interferido en la prueba, por lo tanto, deben eliminarse del suero tratándoles con las células de absorción (Absorción de Aglutininas).

G. REACTIVOS.

SOLUCION SALINA 0.9 % .

Cloruro de Sodio 0.9 g

Agua destilada 100.0 ml

Se disuelve la sal y se afora a 100 ml.

R E S U L T A D O S

Para evaluar la especificidad de la técnica de MHA-TP, se utilizaron 175 muestras de suero que presentaban reacciones positivas con las pruebas del RPR y VDRL. Los resultados obtenidos en los tres tipos de métodos estudiados se muestran en la tabla No. 1.

En la figura No. 1 se muestra la sensibilidad y reactividad entre el RPR y el VDRL, en base a los títulos de anticuerpos y al número total de pacientes, en donde se observa que de los 175 sueros procesados, sólo 99(56.57%) coincidieron en el título, y de los 76(43.43%), 73 varia-

ron en ± 1 título, de los cuales 61(83.56%) presentaron un título más alto en la prueba del RPR y 12(16.44%) en el VDRL. Los 3 sueros restantes, variaron en ± 2 diluciones y en 2 de ellos se obtuvieron títulos mayores en el RPR.

Se obtuvo una recta de regresión lineal con los títulos de anticuerpos obtenidos en los métodos de RPR y VDRL, mostrando los resultados en la Gráfica No. 1. El coeficiente de correlación (r de Pearson) evaluado fue igual a 0.9442.

En la tabla No. 2, se presenta el número de sueros que coincidieron en el título de anticuerpos en las pruebas de RPR y VDRL en relación a la seropositividad de la MHA-TP para cada dilución. De los 99 sueros, sólo 86 presentaron la reacción de MHA-TP positiva, probando de esta forma la especificidad del método.

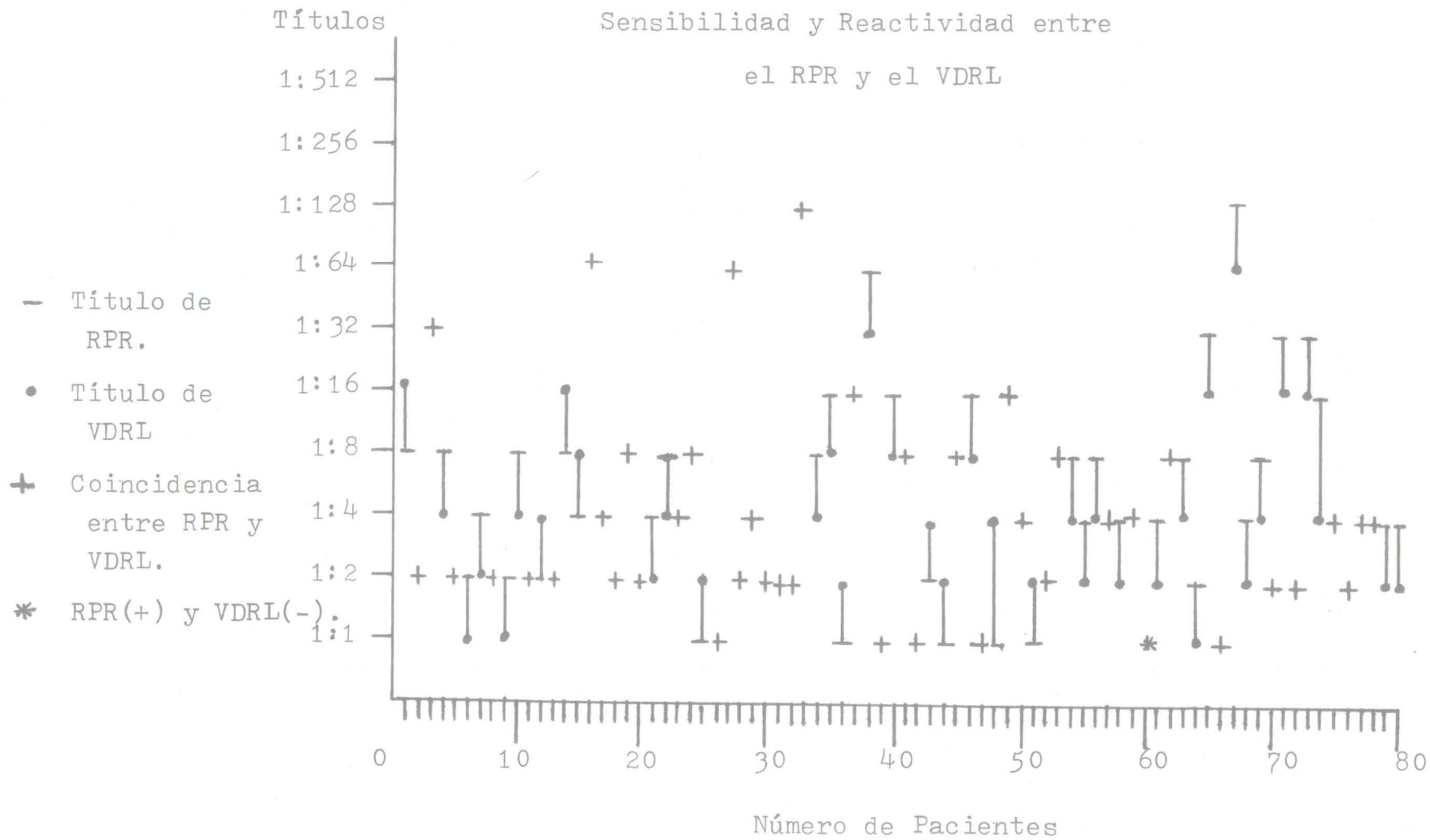
TABLA 1

Porcentaje de Seropositividad
 en los Métodos de:
 RPR, VDRL y MHA-TP

METODO	POSITIVOS	%	NEGATIVOS	%
RPR	175	100	0	0
VDRL	174	99.43	1	0.57
MHA-TP	153	87.42	22	12.58

Total de casos; 175

Figura 1

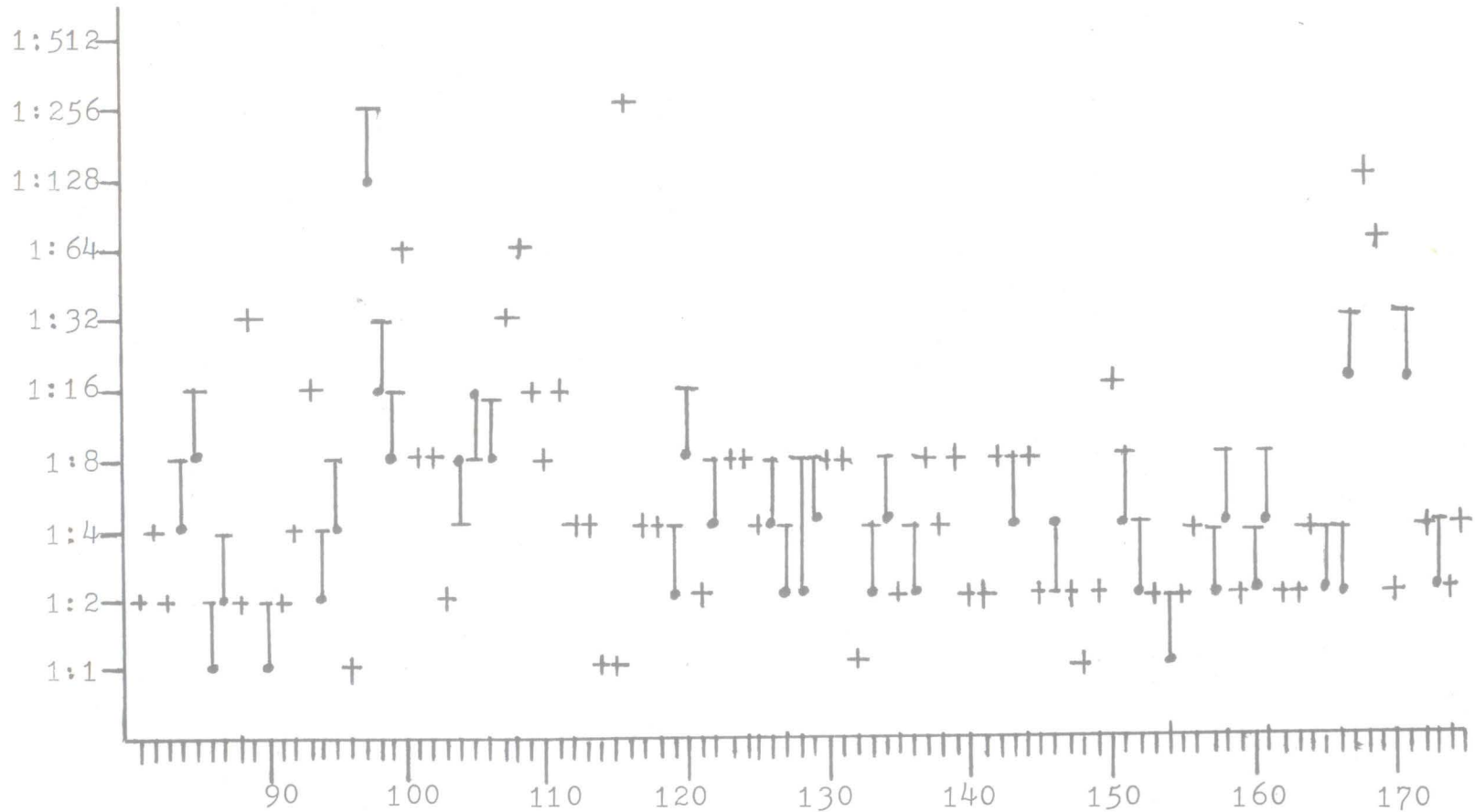


- 33 -

Figura 1 (Continuación)

Títulos

- 34 -



Número de Pacientes

GRAFICA 1

Recta de Regresión Lineal
entre RPR y VDRL

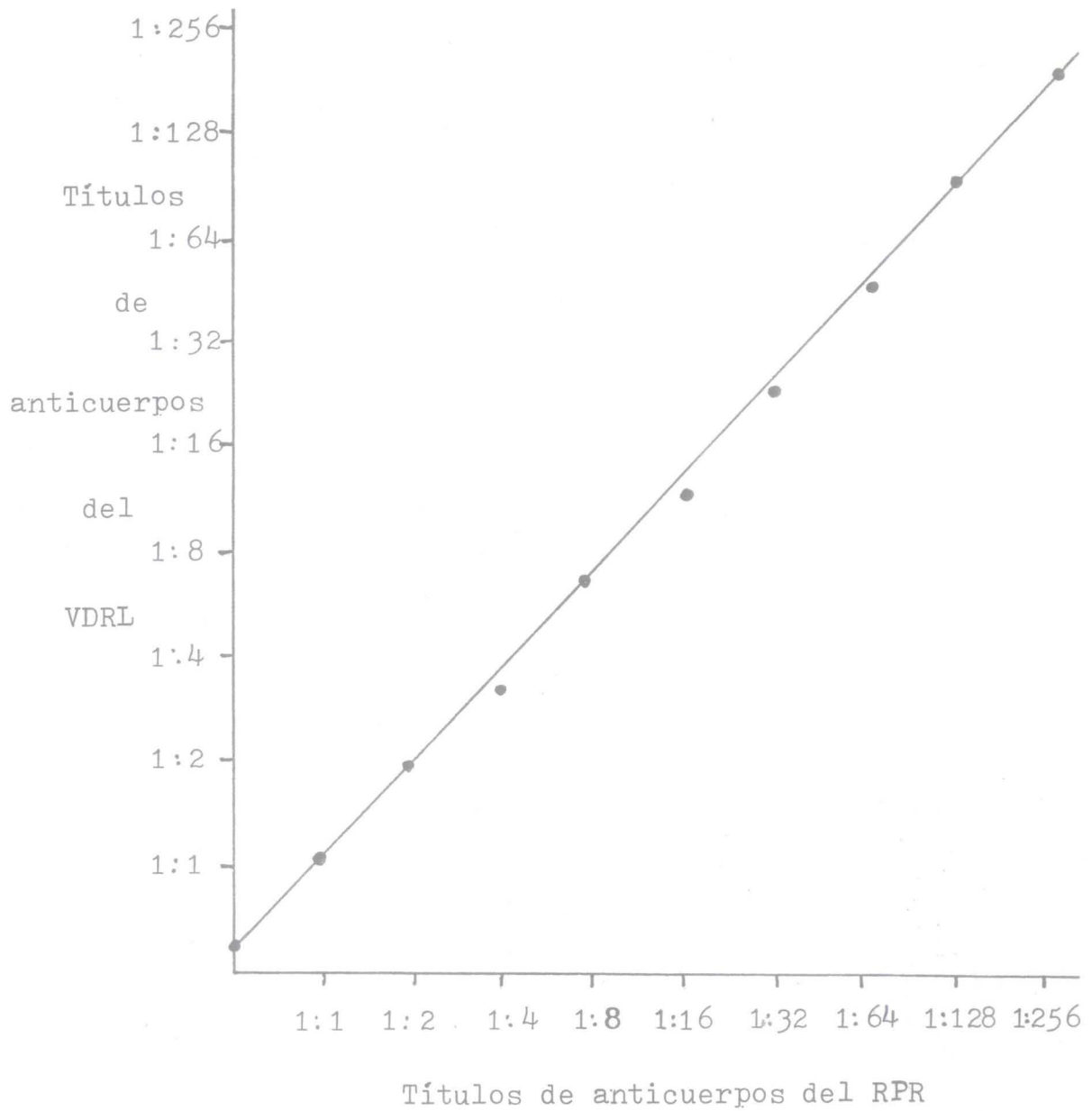


TABLA 2

Correlación entre los títulos de RPR
y VDRL con la Seropositividad de
la MHA-TP

DILUCION	COINCIDENCIA DE RPR Y VDRL	MHA-TP(+)
1:1	10	6
1:2	34	28
1:4	19	18
1:8	19	19
1:16	6	6
1:32	3	3
1:64	5	4
1:128	2	1
1:256	1	1
Total	99	86

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos de las 175 muestras analizadas, presentan una seropositividad de 100% en la prueba del RPR, 99.42% en el VDRL y 87.42% en la MHA-TP, lo cual significa que la frecuencia de reacciones falsas positivas fue de un 12.58%.

Para comprobar este tipo de reacciones y evaluar la especificidad del método de MHA-TP, se agregaron en este estudio sueros de pacientes con diversas enfermedades como las de Lupus Eritematoso, Tuberculosis, Lepra, Fiebre Reumática y Artritis Reumática, los cuales presenta-

ron títulos altos en el RPR y VDRL y la reacción de MHA-TP fue negativa. Estos resultados concuerdan con otras investigaciones reportadas en la literatura.

Respecto a los sueros con MHA-TP negativa y reacciones inespecíficas positivas, se puede inferir la posibilidad de:

- 1) Que el paciente padezca otra enfermedad que de lugar a la producción de anticuerpos reagínicos.
- 2) Que el paciente se encuentre en la primera o segunda semana después de la infección, puesto que la MHA-TP generalmente es negativa en la etapa temprana de la sífilis primaria.

En relación a la sensibilidad entre el RPR y el VDRL, se encontró que el RPR es más sensible, porque tuvo la capacidad de detectar anticuerpos a diluciones mayores en el 83.56% de los sueros.

La reactividad de ambas pruebas fue similar, comprobándose estadísticamente con el coeficiente de correlación (r de Pearson), el cual mide que tanto se ajustan los datos muestrales a la recta de regresión lineal. Si la

variación total se explica sólo por la recta de regresión y si $r = \pm 1$, se dice que hay una correlación lineal perfecta. El valor obtenido en este estudio fue de $r = 0.9442$, por lo tanto se puede concluir que la recta de regresión lineal obtenida, cae en una perfecta concordancia de reactividad entre el RPR y el VDRL.

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto, se recomienda el uso de ambas pruebas en forma cualitativa (Prueba de Escrutinio) considerando las ventajas y desventajas de cada método como por ejemplo la adquisición de reactivos, costo, rapidez de la técnica, exactitud, precisión, sensibilidad, reproducibilidad y especificidad. Sin embargo, para seguir la evolución de la enfermedad y su respuesta al tratamiento, se debe utilizar la prueba del VDRL en forma cuantitativa, porque se ha comprobado en otros estudios que de las pruebas inespecíficas, el VDRL es la más específica. En este trabajo no fue posible evaluar la especificidad del VDRL en relación al RPR, porque el número de muestras tratadas no fue representativo como en otras investigaciones.

Para demostrar la veracidad de los resultados, se manejó un sistema de control de calidad basado en:

- 1) Utilizar controles positivos y negativos en

cada una de las técnicas.

- 2) Verificar la limpieza del material utilizado en cada prueba.
- 3) Considerar los factores ambientales, principalmente temperaturas e intensidad de luz solar (la cual interfiere en el método de MHA-TP).
- 4) Preparar los reactivos con agua bidestilada.
- 5) Llevar un control de la fecha de caducidad de los reactivos, así como verificar que pertenezcan a un mismo lote.

Se ha demostrado que en nuestro país, el diagnóstico de la sífilis se basa en el resultado de las pruebas inespecíficas en lugar de apoyarlo con métodos específicos como lo es el de Inmunofluorescencia (FTA-ABS) y la Microhemaglutinación (MHA-TP).

Considerando que la prueba del FTA-ABS requiere reactivos e instrumental costosos como lo es el Microscopio de Fluorescencia, es difícil adaptarla a la mayoría de los laboratorios clínicos, en cambio, la MHA-TP a pesar de que tiene una especificidad un poco menor, es más factible de realizarla, tomando en cuenta que no requiere instrumental sofisticado ni reactivos complejos.

Espero que después de la realización de este estudio, logre obtener resultados y orientaciones valiosas que conduzcan a proporcionar datos significativos y nuevos horizontes encaminados hacia un solo propósito que tiene vigencia y valor universal como es "la preservación de la salud del ser humano".

R E S U M E N

Con el fin de evaluar la especificidad, sensibilidad y reactividad de tres métodos para el diagnóstico de la sífilis como lo son el RPR, VDRL y MHA-TP, se analizaron 175 sueros de pacientes con reacciones luéticas positivas.

De las tres pruebas utilizadas, la que presentó mayor especificidad y sensibilidad fue la MHA-TP. En relación a las inespecíficas, se observó que el RPR fue más sensible que el VDRL, sin embargo la reactividad de ambas fue similar, comprobándose ésta con el coeficiente de correlación ($R=0.9442$).

B I B L I O G R A F I A

1. Bauer, J. D. 1982. Clinical Laboratory Methods. 9 th. ed. Mosby Co., St. Louis, Mo.
2. Blum, G., P. D. Ellner et al. 1973. Reliability of the Treponemal Hemagglutination Test for the Serodiagnosis of Syphilis. J. Infect. Dis. 127: 321-324.
3. Boyd, R. F. and B. G. Hoerl. 1981. Basic Medical Microbiology. 2nd. ed. Little, Brown and Co., U. S. A.

4. Bracero, L., G. P. Wormsen. and E. J. Bottone. 1979. Serologic Test for Syphilis; A Guide to Interpretation in Various Stages of Disease. J. Med. Mount Sinai, 46: 289-292.
5. Burkhardt, F. 1978. New Rutine Diagnosis for Syphilis: Treponema pallidum-HIA Test. Med. Lab. 4: 35-39.
6. Cave, V. G. and J. A. Nikitas. 1976. Venereal Disease Clinical and Laboratory Diagnoses. J. Med. Mount Sinai, 43: 795-829.
7. Davis, B. D., R. Dulbecco y cols. 1974. Tratado de Microbiología. Salvat Editores, Barcelona, España.
8. Dyckman, J. D., S. Storms and T. W. Huber. 1980. Reactivity of Microhemagglutination, Fluorescent Treponemal Antibody Absorption and Venereal Disease Research Laboratory in Primary Syphilis. J. Clin. Microbiol. 12: 629-630.
9. Finegold S. M. and W. J. Martin. 1982. Diagnostic Microbiology. 6 th. ed. Mosby Co., St Louis, Mo.
10. Frobisher, M. y R. Fuerst. 1976. Microbiología. 13a.

ed. Interamericana, México, D. F.

11. Garner, M. F., J. L. Backhouse, G. Daskalopoulos, and J. L. Walsh. 1973. The Treponema pallidum Haemagglutination (TPHA) Test in Biological False Positive and Leprosy Sera. J. Clin. Path. 26: 258-260.
12. Garretta, M., A. Muller and A. Valsman. 1977. Syphilis and Blood Transfusion. Fr. Transfus. Sang. 20: 287-308.
13. Gibowski, M. and E. Neumann. 1980. Non-specific positive test results to Syphilis in Dermatological Diseases. Br. J. Vener. Dis. 56: 17-19
14. Hagedorn, H. and P. Naumann. 1979. Present-day Serological diagnosis of Syphilis: Comparison of TPHA and FTA-ABS Test with Classical Flocculation and Complement-Fixation. J. Microbiol. 6: 209-214.
15. Huber, T. W. et al. 1983. Reactivity of Microhemagglutination, Fluorescent Treponemal Antibody Absorption, Venereal Disease Research Laboratory, and Rapid Plasma Reagin Test in Primary Syphilis. J. Clin. Microbiol. 17: 405-409.

16. Jawetz, E., J. L. Melnick y E. A. Adalberg. 1981. Microbiología Médica. 9a. ed. El Manual Moderno, México, D. F.
17. Larsen, S. A., E. A. Hambie et al. 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.
18. Le Clair, R. A. 1971. Evaluation of a Qualitative Hemagglutination Test for Antibodies to Treponema pallidum. J. Infect. Dis. 123: 668-670.
19. Moller, F. 1978. Syphilis: Current Immunological Diagnostics. Med. Lab. 4: 26-34.
20. Moreira, R., L. R. Garza, R. Garza. 1983. Diagnóstico de Sífilis por Métodos de Laboratorio. Reportes de Laboratorio para Médicos 2: 21-24.
21. Mostratos, A. and A. A. Al-Qudah. 1982. Reiter Hemagglutination Test: A Screening Test for Syphilis. Br. J. Vener. Dis. 58: 281-285.

22. Oriel, J. D. 1982. Serological Test for Syphilis. J. British Med. 285: 759-761.
23. Pelcazar, M. J., R. D. Reid, E. C. S. Chan. 1982. Microbiología. 4a. ed. Mc Graw-Hill, México, D. F.
24. Peter, C. R., M. A. Thompson, and D. L. Wilson. 1979. False-Positive Reactions in the Rapid Plasma Reagin-Card, Fluorescent Antibody-Absorbed, and Hemagglutination Treponemal Syphilis Serology Test. J. Clin. Microbiol. 9, 372-396.
25. Reed, E. L. 1968. FTA-ABS Confirmation of Non-Treponemal Tests (VDRL - RPRC). In FTA-ABS Test Seminar, Maryland.
26. Roxas, G. P., A. D. Roxas., R. W. Brangle and A. W. Neilson. 1969. Evaluation of the Rapid Plasma Reagin Card Test (RPRCT) for Serodiagnosis of Syphilis. Med. Miss. Baltimore, Md.
27. Scotti, A. T. and L. Logan. 1981. A Specific IgM Antibody Test in Neonatal Congenital Syphilis. Br. Clin. and Lab. 73: 242-243.

28. Smith, D. T., D. S. Martin y cols. 1951. Bacteriología de Zinsser. 9a. ed. Hispano-América, México, D. F.
29. Suescun, F., N. Cedil y M. Sánchez. Estudio Comparativo entre dos pruebas confirmatorias de Sífilis; El MHA-TP y el FTA-ABS. Instituto de Seguros Sociales Oficina Seccional de Cundinamarca.
30. Talaska, F. F. 1980. A Manual of Laboratory Diagnostic Test. J. B. Lippincott Co., U. S. A.
31. Tuffanelli, D. L., K. D. Wuepper et al. 1967. Fluorescent Treponemal-Antibody Absorption Test. N. Engl. J. Med. 276: 258-260.
32. Wolfgang, K. J., H. P. Willett y D. B. Amos. 1983. Zinsser Microbiología. 17a. ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, Argentina.
33. Wuepper, K. and D. L. Tuffanelli. 1966. False-Positive Reaction to VDRL Test with Prozone Phenomena. JAMA. 195: 180-181.
34. Wuepper, K., L. Howard and D. L. Tuffanelli. 1966.

Serologic Test for Syphilis and False-Positive Reactor. Arch. Derm. 94: 152-155.

35. Youmans, G. P. et al. 1975. The Biologic and Clinical Basis of Infectious Diseases. W. B. Saunders Co., Philadelphia.