

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

ESCUELA DE BIOANÁLISIS

DISERTACIÓN PREVIA A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE  
BIOQUÍMICA CLÍNICA

ESTABLECIMIENTO DE UN ALGORITMO DE DETECCIÓN DEL  
MARCADOR SEROLÓGICO DE SÍFILIS EN DONANTES  
VOLUNTARIOS DEL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL CARLOS  
ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO 2015

AGUAIZA GALABAY VERÓNICA PATRICIA

DIRECTORA: Máster. Rosa Chiriboga Ponce.

QUITO, 2016

## **DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN**

Yo, AGUAIZA GALABAY VERÓNICA PATRICIA, C.I.número; 1724357767 autora del trabajo de graduación intitulado: ESTABLECIMIENTO DE UN ALGORITMO DE DETECCIÓN DEL MARCADOR SEROLÓGICO DE SÍFILIS EN DONANTES VOLUNTARIOS DEL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO 2015, previa a la obtención del grado académico de BIOQUÍMICA CLÍNICA en la Escuela de Bioanálisis:

1.- Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tiene la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, de conformidad con el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de Información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.

2.- Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a difundir a través de sitio web de la Biblioteca de la PUCE el referido trabajo de graduación, respetando las políticas de propiedad intelectual de la Universidad.

Verónica Patricia Aguaiza Galabay, C.I. 1724357767

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por haberme dado la suficiente fortaleza y sabiduría cada día de mi vida.

A mis padres Carlos y Piedad con mucho cariño por ser el pilar fundamental en mi vida estudiantil siempre contando con su apoyo y por haberme proporcionado los recursos necesarios para estudiar y terminar mi carrera con éxito. Por creer en mí, por demostrarme que siempre podré contar con su guía para seguir creciendo como persona y profesional.

Con cariño,

*Verónica*

## **AGRADECIMIENTO**

Tengo que agradecer a mi Dios todo poderoso quien me ha dado la suficiente sabiduría y ser prodigio con mi inteligencia.

A mis padres Carlos y Piedad por haberme respaldado y apoyado en esta etapa de mi educación, enseñándome que cada día con dedicación y esfuerzo se alcanza el éxito.

A mi directora de tesis, Rosita Chiriboga por toda su confianza depositada y paciencia que con sus conocimientos, experiencia y motivación ha logrado en mí la motivación necesaria para alcanzar este proyecto.

También agradezco a la Lcda. Martita Gabela quien me permitió realizar este proyecto en las instalaciones del Banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín, además por su colaboración en el suministro de los datos necesarios para la realización de este estudio.

Agradezco a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador por haberme dado la oportunidad de cursar en sus aulas y permitirme aprender a través de mis profesores todo el conocimiento necesario acorde a los principios éticos y morales de mi centro educativo.

No puedo dejar de lado a toda mi familia que de una u otra forma han sido mi soporte durante toda esta etapa.

A mis amigas por brindarme su amistad y siendo parte de mi vida universitaria gracias por los grandes momentos que vivimos juntas en este tiempo, hoy sé que contare con ustedes siempre.

## RESUMEN

### ESTABLECIMIENTO DE UN ALGORITMO DE DETECCIÓN DEL MARCADOR SEROLÓGICO DE SÍFILIS EN DONANTES VOLUNTARIOS DEL BANCO DE SANGRE DEL HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARÍN EN EL PERIODO 2015

**Introducción:** En la actualidad el tamizaje serológico de donantes en bancos de sangre es fundamental para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas por vía sanguínea, realidad que sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que existen 12 millones de nuevos casos de sífilis en todo el mundo y más del 90% de casos ocurren en países en desarrollo, mismos que deben ser monitoreados y controlados minuciosamente; ya que constituyen un factor potencial de transmisión de esta enfermedad infecciosa a través de transfusión de sangre. La variabilidad de los anticuerpos contra *T. pallidum* en diferentes estadios de la enfermedad, no permite que los resultados de una sola prueba sean suficientes para el diagnóstico de sífilis; por tanto es necesario implementar un algoritmo de detección eficiente utilizando varias pruebas y así evitar el descarte innecesario de hemocomponentes. **Materiales y Métodos:** Este estudio es de tipo descriptivo transversal donde se estableció un algoritmo de detección de sífilis, no se manipuló ninguna variable y se llevó a cabo en un tiempo determinado desde enero a diciembre de 2015. Se analizó un total de 384 muestras de donantes con serología reactiva para el marcador serológico de sífilis del banco de Sangre del Hospital Carlos Andrade Marín. Con las muestras obtenidas se realizó la prueba no treponémica VDRL y las pruebas treponémicas de EIA y FTA. **Resultados:** Existe un alto porcentaje de donaciones compensatorias y una prevalencia de sífilis de 74,47% en pruebas no treponémicas y 42,96% en treponémicas. Finalmente se identificó la existencia de resultados falsos positivos tanto en las pruebas no treponémicas y treponémicas y el análisis de parámetros de validez de las pruebas diagnósticas determinó una elevada sensibilidad y baja especificidad con un valor de verosimilitud negativo cercano a 0. **Conclusiones y Recomendaciones:** Las pruebas para identificación de donantes portadores de sífilis deben ser utilizadas en conjunto por lo que se recomienda el uso de la secuencia inversa para el tamizaje de donantes de sangre, empezando con la prueba treponémica y para confirmar el resultado obtenido con una segunda prueba treponémica diferente a la primera.

## ABSTRACT

*APPROACH A DETECTION ALGORITHM FOR THE SEROLOGICAL SYPHILIS MARKER IN VOLUNTEER BLOOD DONORS FROM THE BLOOD BANK OF THE "HOSPITAL CARLOS ANDRADE MARIN" IN THE PERIOD OF 2015*

**Introduction:** Nowadays the serological screening in blood banks is crucial to stop the transmission of infectious diseases by blood transfusion. It remains to be a public health problem worldwide. The World Health Organization (WHO) estimates that there are 12 million cases of syphilis in the world, and more than 90% occur in developing countries. These cases must to be carefully controlled and monitored; because it seems to be a potential factor of syphilis spread by blood transfusion. The variability of *T. pallidum* antibodies in the different stages of the disease disturbs the results in a single test causing an inefficient diagnosis of syphilis. That's why we purpose to deploy an efficient detection algorithm by using several tests, so we should stop the unnecessary discard of blood components. **Materials and Methods:** This study is kind of transversal descriptive where we approach a detection algorithm of syphilis. We do not manipulate any variables, and we precede the project from January to December 2015. A total of 384 samples from serological reactive donors, positive for syphilis, were analyzed. The samples were took from the "Hospital Carlos Andrade Marin", and were tested by non treponemal test (VDRL) and the treponemal tests (EIA and FT). **Results:** There are a high percent of compensatory blood donors, and 74.47% of the non treponemal tests have syphilis prevalence, also we have 42.96% in treponemal tests. Finally we identify the existence of false positives in the non treponemal tests as in treponemal tests, and the validity parameter analysis in the diagnosis tests showed high sensibility but low specificity with a negative verisimilitude near to 0. **Conclusions and Recommendations:** The analysis tests for syphilis donor patients must be use in group. So we recommended to make the reverse sequence for the blood donors screening, starting with a treponemal probe different of the first one to improve the results.

## TABLA DE CONTENIDOS

LISTA DE TABLAS.....	3
LISTA DE GRÁFICOS.....	4
ANEXOS .....	5
LISTA DE SIGLAS .....	6
CAPÍTULO I.....	9
1.1 JUSTIFICACIÓN.....	9
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	10
1.3 OBJETIVOS .....	12
1.3.1 Objetivo general.....	12
1.3.2 Objetivos específicos .....	12
1.3.3 Limitaciones del estudio .....	12
CAPÍTULO II .....	13
2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL .....	13
2.1.1 Antecedentes .....	13
2.1.2 Sífilis .....	14
2.1.3 Respuesta inmune .....	14
2.1.4 Sífilis primaria.....	17
2.1.5 Sífilis secundaria.....	17
2.1.6 Sífilis latente .....	18
2.1.7 Sífilis transmitida por transfusiones.....	18
2.2 PRUEBAS SEROLÓGICAS.....	19
2.2.1 Pruebas no treponémicas .....	19
2.2.2 Veneral Disease Research Laboratory (VDRL).....	19
2.2.3 Pruebas treponémicas.....	20
2.2.4 Pruebas de Enzimoinmunoensayo .....	20
2.2.5 FTA-ABS .....	21
2.3 MARCO CONCEPTUAL .....	27
CAPÍTULO III .....	29
3.1 MARCO METODOLÓGICO.....	29
3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
3.1.1.1 Tipo de Estudio.....	29
3.1.1.2 Tipo de Muestreo .....	29

3.1.1.3	Tamaño de Muestra.....	29
3.1.1.4	Criterios de Inclusión .....	30
3.1.1.5	Criterios de Exclusión.....	30
3.1.1.6	Control de Calidad .....	30
3.1.1.7	Análisis Estadístico .....	30
3.2	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	30
3.2.1	Variable Dependiente:.....	30
3.2.2	Variable Independiente: .....	30
3.3	MATERIALES Y PROCESO.....	31
3.3.1	Materiales .....	31
3.3.2	Reactivos .....	32
3.3.3	Procedimiento .....	32
3.3.3.1	Fase Uno .....	33
3.3.3.2	Fase Dos.....	33
3.3.3.3	Fase Tres.....	34
3.3.3.4	Fase Cuatro.....	34
3.3.3.5	Fase Cinco.....	37
	CAPÍTULO IV.....	38
4.1	RESULTADOS.....	40
4.2	DISCUSIÓN .....	49
4.3	CONCLUSIONES.....	54
4.4	RECOMENDACIONES .....	55
5.	BIBLIOGRAFÍA.....	56
6.	ANEXOS.....	61

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1:** Tabla 2x2 para cálculo de indicadores de pruebas diagnósticas.

**Tabla 2:** Preparación de VDRL cualitativo

**Tabla 3:** Preparación de ELISA

**Tabla 4.1:** Frecuencia de donantes de sangre con resultados reactivos en pruebas no treponémicas de acuerdo al tipo de donación de sangre.

**Tabla 4.2:** Frecuencia de donantes de sangre con resultados positivos en pruebas treponémicas de acuerdo al tipo de donación de sangre.

**Tabla 4.3:** Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos reactivos en prueba no treponémica VDRL-I.

**Tabla 4.4:** Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos reactivos en prueba no treponémica VDRL-II.

**Tabla 4.5:** Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos positivos y negativos en prueba treponémica EIA.

**Tabla 4.6:** Relación de los resultados obtenidos en pruebas no treponémicas y treponémicas.

**Tabla 4.7:** Determinación de los parámetros de validación de una prueba diagnóstica.

**Tabla 4.8:** Algoritmo propuesto para la detección de Sífilis

## LISTA DE GRÁFICOS

**Gráfico 1:** Curva de Levey Jennings- Sífilis

**Gráfico 2:** Control de reactivo y no reactivo

**Gráfico 3:** Control positivo y negativo

**Gráfico 4:** Resultados obtenidos en sueros de paneles de pro eficiencia y de reactividad conocida

**Gráfico 4.1:** Porcentaje de donaciones de sangre de acuerdo al tipo de donante.

**Gráfico 4.2:** Total de donaciones voluntarias y compensatorias de acuerdo al género.

## **ANEXOS**

**Anexo 1:** Formulario de autorización del donante.

**Anexo 2:** Carta de autorización de recolección de muestras.

**Anexo 3:** Inserto de FTA.

**Anexo 4:** Análisis de muestras por pruebas treponémicas y no treponémicas.

**Anexo 5:** Análisis de muestras reactivas por prueba treponémica inmunocromatográfica FTA.

## LISTA DE SIGLAS

**CDC:** Centro para el control y prevención de enfermedades

**CLIA:** Inmuno análisis de quimioluminiscencia.

**EIA:** Enzimoimnuoensayo

**FTA-ABS:** Fluorescent treponemal antibody absorption

**FP:** Falso Positivo

**FN:** Falso Negativo

**Ig:** Inmunoglobulina

**NTT:** Pruebas no treponémicas

**OMS:** Organización Mundial de la salud

**PCR:** Técnica molecular de reacción en cadena de polimerasa

**RPR:** Reagina rápida en plasma

**TT:** Pruebas treponémicas

**VDRL:** Venereal research disease laboratory

**VIH:** Virus de la Inmunodeficiencia humana

**VN:** Valor predictivo Negativo

**VP:** Valor Predictivo Positivo

## INTRODUCCIÓN

La sífilis es una enfermedad infecto-contagiosa que se transmite por contacto sexual, de madre a hijo o por transfusiones cuando el hemocomponente proviene de un donante que se encuentra con esta enfermedad activa y sus niveles de anticuerpos son indetectables. (Gagandeep Kaur, 2014)

En la actualidad, el tamizaje serológico en bancos de sangre es fundamental para evitar la transmisión de enfermedades infecciosas por vía sanguínea, además sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo. (Gagandeep Kaur, 2014) La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que existen 12 millones de nuevos casos de sífilis en todo el mundo y más del 90% ocurren en países en desarrollo, por lo tanto estos casos deben ser monitoreados y controlados; ya que son un riesgo de transmisión de esta enfermedad infecciosa a través de una transfusión sanguínea. (Gagandeep Kaur, 2014)

Debido a la gran variabilidad que existe en la formación de anticuerpos contra el *T. pallidum*, los resultados de una sola prueba no son suficientes para el diagnóstico de sífilis; por lo tanto no es posible elegir un solo método de diagnóstico ya que existe la presencia de resultados falsos positivos en las pruebas treponémicas y no treponémicas, esto puede deberse a varias causas dentro de los procesos pre analíticos, analíticos y pos analíticos. (Linda Sommese, 2016)

Al no existir protocolos estandarizados o pruebas de confirmación para el diagnóstico de sífilis, es necesario implementar un algoritmo eficiente. Actualmente existen dos algoritmos: los que son utilizados para el diagnóstico serológico de sífilis mediante una prueba no treponémica como screening, que detecta la fase activa de la enfermedad y el algoritmo inverso en el que las muestras positivas de una prueba treponémica son testadas en una no treponémica, al obtener resultados discrepantes se utilizará una tercera opción de prueba treponémica diferente a la primera. (Centers for Disease Control and Prevention, 2015).

El problema detectado para estos tipos de pruebas se acentúa debido a la interpretación fallida por la falta de un Gold estándar para diagnóstico fiable de sífilis y las pruebas treponémicas generan resultados falsos positivos, que pueden ocurrir por otras enfermedades como infecciones bacterianas, infecciones virales agudas, pos vacunación, infección por VIH y enfermedades sistémicas, además de errores técnicos que pueden ser ocasionados por la temperatura inapropiada del laboratorio, conservación incorrecta de reactivos, muestras lipémicas o contaminadas que dificultan en la lectura. La mayoría

de los casos reportados fueron descubiertos cuando los donantes se encontraban en la etapa primaria o secundaria de la enfermedad. (Morshed & Singh, 2014) (Gagandeep Kaur, 2014)

En este estudio se identificó la presencia de un alto porcentaje de resultados falsos reactivos tanto en las pruebas treponémicas como en las no treponémicas lo que ocasiona un desperdicio innecesario de hemocomponentes, además los cálculos de la validez de las pruebas revelaron que son ineficientes y que deben ser utilizadas en conjunto para una adecuada detección, de acuerdo al Center of disease control and prevention (CDC) para el tamizaje de sífilis debe utilizarse pruebas no treponémicas y seguir el algoritmo tradicional, sin embargo para el diagnóstico se requiere aplicar un algoritmo de secuencia reversa que minimice la cantidad de resultados falsos reactivos en las pruebas no treponémicas.

De acuerdo al análisis de resultados y las pruebas realizadas en el banco de sangre se optaría el algoritmo de secuencia reversa, pero deben adquirir otra prueba treponémica lo que incurre en un aumento financiero, otro aspecto sería propiciar el aumento de donación voluntaria y fomentar una adecuada selección del donante todo en obtener hemoderivados libres de agentes infecciosos.

# CAPÍTULO I

## 1.1 JUSTIFICACIÓN

La detección de sífilis en donantes de sangre está dentro de las normativas del uso de marcadores serológicos de tamizaje obligatorio a nivel de Ecuador (Organización Mundial de la Salud, 2009); sin embargo no todos los bancos de sangre han establecido un protocolo de detección, únicamente se realizan pruebas treponémicas o no treponémicas de forma rutinaria.

Tomando en consideración que la Sífilis es una enfermedad infecto-contagiosa, que se transmite a través de contacto sexual, de madre-hijo y por transfusiones sanguíneas; el elegir un algoritmo adecuado de detección es vital para un Banco de Sangre cuyo objetivo es la obtención de hemocomponentes libres de enfermedades infecciosas (Gagandeep Kaur, 2014). Como se menciona anteriormente, se ha mantenido por mucho tiempo la detección de sífilis mediante el uso de pruebas no treponémicas y treponémicas, estas últimas utilizadas únicamente para la confirmación de muestras reactivas, este algoritmo fue utilizado en poblaciones de baja prevalencia de la enfermedad como en donantes de sangre para verificar los resultados (Quattordio, Milani, & Milani, 2004).

Otro aspecto importante dentro de la detección de sífilis son las características de sensibilidad y especificidad de los reactivos en relación al estadio de la enfermedad, estudios previos han establecido que las pruebas reagínicas no detectan una sífilis primaria por no producir la cantidad suficiente de anticuerpos para que sean detectados y solamente el 30% de los casos en la etapa terciaria son detectados como reactivos. (Quattordio, Milani, & Milani, 2004) (Gagandeep Kaur, 2014). En contraste, las pruebas treponémicas confirman los resultados reactivos; sin embargo también se ha determinado resultados falsos positivos en estas pruebas debido a sustancias interferentes, contaminación de la muestra y conservación. Por lo que no es posible elegir solamente un método de diagnóstico, sino que también se debe implementar un algoritmo que facilite la detección adecuada de sífilis (Gagandeep Kaur, 2014).

De acuerdo al Ministerio de Salud Pública durante el año 2013 (Enero-Diciembre), se reportó un total de 1.883 casos de sífilis en el país (Ministerio de Salud Pública, 2013); el 19,69% provenían de la costa, 3,16% de la sierra y 5,85% del Oriente, datos que muestran la presencia de la enfermedad. Se han reportado casos de transmisión de sífilis

en países donde el uso de sangre es inmediato y no pueden ser mantenidos en refrigeración por 7 días, tiempo en el que muere el *Treponema pallidum*.

Estudios previos determinaron que los casos reportados de transmisión fueron de donantes que se encontraban en la etapa primaria y secundaria de sífilis, etapas en las que *T.pallidum* está en sangre pero sus niveles son bajos y detectables únicamente con un test. Es por esta razón que esta investigación pretende determinar la utilidad de las pruebas de origen comercial utilizadas en banco de sangre para prevenir una transmisión a través de derivados sanguíneos contaminados (Gagandeep Kaur, 2014).

## 1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Uno de los aspectos más importantes dentro del tamizaje serológico de donantes voluntarios de sangre es evitar la transmisión de enfermedades infecciosas constituyéndose en uno de los retos más grandes en medicina transfusional (Rojo Medina, 2014). Es común que en todos los bancos de sangre del Ecuador se realice el tamizaje de sífilis con diferentes reactivos; por lo que es necesario comprender el significado de una prueba positiva para este marcador serológico y el riesgo que conlleva la transmisión a través de transfusiones sanguíneas, especialmente cuando existe discrepancia en los resultados y falta de detección; esto puede presentarse en pacientes con infecciones tratadas con presencia de anticuerpos en niveles indetectables (Morshed & Singh, 2014).

Cabe recalcar que la captación de donantes voluntarios se realiza a través de una entrevista que permite identificar individuos con factores de riesgo, que los convierte en potenciales portadores de infecciones; sin embargo en varias ocasiones no son donantes voluntarios sino compensatorios y muchas veces son obligados, por lo que no se obtiene una información fidedigna (Beltrán, Ayala, & Jara, 2000) (Gagandeep Kaur, 2014). Esta situación promueve la selección de las pruebas de tamizaje de forma rigurosa y bajo criterios científicos.

Actualmente, las pruebas directas como FTA (del inglés, *fluorescent treponemal antibody absorption*) y pruebas moleculares, son útiles en la confirmación diagnóstica de sífilis; sin embargo son técnicas poco utilizadas en los bancos del sangre del país ya que su función es el tamizaje serológico y no el diagnóstico, por esta razón es común el uso de pruebas no treponémicas (NTT) como: el VDRL (del inglés, *veneral disease research*

*laboratory*), reagina rápida en plasma (RPR) y los test treponémicos (TT) como: enzimoimmunoensayo (EIA) (Quattordio, Milani, & Milani, 2004) (Gagandeep Kaur, 2014).

Otros estudios han determinado que el *Gold estándar* para el diagnóstico de sífilis, es el uso de varias pruebas entre treponémicas y no treponémicas basado en la presencia de anticuerpos en relación a la etapa en que se encuentra la enfermedad, estableciéndose un algoritmo formado por RPR, VDRL, EIA y FTA. (Gagandeep Kaur, 2014)

Las pruebas de RPR y VDRL presentan una sensibilidad del 86% y 78% respectivamente durante la etapa primaria de la enfermedad, mientras que en la etapa terciaria o sífilis terciaria tienen una sensibilidad del 73% y 71% (Smith, Yvonne, Smith, Simpson, & Morshed, 2013). Otro aspecto a considerarse es que estas pruebas presentan una reactividad cruzada con otras enfermedades, además de errores técnicos lo que dificulta aún más la detección. (Linda Sommese, 2016)

Por otro lado la introducción de pruebas treponémicas (TT) de EIA han aumentado la sensibilidad pero existe una gran cantidad de resultados falsos positivos (Smith, Yvonne, Smith, Simpson, & Morshed, 2013); por lo que se recomienda que pruebas reactivas en EIA sean nuevamente testeadas en pruebas denominadas FTA-ABS (del inglés, *fluorescent treponemal antibody absorption*) (Naidu, 2012).

A pesar de que estas pruebas son utilizadas para la identificación de anticuerpos contra la enfermedad de sífilis, se ha determinado que las pruebas no treponémicas presentan un 21,9% de resultados falsos negativos. Así también se detectan resultados discrepantes, es decir donantes positivos en una metodología y negativos en otro ensayo, por lo que también establecen la existencia del 77% de resultados falsos positivos en pruebas treponémicas (EIA) por errores técnicos. (Naidu, Bharucha, Sonawane, & Ahmed, 2012)

En los bancos de sangre del país se realizan pruebas para tamizaje serológico de sífilis utilizando VDRL, RPR y EIA, desconociéndose si existe la presencia de resultados falsos positivos. Sin embargo existe un aumento del 1% en el número de resultados positivos en estos marcadores serológicos, por esta razón es necesario determinar si las pruebas no treponémicas o treponémicas son las más adecuadas en los bancos de sangre para el tamizaje de donantes. El presente estudio tiene como finalidad determinar un algoritmo de detección entre las pruebas treponémicas (ELISA Y FTA-ABS) y no treponémicas (VDRL) **Pregunta de investigación:** ¿Qué algoritmo de detección para sífilis puede ser utilizado en un banco de sangre en donantes voluntarios y compensatorios?

## **1.3 OBJETIVOS**

### **1.3.1 Objetivo general**

Determinar la necesidad de implementar un algoritmo de detección de sífilis en donantes voluntarios y compensatorios de sangre para evitar el descarte innecesario de derivados sanguíneos.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Identificar la frecuencia de donantes voluntarios o compensatorios reactivos para el marcador serológico de Sífilis en pruebas no treponémicas (VDRL)
- Identificar la frecuencia de donantes voluntarios o compensatorios reactivos para el marcador serológico de Sífilis en pruebas treponémicas (EIA y FTA-ABS)
- Establecer la presencia de resultados falsos positivos y negativos de sífilis en prueba no treponémica (VDRL).
- Determinar la presencia de resultados falso positivos y negativos de sífilis en pruebas treponémicas (EIA y FTA-ABS).
- Correlacionar los resultados obtenidos en las pruebas treponémicas (EIA y FTA-ABS) y no treponémica (VDRL)
- Determinar la especificidad y sensibilidad de la prueba rápida VDRL utilizadas en la detección de anticuerpos no treponémicos.
- Determinar la especificidad y sensibilidad de las pruebas de Enzimoimmuno ensayo en la detección de anticuerpos treponémicos.

### **1.3.3 Limitaciones del estudio**

Una de las limitaciones del estudio constituye en el cambio constante de marca de reactivos en pruebas treponémicas y no treponémicas, causados por los problemas de importación, esto puede provocar un sesgo en la investigación.

## CAPÍTULO II

### 2.1 MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 2.1.1 Antecedentes

La sífilis es una enfermedad considerada como un grave problema de salud pública. Existen 25 millones de personas afectadas en todo el mundo y anualmente se reporta una incidencia de 12 millones de casos. Adicionalmente, los factores de riesgo que facilitan el contagio del *T.pallidum* aumentan la probabilidad de contraer el virus de inmunodeficiencia adquirida (VIH) y otras enfermedades de transmisión sexual. (Smith, Yvonne, Smith, Simpson, & Morshed, 2013).

En el año 1941 se reportaron 138 casos de sífilis transfusional, debido a que los donantes se encontraban en la etapa primaria o secundaria de la enfermedad y no fueron detectados por los métodos tradicionales utilizados en esa época; es decir que los anticuerpos reagínicos no se encontraban en niveles detectables o las pruebas no fueron lo suficientemente sensibles (Gagandeep Kaur, 2014). Estudios realizados demuestran que el uso de pruebas tanto no treponémicas como treponémicas, entre estas: VDRL, FTA-ABS, EIA respectivamente, logran identificar infecciones agudas y crónicas; al usar como mínimo dos pruebas, se mejora la sensibilidad y especificidad en la detección de los anticuerpos contra *T.pallidum*. (César de Almeida Neto, 2010).

En países como Estados Unidos y Europa se ha mantenido un algoritmo de detección de sífilis basado en el uso de pruebas no treponémicas y la confirmación de muestras reactivas en pruebas treponémicas; dicho algoritmo fue adoptado por otros países incluido Ecuador (Lee, y otros, 2013). Actualmente el Centro para Control y prevención de enfermedades (CDC) “Reconoce el uso de la secuencia inversa de detección de sífilis” (RSSS), es decir el uso de pruebas treponémicas para el tamizaje y de no treponémicas para confirmación de pruebas reactivas.

La propuesta dada por CDC constituye el uso de pruebas treponémicas (EIA o CLIA) para la detección de donantes con anticuerpos treponémicos para sífilis; si estas son positivas se debe re-chequearlas con pruebas no treponémicas (RPR o VDRL); y si las pruebas son discordantes utilizar una prueba treponémica (FTA/ABS) para confirmar los

resultados de la prueba inicial. (Centers for Disease Control and Prevention, 2015) (Lee, y otros, 2013)

Todos los estudios recientes de detección de sífilis, mencionan que se debe establecer un algoritmo que permita la interpretación objetiva y una sensibilidad óptima para la correcta identificación de sífilis, disminuyendo en lo posible la presencia de resultados falsos negativos y positivos. (Gagandeep Kaur, 2014)

### **2.1.2 Sífilis**

La sífilis es una enfermedad infecciosa causada por la bacteria *T. pallidum*, la cual pertenece a la familia *Treponemataceae*. Además *T.pallidum* subsp. *endemicum* ( bejel), *T.pallidum* subsp. *pertenue* (pian) y *T.pallidum* subsp. *carateum* (pinta) se diferencia de *T.pallidum* por sus manifestaciones clínicas y sus características genéticas.

Tiene forma de espiroqueta (espiral), móvil, recubierta por una membrana externa constituida de péptidoglucano que ayuda a la rigidez de su estructura, constituida además de fosfolípidos y proteínas de baja concentración al unirse, se multiplica lentamente en el organismo persistiendo por más tiempo; presenta un flagelo en cada extremo llamados endoflagelos o filamentos axiales, estos se encuentra en el espacio periplásmico entre la membrana citoplasmica y la membrana externa permitiendo la motilidad en forma de sacacorchos, además de la adhesión en las células del huésped. *T. pallidum* se caracteriza por manifestar signos característicos y desarrollar una infección crónica en el huésped. (Paz Burgos, 2010)

Se transmite por contacto directo con lesiones infectadas, contacto sexual, a través de la placenta o por transfusiones de sangre infectada. Se diferencian por sus estadios dependiendo de la clínica, infectividad y la progresión de la enfermedad. (Paz Burgos, 2010).

### **2.1.3 Respuesta inmune**

El *Treponema pallidum* es capaz de atravesar las mucosas intactas o lesiones de la piel en pocas horas, siendo capaz de alcanzar a los vasos linfáticos y sanguíneos ocasionando una infección sistémica. Una de las características del *T.pallidum* constituye la presencia de lipoproteínas que activan la respuesta inmune mediante la activación de monocitos, macrófagos y células endoteliales, es decir estas células reconocen a los

lipopolisacáridos peptidoglicano y restos acilados de lipoproteínas mediante los receptores tipo Toll TLR. (Paz Burgos, 2010)

La respuesta inmune celular se activa luego del mecanismo de fagocitosis y degradación de los microorganismos que libera lipoproteínas, promoviendo la activación de los CD14 de los macrófagos que estimulan la secreción de citosinas y quimiocinas que promueven inflamación. (Paz Burgos, 2010).

*T.pallidum* es una bacteria que posee una elevada capacidad de penetrar células endoteliales intactas debido a las hialuronidasas que posee, adicionalmente evade al sistema inmune humoral y celular tanto por su lento crecimiento como por su forma de recubrirse con sustancias propias del hospedero como fibronectina, inmunoglobulina Ig G, glucosa y transferrina de tal manera que evita la detección inmune; se une a la fracción Fc del anticuerpo esto recubrirá a la bacteria y enmascara distintos epítopes, otro mecanismo es unirse al receptor de glucosa/galactosa que capta glucosa del hospedero ayudando a recubrirse. (Paz Burgos, 2010). Además de presentar una capa de mucopolisacáridos que es capaz de recubrir los antígenos superficiales impidiendo que sean detectados inmunológicamente a través de varios métodos.

La inflamación es el primer paso para activar a la respuesta inmune, este mecanismo se presenta ya que *T. pallidum* induce a la producción de metaloproteinasa de matriz –1 (MM-1) en las células dérmicas, esta MM-1 descompone el colágeno lo que permite al *T. pallidum* acceder rápidamente a los tejidos más profundos atravesando las uniones entre las células endoteliales; este mecanismo activa al sistema inmune donde las células inmunes migran desde el torrente sanguíneo hasta el sitio de inflamación. (Paz Burgos, 2010) (Lukehart, 2006)

*T. pallidum* tiene la capacidad de estimular a las moléculas de adhesión celular, estas se expresan en las células endoteliales de los capilares promoviendo a la formación de fluidos serosos y migración de leucocitos en los tejidos infectados. Las células endoteliales expresan moléculas de adhesión celular como ICAM-1, VCAM-1 y E-Selectina estas son activados por moléculas de *T.pallidum* TpN47 pero no serán activados por otras moléculas o agentes patógenos muertos de *T. pallidum*, lo que indica que este proceso es específico de *T. pallidum* al permitir la activación de moléculas y células endoteliales en el huésped. (Lukehart, 2006)

*T. pallidum* aumenta la capacidad de unión de las células endoteliales y los linfocitos, esta unión es bloqueada por anticuerpos contra las moléculas de adhesión celular

ayudando a la expresión de ICAM-1, VCAM-1 y E-Selectina en la inflamación por *T. pallidum*. En la infección bacteriana aguda también los polimorfonucleares son las primeras células que se presentan en el sitio de infección como en las lesiones muy tempranas; la cantidad de polimorfonucleares no es suficiente para controlar la infección, por lo tanto existe la progresión de la infección después de activar la respuesta inflamatoria. (Lukehart, 2006)

Las células dendríticas son estimuladas por los lipopéptidos microbianos, estos son reconocidos a través de los TLR2 que permite la señalización lipoproteínas en presencia de *T.pallidum*. Además estas células permiten la activación de la inmunidad innata y adaptativa por la presentación de antígenos específicos a los linfocitos T en los ganglios linfáticos. (Lukehart, 2006)

Los linfocitos T provocan una mayor respuesta a la infección por sífilis permitiendo también el reconocimiento de varias proteínas del *T. pallidum* como las lipoproteínas (TpN47, TpN17 y TpN15) que se encuentran en la membrana citoplasmática de la cara externa, proteínas que componen el núcleo y flagelo del *T.pallidum* (Lukehart, 2006)

Las células dendríticas se encuentran en la piel y membranas de las mucosas, estas se activarán en los sitios de lesión primaria y secundaria actuando en la inmunidad innata y adaptativa; Las células dendríticas inmaduras captan a las bacterias en el sitio infectado, estas células migrarán a los ganglios linfáticos donde activarán a los linfocitos T. Las células Th1 y las citosinas (IL-2, INF  $\gamma$  e IL-12) permitirán la activación de macrófagos y natural Killer que ayudarán a la destrucción bacteriana causada en la sífilis primaria. Los linfocitos T Helper (CD4+) y los linfocitos citotóxicos CD8+ estarán presentes en las lesiones primarias (chancros) y secundarias respectivamente. (Lukehart, 2006)

Las células dendríticas a la vez van madurando y producen ciertas citoquinas inflamatorias en respuesta al agente patógeno como IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-12 y TNF- $\alpha$  que son estimuladas por el contacto directo con *T.pallidum* o un lipopéptido que representa una porción lipídica del TpN47. (Lukehart, 2006) (Paz Burgos, 2010)

El sistema inmune es capaz de producir anticuerpos treponémicos específicos que son capaces de reaccionar con antígenos treponémicos, estos anticuerpos son producidos de forma continua y serán detectados aún incluso después del tratamiento. Los anticuerpos no treponémicos son detectables después de la aparición de las primeras lesiones, su nivel de detección va disminuyendo a medida que avanza la fase e indetectables después del tratamiento. (Paz Burgos, 2010).

La exposición al antígeno genera anticuerpos específicos para una o varias de las moléculas de *T. pallidum*, es decir generar anticuerpos contra los componentes o estructuras que se encuentra en *T. pallidum* como los lípidos que están en la superficie, proteínas flagelares, lipoproteínas y las proteínas de membrana externa. (Lukehart, 2006)

Los anticuerpos Ig M son la primera línea de defensa del huésped contra los antígenos de *T. pallidum* y serán detectados después de 6 días. Los anticuerpos Ig M pueden seguir generándose en el huésped pero en menor cantidad aún después de que los síntomas hayan disminuido y por lo tanto una exposición continua a los antígenos de *T. pallidum* estimulan a las células B a seguir produciendo anticuerpos específicos. Sin embargo los anticuerpos Ig G son generados después de varios días y persisten durante la etapa de sífilis latente producidas por las células de memoria inmunocompetentes. (Lukehart, 2006) (Paz Burgos, 2010)

#### **2.1.4 Sífilis primaria**

Caracterizada por una lesión primaria en el sitio de inoculación en piel o mucosas, produciendo una úlcera llamada chancro o chancro primario, el cual contiene espiroquetas que se pueden visualizar microscópicamente, con microscopio de campo oscuro; en esta etapa los ganglios linfáticos se inflaman y son indoloros y duros, el chancro dura de 3 a 6 semanas. (Allen, 2008). Durante esta etapa el diagnóstico puede realizarse mediante la técnica molecular de reacción en cadena de polimerasa (PCR), o a través de pruebas no treponémicas como el VDRL o RPR para detección de anticuerpos reagínicos. (Vázquez-Campuzano, Galnares-Olalde, Blachman-Braun, & Berebichez-Fridman, 2014)

#### **2.1.5 Sífilis secundaria**

Se presenta una manifestación mucocutánea y los microorganismos son más numerosos. Esta etapa empieza de 2 a 8 semanas después de la aparición del chancro duro, su duración es de varios días a meses, también se presentan erupciones cutáneas diseminadas y se caracterizan por invadir a todos los órganos y la circulación sanguínea; se presenta erupción cutánea macular, papulosa, nodular y papuloescamosa. (Paz Burgos, 2010). La detección de la enfermedad se realiza a través de las pruebas de VDRL, RPR o pruebas de absorción de anticuerpos fluorescentes (FTA-ABS) (Vázquez-

Campuzano, Galnares-Olalde, Blachman-Braun, & Berebichez-Fridman, 2014). Los métodos treponémicos poseen una elevada sensibilidad y especificidad en esta etapa de la enfermedad sin embargo decaen en fases primarias de la infección, sífilis congénita, terciaria y en coinfección. (Hernández, Fúnez, Repisoa, & Frieyro, 2013).

#### **2.1.6 Sífilis latente**

En esta etapa de la enfermedad hay ausencia de manifestaciones clínicas, la cual tiene un periodo inicial de 4 años, esta etapa puede ser periodo de latencia temprana o periodo de latencia tardía, por lo tanto las pruebas treponémicas específicas son positivas (Allen, 2008). La sífilis latente tardía presenta complicaciones en el sistema nervioso central, cardiovascular y afectan a cualquier órgano. La prueba del VDRL es capaz de definir la positividad o la negatividad de la enfermedad (Allen, 2008); sin embargo actualmente se utiliza la prueba molecular de PCR (Vázquez-Campuzano, Galnares-Olalde, Blachman-Braun, & Berebichez-Fridman, 2014).

#### **2.1.7 Sífilis transmitida por transfusiones**

Los casos por transmisión de sífilis ocurren cuando los donantes se encuentran en las fases primarias o secundarias de la enfermedad donde las pruebas treponémicas no detectan a los anticuerpos producidos por el *Treponema pallidum* (Gagandeep Kaur, 2014).

*Treponema pallidum* se caracteriza por ser frágil y sensible al frío, por lo tanto una transmisión de sífilis luego que los hemocomponentes hayan estado en baja temperatura es mínimo; el riesgo se presenta en los concentrados plaquetarios que permanecen a una temperatura ambiente y son transfundidos en menos de 5 días, por lo tanto hay más probabilidades de transmisión de *T.pallidum* (Gagandeep Kaur, 2014).

Cuando el receptor ha sido transfundido con hemocomponentes infectados con *T.pallidum*, los síntomas aparecen semanas después y presentan ciertos síntomas y lesiones. Estos casos suelen ocurrir cuando el donante aparentemente está sano y no presenta ningún signo de sentirse enfermo, por lo tanto la evaluación al donante debe ser exhaustiva además de analizar con pruebas más específicas y sensibles. (Gagandeep Kaur, 2014).

## **2.2 PRUEBAS SEROLÓGICAS**

Las pruebas serológicas han sido desarrolladas para detectar el complejo antígeno-anticuerpo. La respuesta inmunológica del individuo contra el *T. pallidum* promueve la producción de anticuerpos en el organismo, mismas que podrán ser reconocidos a través de diferentes pruebas serológicas que tienen la capacidad de reaccionar con los antígenos o partículas presentes en el reactivos utilizados en serología. (Gagandeep Kaur, 2014)

Actualmente estas pruebas son utilizadas para el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento, permitiendo establecer la presencia de anticuerpos específicos o no específicos (anti-treponema) dependiendo de la prueba utilizada. Estas pruebas son fundamentales en donantes de sangre antes de liberar los hemocomponentes y realizar transfusiones, es así que se permite concluir si el donante ha sido expuesto o no al *T. pallidum*. (Linda Sommese, 2016)

### **2.2.1 Pruebas no treponémicas**

Estas pruebas son capaces de medir los anticuerpos no específicos mediante el uso de antígenos no específicos como cardiolipina, lectin, colesterol; este antígeno se encuentra en varios tejidos, por lo tanto estas pruebas buscan detectar el complejo anticuerpo cardiolipina a través de técnicas de precipitación o floculación. (Gagandeep Kaur, 2014).

Estas pruebas son fáciles de realizar, tienen bajo costo y permiten un rápido diagnóstico además de permitir controlar la respuesta al tratamiento. El nivel de anticuerpos identificados en esta prueba dependerá de la actividad de la enfermedad, es decir si existe un título alto de anticuerpos demuestra una infección activa, por lo contrario si hay un menor título de anticuerpos puede ser que el paciente tiene éxito con su tratamiento o es un falso positivo. Los falsos positivos presentes en las pruebas no treponémicas pueden ser ocasionados en individuos que tienen enfermedades virales o bacterianas, enfermedades autoinmunes, embarazos, edad avanzada, vacunaciones, etc y errores técnicos.

### **2.2.2 Veneral Disease Research Laboratory (VDRL)**

Está diseñada para detectar en el suero la presencia de reaginas, un grupo heterogéneo de anticuerpos formados por el huésped en respuesta al material lipídico liberado por células lesionadas en el transcurso de la infección, así como lípidos de la superficie

celular del treponema; por lo tanto no son anticuerpos específicos frente a *T. pallidum*. (Sanguineti Díaz, 2000)

El VDRL es reactivo a las 2 semanas después de las primeras manifestaciones del chancro duro que son úlceras indoloras o llagas y sigue reactivo por 6 semanas. Se obtienen falsos negativos en ciertas condiciones tales como: fenómeno de prozona donde existe una gran cantidad excesiva de anticuerpos, bajo título de anticuerpos, presencia de sustancias inhibidoras en el suero del paciente, VIH, la temperatura fuera del rango o error técnico. Los falsos positivos pueden llegar a 10 a 30% y han sido reportados en casos de síndrome de anticuerpos antifosfolípidos, lupus eritematoso sistémico (LES), fiebre reumática, neumonía viral, neumonía neumocócica, mononucleosis infecciosa, hepatitis infecciosa, lepra, malaria, artritis reumatoide, embarazos, ancianos, y muestras hemolizadas o contaminadas; sin embargo también se pueden presentar en reacciones de hipersensibilidad, pos vacunación y enfermedades sistémicas. (Sanguineti Díaz, 2000) (Islay Rodríguez González, 2006)

La aplicación práctica del VDRL está dada para la identificación de sífilis reciente, evaluación del progreso y tratamiento de la enfermedad. La sensibilidad esta entre el 78% hasta el 86% en las enfermedades primarias, esta va disminuyendo si la enfermedad va evolucionando de acuerdo a cada etapa. Los pacientes con tratamiento exitoso para sífilis son reactivos en las pruebas no treponémicas, pero la positividad de las pruebas treponémicas ocurre en donantes con sífilis activa o recién tratada debido a que los anticuerpos Ig G persisten por más tiempo y por lo tanto serán detectados por esta metodología. (Linda Sommese, 2016)

### **2.2.3 Pruebas treponémicas**

Son pruebas que permiten confirmar la reactividad de las pruebas no treponémicas o para diagnosticar sífilis tardía, por lo tanto no deberán ser utilizadas para evaluar tratamiento, reinfección o recaída. Estas pruebas miden las inmunoglobulinas Ig G o Ig M formadas por el huésped. (Ratnam, 2005).

### **2.2.4 Pruebas de Enzimoimmunoensayo**

Son métodos de cuantificación inmunológica que evalúa la reacción antígeno-anticuerpo mediante una reacción enzimática; de acuerdo al diseño de la prueba, se puede detectar una o más inmunoglobulinas como también antígenos específicos para esto se utiliza un conjugado formado por un anti-anticuerpo o un antígeno, el cual se ha marcado con una

enzima (peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, glucosa oxidasa, etc.). Esta prueba solo indica la presencia de los anticuerpos treponémicos no la etapa de la enfermedad. Los anticuerpos Ig M son detectados a las 2 semanas después de la infección y los anticuerpos Ig G detectados a las 4 semanas después de la post infección. (Linda Sommese, 2016) (Gagandeep Kaur, 2014)

### **Características de las pruebas treponémicas (EIA)**

- Tienen una sensibilidad del 95% al 98,4 % y una especificidad del 98% al 99,3%.
- Los resultados son objetivos.
- Es reactiva en pacientes con sífilis durante toda su vida, debido a la presencia de anticuerpos Ig G que persisten aún después del tratamiento.
- Detectan anticuerpos específicos para antígenos treponémicos en infección primaria o en tratamiento de sífilis temprana. (Gagandeep Kaur, 2014) (Linda Sommese, 2016)

### **2.2.5 FTA-ABS**

Método de observación directo, es utilizado como confirmación cuando una de las pruebas no-treponémicas es reactiva. Es el método de elección para el diagnóstico de la sífilis primaria a partir de las dos semanas después del contagio. Permite la detección de anticuerpos Ig M, Ig G e Ig A, además de antígenos recombinantes de TP, proteínas de membrana TP 47, 42, 15, 17KDA (Gagandeep Kaur, 2014).

### **2.2.6 Electroquimioluminiscencia (CLIA)**

Actualmente han surgido las pruebas automatizadas basadas en la electroquimioluminiscencia (CLIA) para detección de anticuerpo treponémicos, estas han cambiado el algoritmo de identificación de sífilis en productos sanguíneos, sin embargo pueden presentar resultados falsos positivos (Benítez Merelo, Cebollero Agust, & Lobato, 2013).

### **2.2.7 Validación de pruebas de laboratorio**

Los parámetros utilizados en la validación de las pruebas de laboratorio son la sensibilidad y especificidad características de las mismas y cuyos valores no son modificadas por la prevalencia de la enfermedad, estos valores determinan la

probabilidad de que una persona presente o no la enfermedad (Ruiz de Adana Pérez, 2009)

- **Sensibilidad:** Es la capacidad de un ensayo de identificar a donantes que efectivamente están enfermos es decir han formado anticuerpos contra el *T. pallidum*. Las pruebas treponémicas como el EIA o CLIA tienen una alta sensibilidad en la detección de sífilis primaria, latente o tardía, es decir el ensayo evaluado tiene la capacidad de detectar correctamente la presencia de anticuerpos contra el *T. pallidum*. (Fernández P. , 2010). La fórmula de cálculo es:

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{Valor Predictivo Positivo}}{\text{Valor Predictivo Positivo} + \text{Falsos Negativos}}$$

- **Especificidad:** Es la capacidad de un ensayo en detectar correctamente a los donantes sanos y que no han formado anticuerpos contra el *T. pallidum*, es decir identificar a los pacientes que efectivamente están sanos.

Las pruebas treponémicas tienen una alta especificidad que permite detectar correctamente las muestras que no tienen anticuerpos contra *T. pallidum*; mientras que las pruebas no treponémicas tienen una baja especificidad y conlleva a la obtención de resultados incorrectos, cuando estas son usadas como cribado en poblaciones con baja prevalencia los resultados reactivos pueden ser falsos y no detectan correctamente los anticuerpos del *Treponema pallidum* en las muestras de donantes (Fernández P. , 2010). La fórmula de cálculo es:

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{Valor Predictivo Negativo}}{\text{Valor Predictivo Negativo} + \text{Falsos Positivos}}$$

### Valores predictivos

La seguridad de una prueba diagnóstica puede ser medida a través del cálculo de los valores predictivos, cuyos resultados dependerán de la prevalencia de la enfermedad y establecerán en cierta medida el valor clínico de un resultado (Ruiz de Adana Pérez, 2009).

- **Valor predictivo positivo:** Mediante este cálculo se estima la probabilidad de padecer la enfermedad. El valor predictivo positivo puede estimarse a partir de la

proporción de pacientes con un resultado positivo en pruebas treponémicas que finalmente están enfermos (*T. pallidum*). (Fernández P. , 2010).

$$VPP = \frac{\text{Valor Predictivo Positivo}}{\text{Valor Predictivo Positivo} + \text{Falsos Positivos}}$$

- **Valor predictivo negativo:** Es la probabilidad de que un paciente con un resultado negativo no tenga la enfermedad, es decir no forma anticuerpos contra *T. pallidum*. El hemocomponente evaluado puede ser liberado y utilizado para su posterior transfusión. (Fernández P. , 2010).

$$VPN = \frac{\text{Valor Predictivo Negativo}}{\text{Valor Predictivo Negativo} + \text{Falsos Negativos}}$$

- **Razones de probabilidad**

Estos cálculos son utilizados cuando la prevalencia es un factor determinante en los cálculos de los valores predictivos de una prueba e impiden realizar extrapolaciones o comparaciones entre métodos y otros estudios; en estas circunstancias es importante el cálculo de otros índices de valoración clínicamente útiles y sin dependencia de la prevalencia. Estos índices miden “cuánto más probable” es un resultado de acuerdo a la presencia o ausencia de la enfermedad. (Fernández & Pértegas Díaz, 2003).

- **Razón de verosimilitud positiva o cociente de probabilidades positivo:** El cálculo de este índice está basado en la división realizada entre la probabilidad de un resultado positivo entre pacientes enfermos para la probabilidad del resultado positivo entre pacientes sanos, aplicando la siguiente fórmula:

$$RV = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

- **Razón de verosimilitud negativa o cociente de probabilidades negativo;** Este índice se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado negativo en presencia de la enfermedad para la posibilidad de un resultado negativo en ausencia de la misma.

$$RV = \frac{1 - \text{Especificidad}}{\text{Sensibilidad}}$$

- **Tasas de Falsos Positivos:** Este cálculo es utilizado para determinar la probabilidad de obtener un resultado positivo en una población sana.

$$RV = 1 - \text{Especificidad}$$

- **Tasas de Falsos Negativos:** Este cálculo es utilizado para determinar la probabilidad de obtener un resultado negativo en una población enferma.

$$RV = 1 - \text{Sensibilidad}$$

Para la realización de estos cálculos se aplicará la siguiente tabla:

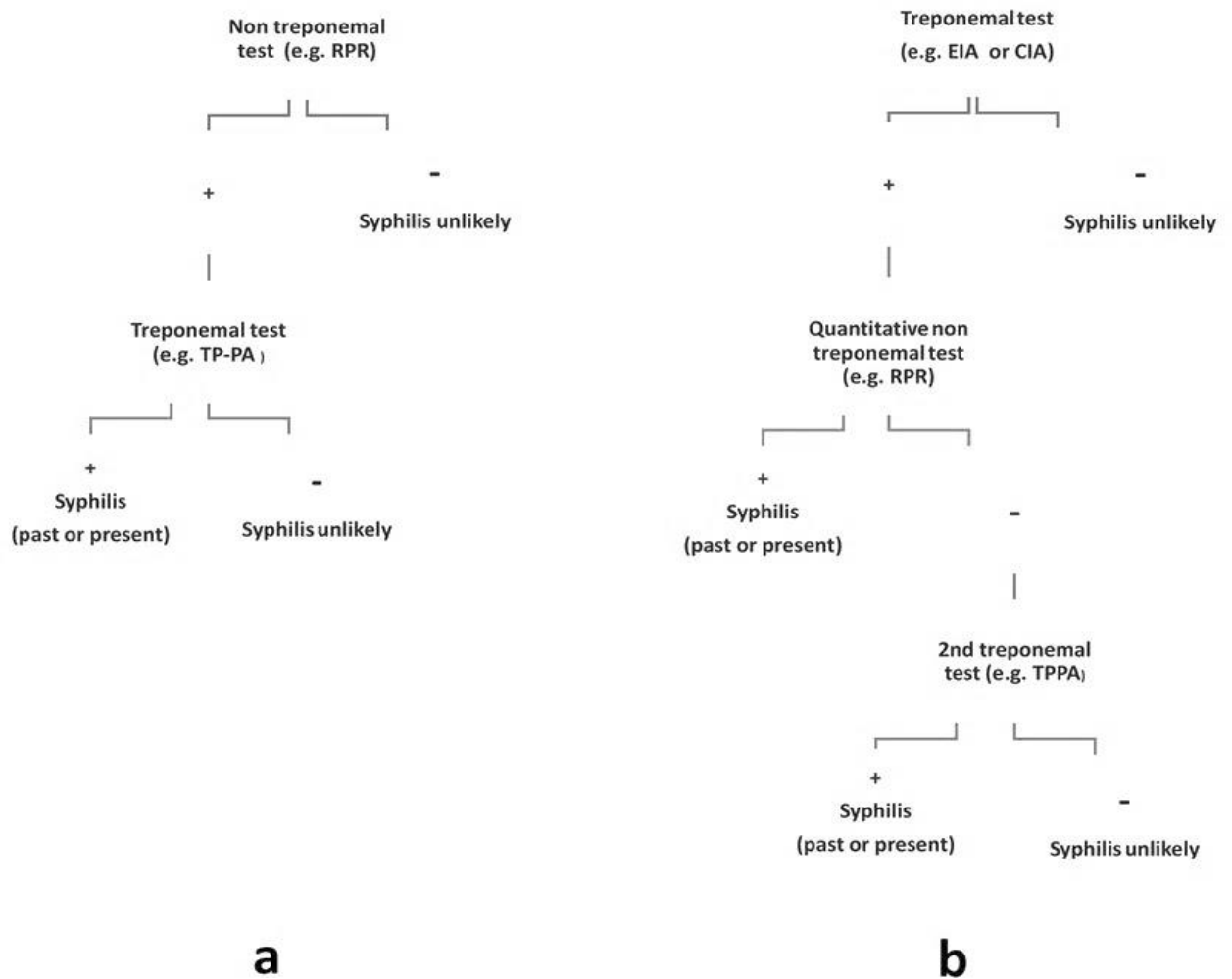
**Tabla N°1: Tabla 2x2 para cálculo de indicadores de pruebas diagnósticas**

Resultados	Presencia de anticuerpos para <i>Treponema pallidum</i>		
	Presente	Ausente	Total
Positivos	Verdadero positivo	Falsos positivo	Total de donantes positivos
Negativos	Falsos negativos	Verdadero negativos	Total de donantes negativos
Total	Total de donantes con anticuerpos	Total de donantes sin anticuerpos	Total de donantes

*Autor: Pita Fernández, S., Pértegas Díaz, S.  
Fuente: Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad.*

## 2.2.8 Algoritmo de detección de sífilis en donantes de sangre

Son una serie de pruebas que permiten llegar al diagnóstico de sífilis a través de la confirmación de los resultados positivos usando una de las pruebas no treponémicas o pruebas treponémicas. Los resultados de una sola prueba no son suficientes para la detección precisa, por lo tanto es necesario establecer un algoritmo eficiente que permita la detección de infecciones presentes y pasadas.



Algoritmos para el diagnóstico de sífilis **a)** Algoritmo tradicional. **b)** Algoritmo secuencia inversa

*Autor: Muhammad G. Morshed y Ameeta E. Singh*

*Fuente: Tendencias recientes en el Diagnóstico serológico de sífilis.*

El algoritmo tradicional detecta la infección activa, utiliza pruebas no treponémicas como screening (VDRL) si el resultado obtenido es reactivo, deberá ser confirmado por una segunda prueba diferente a la primera es decir una prueba treponémica (ELISA/ CLIA) para confirmar el resultado de la prueba no treponémica (VDRL). No permite la identificación de infecciones pasadas y por lo tanto no es útil en la selección de donantes en los bancos de sangre. (Centers for Disease Control and Prevention, 2015) Sin embargo este algoritmo ayuda a los donantes a ser evaluados y tratados, además al confirmar los resultados reactivos con una prueba treponémica existen resultados falsos positivos en poblaciones donde existe una baja prevalencia. (Tagny, 2011)

El algoritmo inverso permite detectar la infección activa y pasada a través de pruebas treponémicas (EIA/CLIA) los resultados positivos deben ser corroborados con una segunda prueba no treponémica (VDRL), si estos resultados son discordantes se debe usar una tercera prueba treponémica si los resultados son positivos se debe considerar que estamos frente a una sífilis activa o pasada. Este algoritmo (Centers for disease control and prevention, 2011)

## 2.3 MARCO CONCEPTUAL

**Anticuerpos:** es una inmunoglobulina que sirve de defensa del organismo contra ciertas reacciones, estos anticuerpos se encuentra antes de la exposición a cualquier antígeno ya que se presentan sin ninguna infección y algunos antígenos del sistema ABO tienen una reactividad cruzada y pueden ocasionar reacciones transfusionales. (Abul K. Abbas, 2012)

**Antígenos:** es una sustancia que provocan respuestas inmunes, esta provoca que el sistema inmune produzca más anticuerpos. Éstos antígenos pueden ser moléculas extrañas producidas por bacterias, virus, sustancias químicas, etc. (Abul K. Abbas, 2012)

**Anticuerpos Reagínicos:** estos anticuerpos no son específicos para *T. pallidum*, también son producidos por los lípidos tisulares o por otras enfermedades infecciosas (Morshed & Singh, 2014)

**Anticuerpos treponémicos:** estos anticuerpos son específicos y reaccionan contra los antígenos específicos de *T. pallidum*. (Morshed & Singh, 2014). Se caracterizan por mantenerse constantes mientras la enfermedad se encuentra en evolución.

**Discrepancia:** se presenta cuando los resultados obtenidos son diferentes al ser comparados entre sí; cuando entre las dos mediciones realizadas existen diferencias o no existe relación. (Bennington, 2000)

**Donante:** es aquella persona que de forma voluntaria dona sangre sin ninguna contribución económica; acto de solidaridad que ayuda a salvar vidas. (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012)

**Donante asintomático:** Son portadores crónicos de una enfermedad transmisible, los cuales poseen resultados negativos persistentes en las pruebas serológicas, pero estos no poseen sintomatología de la enfermedad. (Pedro Sánchez Frenes, 2012)

**Efecto prozona:** ocurre por un exceso de anticuerpos, por lo tanto no hay la presencia de aglutinación y dan resultados falsos negativos. (Abul K. Abbas, 2012)

**Falsos Positivos:** es la identificación de un donante con diagnóstico negativo, pero en las pruebas realizadas da como resultado positivo. (García, 2012)

**Falsos Negativos:** es la identificación de un donante con diagnóstico positivo pero en las pruebas realizadas da como resultado negativo. (García, 2012)

**Pruebas de tamizaje:** son pruebas que permiten la detección de enfermedades infecciosas en las unidades sanguíneas enteras, permitiendo una mejor selección de hemocomponentes. (Asociación Americana de Bancos de Sangre, 2012)

**Pruebas reagínicas:** son también llamadas pruebas no treponémicas y son capaces de detectar los anticuerpos frente a cardiolipina, e inmunoglobulinas Ig M e Ig G. (Morshed & Singh, 2014)

**Pruebas treponémicas:** Estas son usadas como pruebas confirmatorias para verificar la reactividad en una prueba no treponémica. Detectan anticuerpos Ig G e Ig M anti-*Treponema pallidum*, siendo más sensibles y específicos. (Gagandeep Kaur, 2014)

**Reactividad cruzada:** reacción que ocurre entre el antígeno y el anticuerpo, este anticuerpo formado fue generado contra un antígeno diferente pero este es similar (Morshed & Singh, 2014).

## CAPÍTULO III

### 3.1 MARCO METODOLÓGICO

#### 3.1.1 MATERIALES Y MÉTODOS

##### 3.1.1.1 Tipo de Estudio

Este estudio es de tipo descriptivo transversal debido a que se detalla las características de cada uno de los reactivos y se trata de establecer un algoritmo de detección de sífilis no se manipuló ninguna variable; y es transversal, porque se llevó a cabo en un período determinado de tiempo desde enero a diciembre de 2015.

##### 3.1.1.2 Tipo de Muestreo

Es un muestreo de tipo aleatorio simple, porque se estableció un sistema de elección de muestras al azar.

##### 3.1.1.3 Tamaño de Muestra

Para el cálculo del tamaño de muestra se utilizó la fórmula de población infinita con un nivel de confianza del 95% y un error alfa del 5%. Adicionalmente, al no existir publicaciones nacionales relacionadas al tema, se delimitó una probabilidad del 50% de que existan resultados falsos positivos o negativos.

$$n = \frac{Z_{1-\alpha}^2 \times p \times q}{d^2}$$
$$n = \frac{1,96^2 \times 0,50 \times 0,50}{0,05^2} =$$

384,16 *donantes voluntarios y compensatorios*

<p><b>z</b>= 1,96 nivel de confianza del 95%</p> <p><b>p</b>= prevalencia de la enfermedad 50%</p> <p><b>q</b>= proporción esperada que no presenta 50%</p> <p><b>d</b>= error de muestreo o precisión de 5%</p>
--

Decisión: Se determinó un total de 384 muestras con un nivel de confianza del 95% y un error alfa del 5%.

#### **3.1.1.4 Criterios de Inclusión**

Se tomó en cuenta a donantes voluntarios o compensatorios que tengan resultados reactivos para anticuerpos contra el *T. Pallidum* los cuales se pueden encontrar en cualquiera de sus tres estadios, es decir en fase primaria, secundaria o tardía.

#### **3.1.1.5 Criterios de Exclusión**

Esta parte del estudio se realizó con donantes voluntarios o compensatorios que no tengan la enfermedad o los resultados obtenidos en EIA sean negativos para el *T. pallidum* en EIA.

#### **3.1.1.6 Control de Calidad**

Se usaron sueros confirmados como positivos y negativos para Sífilis para cada método empleado, así como sueros reactivos y no reactivos. El suero control interno sirvió para confirmar la precisión de las pruebas utilizadas, esto ayudó a que los resultados obtenidos de los pacientes sean correctos. Para realizar el monitoreo de las pruebas se realizó un gráfico de Leven Jennings que permitió observar la variabilidad de las pruebas y evitar errores sistemáticos.

#### **3.1.1.7 Análisis Estadístico**

Se utilizó una estadística descriptiva en el programa SPSS V.20 ya que en el estudio se planteó establecer un algoritmo de detección, por lo tanto se determinó porcentajes, prevalencias y relaciones entre variables.

## **3.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

### **3.2.1 Variable Dependiente:**

Donantes con resultados reactivos para Sífilis en EIA

### **3.2.2 Variable Independiente:**

Correlación con Pruebas treponémicas y no treponémicas.

## Operacionalización de Variables

Variable dependiente	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
Donantes con resultados reactivos en el marcador serológico de sífilis	Presencia de anticuerpos treponémicos para el marcador de sífilis	Detección de anticuerpos treponémicos	Reactivo en EIA	Porcentajes de resultados reactivos en EIA
Variable independiente	Definición	Dimensiones	Indicadores	Instrumento de Medida
Pruebas de VDRL	Prueba para detección de anticuerpos reaginicos	Detección de anticuerpos no treponémicos	Reactivos No Reactivo	Total de pruebas reactivas para VDRL
Pruebas inmunocromatográficas de FTA	Prueba que determina la presencia de anticuerpos treponémicos	Confirmación de anticuerpos treponémicos	Positivo Negativo	Número de resultados positivos para Sífilis confirmados con pruebas inmunocromatográficas de FTA/ Total de muestras reactivas en VDRL y EIA
Falsos Positivos	Constituyen resultados de pruebas consideradas como verdadero positivas	Resultados en pruebas VDRL y EIA y negativos en FTA	Reactivo en una prueba y negativo en FTA	Porcentaje de resultados positivos en FTA/total de muestras reactivas para VDRL *100
Falsos Negativos	Constituyen resultados de pruebas consideradas como verdadero negativas	Resultados en pruebas VDRL y EIA y negativos en FTA	Negativos en una prueba y positivo en FTA	Porcentaje de resultados negativos en FTA/ total de muestras reactivas para EIA *100

### 3.3 MATERIALES Y PROCESO

#### 3.3.1 Materiales

- ✓ Pipetas de 50-100 µl y 1000 µl
- ✓ Cronómetros
- ✓ Puntas desechables

- ✓ Tubos de ensayo para realización de diluciones
- ✓ Microscopio
- ✓ Placas para VDRL
- ✓ Guantes descartables
- ✓ Agua destilada
- ✓ Solución salina
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Equipo de incubación
- ✓ Agitador

### **3.3.2 Reactivos**

- ✓ Kit de VDRL
- ✓ Kit de EIA
- ✓ Kit Inmunocromatográfico FTA

### **3.3.3 Procedimiento**

#### **Fundamento científico-técnico de las pruebas para identificación de anticuerpos reagínicos y treponémicos**

##### **Kit de VDRL**

El fundamento se basa en las "reaginas", presentes en individuos infectados por *T. pallidum* y detectadas en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y preestabilizado. Si la muestra contiene reagina, ésta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio. Las reacciones inespecíficas se evitan con el empleo de antígeno altamente purificado y el agregado de cloruro de colina característica de la técnicaUSR (Unheated Serum Reagin) en la que no es necesario inactivar la muestra. (Winner Lab , 2000)

##### **Kit Inmunocromatográfico para Sífilis FTA**

Esta técnica contiene tiras de membrana cubiertas con antígenos *T. pallidum* detectando los anticuerpos para esta bacteria, estas tirillas contienen membrana de fibrosa inmovilizada conjugada con oro coloidal, la cual contiene antígenos recombinantes de *T. pallidum* y en la línea de control suero de cabra es decir un anti-*Treponema pallidum*, contiene un diluyente Tris-HCl 50mM y azida de sodio. La formación de una línea visible

en la zona de la prueba indica que ha detectado los anticuerpos de *Treponema pallidum* específicos. (BIO LINE, 2015)

## **ELISA**

Cada pocillo está recubierto con antígenos de *T.pallidum* y cada muestra es incubada por un tiempo determinado. Si la muestra tuvo anticuerpos contra *T. pallidum* estos se unirán al antígeno que se encuentra en el pocillo, si este no se unió será removido con una solución de lavado. El conjugado se añadirá y se unirá al complejo antígeno – anticuerpo. Si este no se une será removido por el lavado siguiente. Se agregó una solución que contiene tetrametilbencidina y peróxido de hidrogeno llamada también revelador. Las muestras reactivas o positivas darán un color amarillo cuando es detenida la reacción con la solución *stop* o con ácido sulfúrico. (Wiener lab)

**Control Positivo:** suero humano inactivado conteniendo anticuerpos anti-Treponema pallidum. Color naranja.

**Control Negativo:** suero humano no reactivo inactivado. Color amarillo (Wiener lab)

Lote: 1723452

### **3.3.3.1 Fase Uno**

Consentimiento Informado: Todos los donantes que acuden a los bancos de sangre firman un consentimiento para el uso de la sangre y la realización de las pruebas que se requieran antes del uso de los componentes sanguíneos. Además no se mantuvo contacto directo con el donante ni sus identificaciones, se trabajó únicamente con los códigos asignados por el Hospital Carlos Andrade Marín de tal manera que esté protegida la integridad y confidencialidad de todos los participantes en el estudio.

### **3.3.3.2 Fase Dos**

Elección del período de recolección de muestras: Se acudió durante los meses de Junio 2014 a Mayo del 2015.

Selección de muestras: se utilizó únicamente las muestras que fueron positivas para sífilis y de donantes voluntarios del banco de sangre del Hospital Carlos Andrade Marín.

### 3.3.3.3 Fase Tres.

#### Recolección de muestras

- Los ensayos utilizan sueros obtenidos luego de la coagulación de la sangre proveniente de la punción venosa, estas muestras no deben estar hemolizadas o contaminadas y se conservarán a una temperatura de 2-10°C, en caso de realizar el ensayo dentro de las 72 horas, caso contrario se debe congelar a -20°C. Las muestras no deben someterse a ciclos de congelación y descongelación múltiple ya que puede generar resultados erróneos.
- Las muestras de los donantes no requieren de aditivos para obtener suero. Si se empleará plasma, se puede utilizar heparina, citrato o EDTA como anticoagulantes.
- Si se utilizan muestras congeladas, siempre homogenizarlas y centrifugarlas antes de analizarlas.
- Descartar muestras que estén contaminadas o con exceso de albúmina, lípidos, hemoglobina y bilirrubina para evitar falsos positivos.
- Las muestras deben ser transportadas de acuerdo a las especificaciones para el envío de material infeccioso.

### 3.3.3.4 Fase Cuatro

**Tabla N° 2: Procedimiento de VDRL cualitativa.**

Muestra o reactivo	Pocillo N.-1 testigo o suero negativo	Pocillo N.-2 suero positivo	Pocillo N.-3 suero de pacientes
Suero fisiológico	50 µl		
Suero positivo		50 µl	
Suero pacientes			50 µl
VDRL	1 gota 50 µl	50 µl	50 µl
Agitar por 5 min en un agitador a 180 rpm y leer a simple vista o en microscopio			
<b>Reactiva:</b> aglutinaciones a simple vista			
<b>No reactiva:</b> ausencia de aglutinación			
<b>Semi-cuantitativo en suero o plasma</b>			
Preparar diluciones de 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 y 1:32 con solución salina y luego añadir a cada dilución el reactivo.			
Los resultados se reportarán con el título de dilución máxima del suero que tiene una reacción reactiva.			

## Precauciones

- Colocar las muestras y los reactivos a temperatura ambiente, antes de ser analizados.
- Homogenizar el reactivo antes de utilizarlo
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad determinada por el fabricante.
- Utilizar material desechable, si se usara material de vidrio este debe estar bien lavado y enjuagado con agua destilada.
- Utilizar puntas desechables para cada muestra.

**Tabla N° 3: Procedimiento de ELISA.**

ETAPA	PROCEDIMIENTO	PRECAUCIONES
Dilución	Preparación de la solución de lavado (1x)	Disolución de los cristales de sales
Diluyente Muestra	Agregar 100 µl de diluyente de Muestra en cada pocillo	
Muestras	Agregar 20 µl de muestra, control positivo y control negativo.	Se observa cambio de color al agregar la muestra y los controles
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar durante $60 \pm 2$ minutos a $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$	En incubadora
Lavado	Lavar cada pocillo con 300 µl de buffer de lavado - (5 veces)	Tiempo de contacto de la solución de lavado entre 30 y 60 segundos. Eliminar completamente el líquido residual de los pocillos
Dilución	Preparación del conjugado (1x)	Durante la incubación con la muestra, diluir conjugado concentrado (10x)
Conjugado	Agregar 100 µl de Conjugado diluido (1x)	
Incubación	Cubrir los pocillos e incubar durante $30 \pm 2$ minutos a $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$	En incubadora
Lavado	Ídem al lavado anterior	

Revelado	Agregar 100 µl de Revelado	Trasvasar el volumen necesario del revelador a usar. No pipetear del frasco original. Descartar remanente del reactivo. Evitar contacto con agentes oxidantes
Incubación	Durante 30 ± 2 minutos entre 18-25 °C	Mantener los pocillos protegidos de la luz
Detención	Agregar 100 µl de stopper	
Lectura	Leer en espectrofotómetro	Leer dentro de 10 minutos

### Interpretación de los resultados

Con instrumental óptico: La presencia o ausencia de anticuerpos anti-*Treponema pallidum* se determina relacionando la absorbancia de la muestra respecto al valor del Cut-off. Cut-off = CN + 0,160 CN: promedio de las D.O. del Control Negativo. (Wiener lab)

**Limitaciones del procedimiento:** No utilizar pool de muestras. - No utilizar otros fluidos corporales como la saliva, líquido cefalorraquídeo u orina. - Un resultado negativo no descarta la posibilidad de exposición o infección por *Treponema pallidum*. - Los resultados repetidamente reactivos se deben corroborar por un método confirmatorio, de acuerdo a las normativas. - No utilizar muestras inactivadas por calor ya que pueden producir resultados falsos positivos. (Wiener lab).

### Procedimiento Inmunocromatográfico FTA

- Añadir 10 µl de la muestra suero o plasma en la tirilla “simple” de la muestra.
- Añadir 4 gotas del diluyente de ensayo en el pozo de la muestra.
- Dejar que este migre la muestra hacia el control y el test por 5-20 min.

### Interpretación de los resultados

Positivo: presencia de dos líneas rojas en la zona de control y test.

Negativo: muestra línea del control.

### Precauciones

- La prueba debe realizarse inmediatamente después de retirar el empaque que la contiene.

- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- No utilizar la prueba si este se encuentra roto o el sello este dañado.
- Almacenarlos a temperatura ambiente.

**Control de calidad:** uso de muestras control positivo y negativo.

### **3.3.3.5 Fase Cinco**

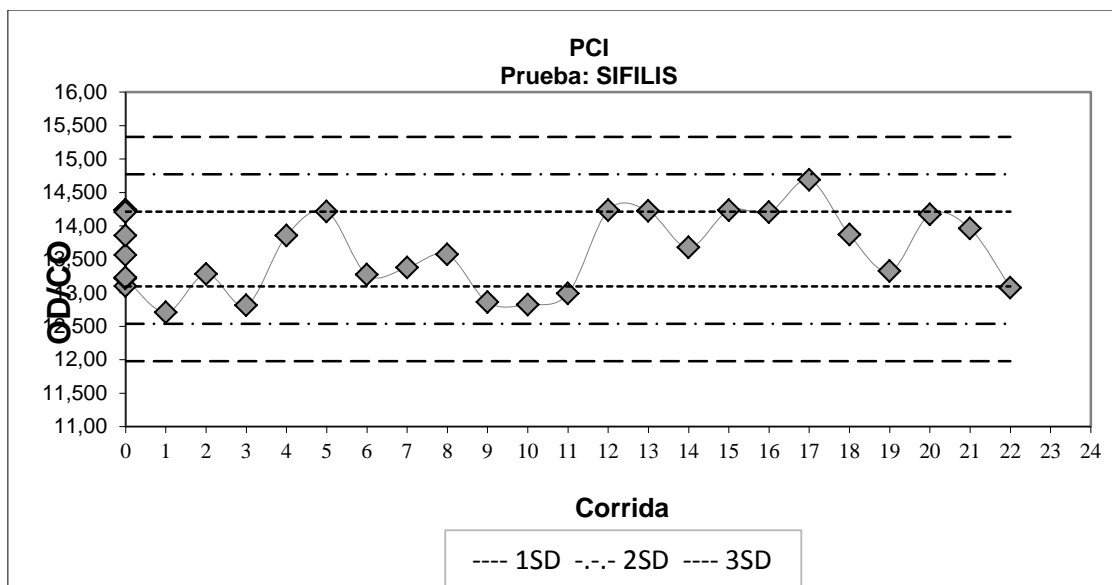
Base de Datos: se creó una base de datos en Excel con todo lo necesario para el análisis, mismo que fueron analizados con estadística descriptiva y relación entre las variables.

## CAPÍTULO IV

### Control de Calidad

#### Pruebas de EIA

Para cada corrida de EIA se elaboró el gráfico de Levey Jenings para monitorear la existencia de errores sean estos de tipo aleatorio o sistemático de esta manera se controló el proceso analítico de EIA. (Gráfico N°1)



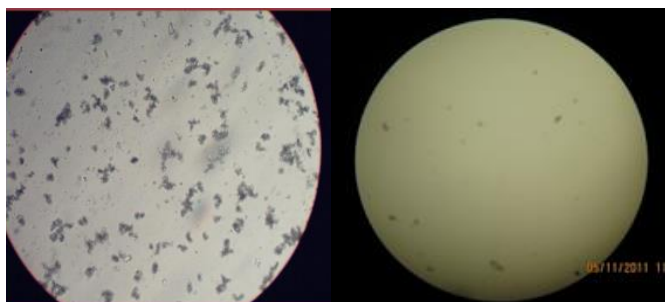
**Gráfico N°1. Curva de Levey Jennings-Sífilis**

Autor: Verónica Aguaiza

Fuente: Datos CISEAL

#### Pruebas de VDRL

Se incluyeron en cada corrida 1 control positivo y negativo para el marcador serológico de Sífilis, estos fueron proporcionados por el Centro de Investigación para la Salud en América Latina (CISEAL). (Gráfico N°2)



**Gráfico 2: Control reactivo y no reactivo**

Autor: Quintana Cristina

Fuente: Curso de capacitación Weiner

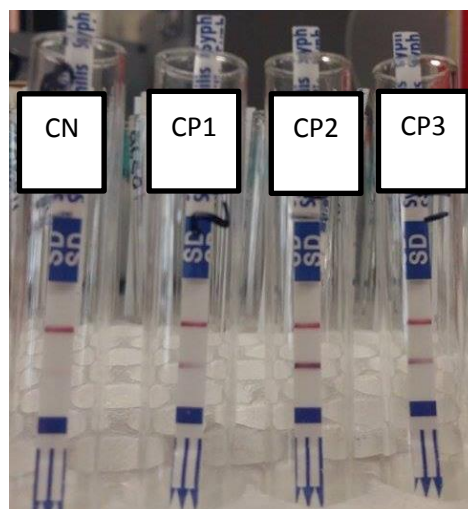
## Pruebas de FTA

De igual manera se incluyeron los controles Positivos y negativos de Paneles de pro eficiencia de Brasil y Ecuador adicionalmente se utilizó sueros que contenían anticuerpos treponémicos y reagínicos confirmados para el marcador serológico de Sífilis y fue utilizado en cada lote. (Gráfico N°3)



**Gráfico 3: Control positivo y negativo**

Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL



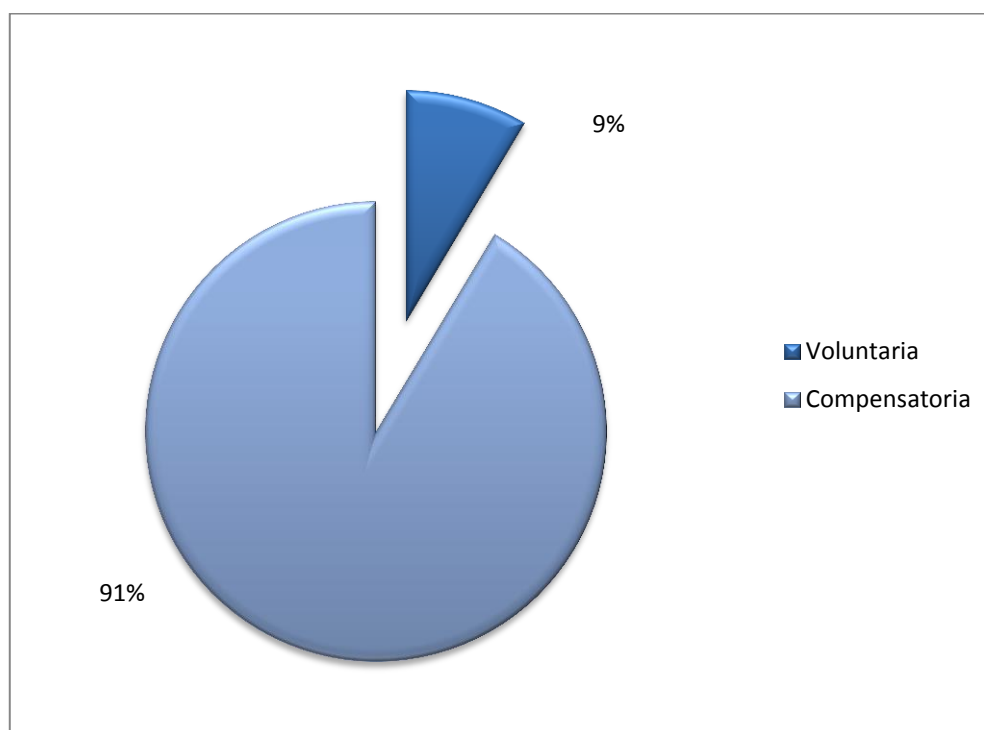
**Gráfico N°4. Resultados Obtenidos en sueros de paneles de pro eficiencia y de reactividad conocida**

Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL

## 4.1 RESULTADOS

### Descripción de la población del estudio.

Se analizaron un total de 384 muestras de donantes de sangre que acudieron al Hospital Carlos Andrade Marín y fueron reactivos para el marcador serológico de Sífilis. Identificándose la existencia de dos tipos de donaciones: 351 donaciones de tipo compensatoria y 33 de tipo voluntaria. (Gráfico N°4.1)

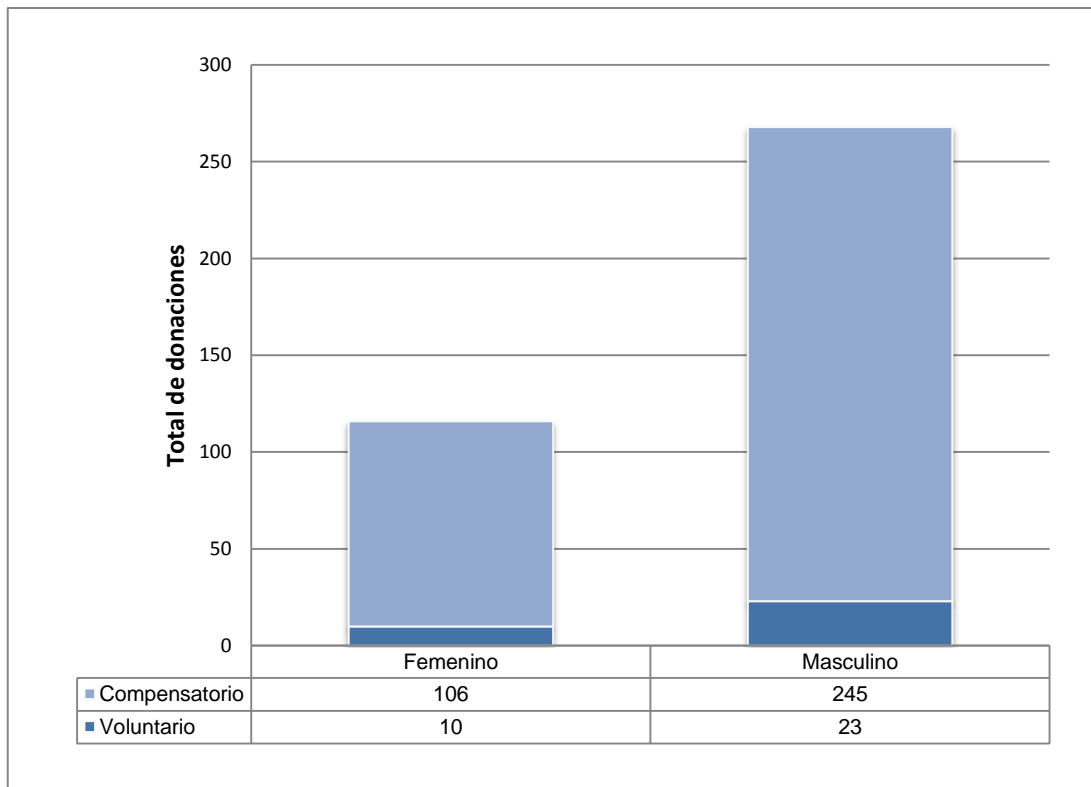


**Gráfico N°4.1. Porcentaje de donaciones de sangre de acuerdo al tipo de donante**

El gráfico muestra la distribución porcentual de los donantes de sangre de acuerdo al tipo de donación que realizan en el banco de sangre.

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: Base de datos CISEAL*

Al analizar el tipo de donación de sangre y el género del donante se identificó que tanto el género femenino como masculino mantienen donaciones de tipo compensatorio mientras que el voluntario es de 8,59%. (Gráfico N°4.2)



**Gráfico N°4.2. Total de donaciones voluntarias y compensatorias de acuerdo al género.**

El gráfico muestra una mayor frecuencia de donantes compensatorios en el género masculino

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: Base de datos CISeAL*

Del total de donantes de sangre analizados con dos pruebas serológicas *no treponémicas* se determinó una frecuencia de 344 donantes compensatorios y 28 voluntarios de sangre que presentaron anticuerpos no treponémicos para el marcador serológico de sífilis, siendo la frecuencia total de 286 (74,47%) donantes. (Tabla N°4.1)

**Tabla N°4.1 Frecuencia de donantes de sangre con resultados reactivos en pruebas no treponémicas de acuerdo al tipo de donación de sangre**

<i>Tipo de donante de sangre</i>			VDRL-II		Total
			NR	R	
<i>Donante compensatorio</i>	VDRL-I	NR	9	81	90
		R	2	263	265
	Total		11	344	355
<i>Donante voluntario</i>	VDRL-I	NR	1	5	6
		R	0	23	23
	Total		1	28	29
<i>Total</i>	VDRL-I	NR	10	86	96
		R	2	286	288
	Total		12	372	384

Tabla muestra la existencia de una mayor frecuencia de donantes con resultados reactivos para el marcador de sífilis en aquellos de tipo compensatorio.

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAI*

De los análisis realizados en pruebas treponémicas se detectó una frecuencia de 154 donantes compensatorios y 11 voluntarios de sangre portadores de sífilis, determinándose una frecuencia total de 165 (42,96%). (Tabla N°4.2)

**Tabla N°4.2 Frecuencia de donantes de sangre con resultados positivos en pruebas treponémicas de acuerdo al tipo de donación de sangre**

<i>Tipo de donante de sangre</i>			FTA		Total
			NEGATIVO	POSITIVO	
<i>Donante compensatorio</i>	EIA	NR	8	2	10
		R	193	152	345
	Total		201	154	355
<i>Donante Voluntario</i>	EIA	NR	1	0	1
		R	17	11	28
	Total		18	11	29
<i>Total</i>	EIA	NR	9	2	11
		R	210	163	373
	Total		219	165	384

*La tabla muestra la presencia de resultados positivos para el marcador serológico de sífilis en los dos tipos de donantes de sangre*

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: Base de datos CISEAI*

Al determinar la existencia de resultados falsos reactivos en la prueba no treponémica de VDRL-I se identificaron 128 (36,05%) resultados en los donantes de tipo compensatorio y 12 (41,37%) en donantes voluntarios de sangre. En contraste se identificaron 17 resultados falsos negativos en donantes compensatorios. (Tabla N°4.3)

**Tabla N°4.3 Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos reactivos en prueba no treponémica VDRL-I**

<i>Tipo donación</i>			<b>FTA</b>		Total
			POSITIVO	NEGATIVO	
<i>Donante Compensatorio</i>	VDRL-I	R	VP 137	<b>FP 128</b>	265
		NR	<b>FN 17</b>	VN 73	90
	Total		154	201	355
<i>Donante Voluntario</i>	VDRL-I	R	VP 11	<b>FP 12</b>	23
		NR	FN 0	VN 6	6
	Total		11	18	29

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL*

Al realizar la misma relación entre los resultados obtenidos con el reactivo de VDRL-II se identificaron un total de 191(53,80%) resultados falsos reactivos en donantes compensatorios y 17 (58,62) en donantes voluntarios de sangre. Con este reactivo se identificó únicamente 1 resultado falso negativo (Tabla N°4.4).

**Tabla N°4.4 Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos reactivos en prueba no treponémica VDRL-II**

<i>Tipo donación</i>			<b>FTA</b>		Total
			POSITIVO	NEGATIVO	
<i>Donante Compensatorio</i>	VDRL-II	R	VP 153	<b>FP 191</b>	344
		NR	<b>FN 1</b>	VN 10	11
	Total		154	201	355
<i>Donante Voluntario</i>	VDRL-II	R	VP 11	<b>FP 17</b>	28
		NR	FN 0	VN 1	1
	Total		11	18	29

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL*

Se determinó que en las pruebas treponémicas metodología Enzima inmunoensayo existe la presencia de resultados falsos positivos tanto en donantes compensatorios como voluntarios en un 54,36% y 58,62% respectivamente. También se identificó dos resultados falsos negativos. (Tabla N°4.5)

**Tabla N°4.5 Frecuencia de donantes de sangre con resultados falsos positivos y negativos en prueba treponémica EIA.**

<i>Tipo de donante de sangre</i>			FTA		Total
			POSITIVO	NEGATIVO	
<i>Donante compensatorio</i>	EIA	R	VP 152	FP 193	345
		NR	FN 2	VN 2	10
	Total		154	201	355
<i>Donante Voluntario</i>	EIA	R	VP 11	FP 17	28
		NR	FN 0	VN 1	1
	Total		11	18	29

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL*

Al relacionar los resultados reactivos obtenidos en las pruebas de VDRL-I y EIA con la prueba FTA muestra la existencia de 138 (47,91%) resultados falsos positivos. En contraste al relacionar los resultados reactivos en VDRL-I y No reactivos en EIA se identificaron 2 resultados falsos negativos (0,69%).

Se identificó que existen 72 (75%) resultados falsos positivos al obtener reportes de VDRL-I No Reactivo y EIA reactivo, mientras que al obtener resultados No Reactivos tanto en EIA como VDRL-I no se detectó la existencia de resultados Falsos Negativos.(Tabla N°4.6)

**Tabla N°4.6 Relación de los resultados obtenidos en pruebas no-treponémicas y treponémicas**

VDRL-I			FTA		Total
			POSITIVO	NEGATIVO	
REACTIVO	EIA	R	VP 146	FP 138	284
		NR	FN 2	VN 2	4
	Total		148	140	288
NO REACTIVO	EIA	R	VP 17	FP 72	89
		NR	FN 0	VN 7	7
	Total		17	72	96

*La tabla muestra la existencia de resultados falsos positivos y negativos obtenidos con pruebas treponémicas y no treponémicas vs prueba confirmatoria*

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAI*

Al analizar los parámetros de validez de las pruebas no treponémicas y treponémicas para la detección del marcador serológico de Sífilis se determinó que posee una alta sensibilidad pero baja especificidad especialmente las pruebas VDRL-I y EIA; mientras que la razón de verosimilitud positivo determina que son pruebas deficientes, en contraste la razón de verosimilitud negativa aporta un valor cercano al 0 que asegura la no confirmación de la enfermedad es decir que los resultados negativos son verdaderos; sin embargo la tasa de falsos positivos indica la existencia de una porcentaje elevado de estos resultados lo que concuerda con la especificidad que presentan están pruebas.(Tabla N°4.7)

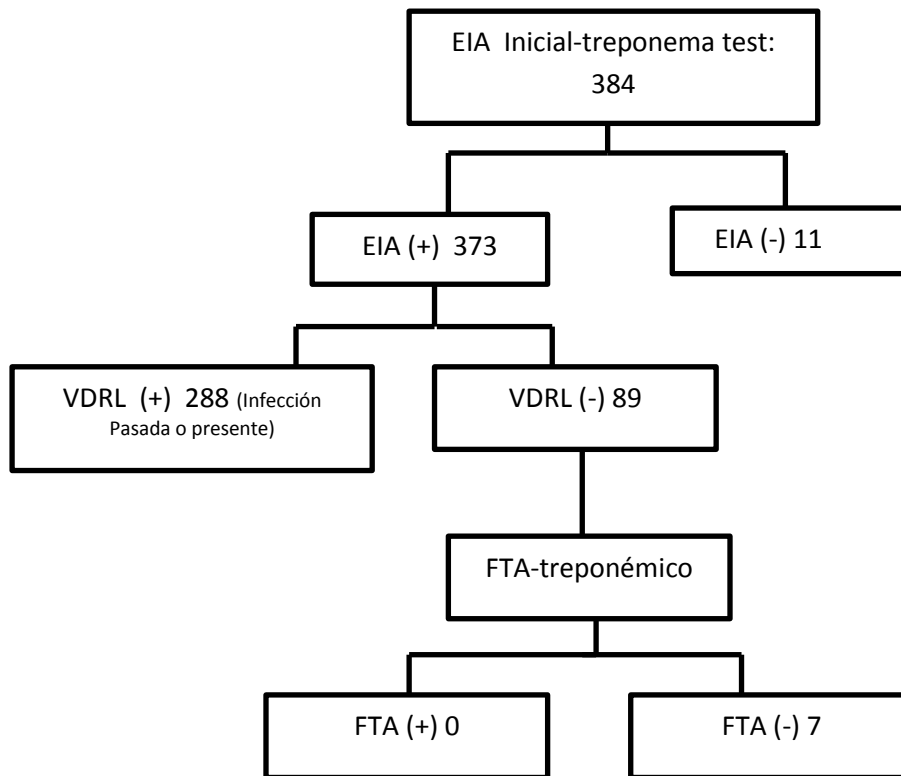
**Tabla N°4.7. Determinación de los parámetros de validación de una prueba diagnóstica**

	<b>Sensibilidad</b>	<b>Especificidad</b>	<b>Valor predictivo positivo</b>	<b>Valor predictivo positivo</b>	<b>Valor predictivo negativo</b>	<b>Valor predictivo negativo</b>	<b>Razón de verosimilitud positiva</b>	<b>Razón de verosimilitud negativa</b>	<b>Tasa de falsos positivos</b>	<b>Tasa de falsos Negativos</b>
<b>Definición</b>	Qué tan bueno es el test detectando posible enfermos	Qué tan bueno es el test en excluir sanos	Si una persona tiene test positivo qué tan probable es que tenga la enfermedad		Si una persona tiene el test negativo qué tan probable es que no tenga la condición		Qué tanto más probable es encontrar el test positivo en alguien enfermo que en alguien sano	Qué tanto más probable es encontrar el test negativo en alguien enfermo que en alguien sano	probabilidad de obtener un resultado positivo en la prueba en una persona sana	probabilidad de obtener un resultado negativo en la prueba en una persona enfermo
<b>Interpretación</b>	Si un test es muy sensible, un resultado negativo descarta la enfermedad	Si un test es muy específico, un resultado positivo confirma la enfermedad	la probabilidad de padecer la enfermedad	Influye la prevalencia: 2,73%	la probabilidad de que un paciente con un resultado negativo no tiene la enfermedad	Influye la prevalencia 2,73%	Cuanto mayor es la RVP (sobre 1) más importante es la contribución de un resultado positivo de la prueba en el diagnóstico de la enfermedad. RVP>10 prueba excelente; RVP 5-10: prueba buena; RVP 2-5: prueba regular; RVP 1-2 deficiente	La RVN valora la contribución de un resultado negativo en la "no confirmación" de la enfermedad más importante cuanto más cerca de 0		
VDRL-I	89,70	36,07	51,39	3,75	82,29	88,45	1,39	0,30	63,93	10,30
VDRL-II	99,39	5,02	44,08	2,81	91,60	64,93	1,04	0,20	94,90	0,60
EIA	100,0	1,41	43,70	2,71	60,00	34,14	1,00	0,71	98,59	5,84

*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: CISEAL*

De acuerdo a los resultados obtenidos se propone el siguiente algoritmo de detección (Tabla N°4.8).

**Tabla N°4.8 Algoritmo propuesto para la detección de Sífilis**



*Autor: Verónica Aguaiza  
Fuente: Base de datos CISeAL*

El algoritmo indica el inicio de la prueba con EIA seguida de una prueba no treponémica VDRL y ante resultados discrepantes debe ser sometida la muestra a un segundo test treponémico.

## 4.2 DISCUSIÓN

En este estudio se estableció que existe un mayor porcentaje de donaciones tipo compensatorio tanto en el género masculino como en el femenino, estos datos indican que el 91% de las donaciones que se obtuvieron fueron por reposición realizadas por un familiar o un amigo del paciente muchas de las veces son donantes obligados que se encuentran bajo presión familiar o social. (World Health Organization, 2010)

Los donantes compensatorios no están aptos o no son conscientes de la importancia de los riesgos que conlleva transmitir una infección a un paciente ya sea por ocultar información sobre su estado de salud o conductas de alto riesgo, esta situación reduce la garantía de seguridad transfusional y aumenta el desecho de hemocomponentes debido a pruebas positivas para el marcadores serológicos como en sífilis. (World Health Organization, 2010)

Los bancos de sangre deben garantizar la calidad y principalmente la seguridad de sangre a transfundirse en los pacientes que lo requieren. La donación voluntaria representa un 9% en este estudio, son donantes altruistas y se encuentran motivados por el deseo de ayudar a otros, además de ser una responsabilidad social y deber moral, sin embargo en los bancos de sangre del país se observa que es bajo el porcentaje de donación voluntaria a pesar de los esfuerzos que realizan en campañas de donación las personas no se convierten a donantes voluntarios repetitivos (Chiriboga & Checa, 2015)

Los resultados reactivos en las dos pruebas no treponémicas (VDRL I y II) y el tipo de donación se obtuvo un mayor porcentaje de reactividad en donantes compensatorios 265 (74,45%), sin embargo se debe mencionar que esta prueba no es específica ya que detecta reaginas que reaccionarán con antígenos no treponémicos como cardiolipina, lecitina y colesterol. (Acharjya, 2012). En cambio, la prueba treponémica (EIA) determinó a 128 (42,96%) de donantes compensatorios positivos para sífilis identificando a un menor número de donantes en relación a la prueba no treponémica, al igual que el estudio realizado por Montiel quien detectó un mayor número de sueros positivos al usar la prueba de VDRL, debido a que esta detecta la presencia de reaginas provenientes del daño que sufren las células del hospedero. (Montiel, Arias, & Pozo, 2008). CDC afirma que estos anticuerpos pueden no ser detectados en estadios muy tempranos o tardíos y no detectables luego del tratamiento, lo que se conoce como seroconversión, también recomienda que para el tamizaje de sífilis se utilice pruebas no treponémicas como el

VDRL pero que debe ser seguido por una prueba treponémica (Centers for disease control and prevention, 2011).

La frecuencia de resultados falsos reactivos en la prueba no treponémica de VDRL-I y II fue de 128 (36,05%) y 191 (53,80%) en donantes compensatorios respectivamente y 41,73% y 58,62% en donantes voluntarios, esto puede deberse a una reactividad cruzada con otras enfermedades como las enfermedades autoinmunes, enfermedades febriles, infecciones virales, etc. (Naidu, Bharucha, Sonawane, & Ahmed, 2012). Kaur menciona que uno de los mayores problemas al utilizar pruebas no treponémicas es la presencia de resultados falsos reactivos debido a una reactividad cruzada existiendo un rango de reactividad entre el 7% y 50% en donantes de sangre pudiendo incrementarse al 80% en regiones industrializadas (Kaur & Kaur, 2014).

Los resultados falsos negativos encontrados en la prueba de VDRL-I es de 17 donantes compensatorios, lo que puede estar relacionado por un efecto prozona donde existe una cantidad excesiva de anticuerpos impidiendo identificar a los donantes correctamente o por encontrarse en una fase latente o tardía de la infección (Naidu, Bharucha, Sonawane, & Ahmed, 2012) (Montiel, Arias, & Pozo, 2008). Estudios previos demuestran que pueden ocurrir falsos negativos en la etapa de sífilis primaria en un 30% y 50% de los casos donde no producen una cantidad suficiente de anticuerpos y que pueden pasar desapercibidos donantes positivos para sífilis. (Gagandeep Kaur, 2014). En la prueba VDRL-II se encontró un falso negativo en ocasiones este tipo de resultado puede deberse a errores técnicos tales como la cantidad de reactivo añadido en la prueba o el mantenimiento de la temperatura del reactivo ya que esta altera su sensibilidad (Kaur & Kaur, 2014).

Las pruebas treponémicas son usadas como pruebas de diagnóstico de sífilis tardía o en pacientes que tienen pruebas no treponémicas no reactivas, es decir ayudan a verificar la reactividad de una prueba no treponémica; sin embargo se debe mencionar que los donantes que han tenido sífilis (en tratamiento o curados) son positivos en las pruebas treponémicas durante años debido a que los anticuerpos Ig G persisten por más tiempo y por lo tanto son detectados. (Linda Sommese, 2016).

En la prueba de EIA se detectó la existencia del 54,36% de resultados falso positivos, de acuerdo a Kaur, las pruebas treponémicas no diferencian sífilis venérea y endémica (*T.pallidum* subsp. *pertenue* (pian) y *T.pallidum* subsp. *carateum* (pinta)) y pueden permanecer reactivas debido a anticuerpos de memoria por lo que no deben ser utilizadas para evaluar respuesta al tratamiento, recaída o reinfección en pacientes

previamente tratados. En este estudio también se identificó la existencia de dos resultados falsos negativos en EIA esto puede deberse a que el donante estaba en etapas primarias de infección y no fueron detectados por esta metodología. (Montiel, Arias, & Pozo, 2008), por lo que el estudio de Kaur determina que estas pruebas sirven para el diagnóstico de sífilis tardía y para pacientes con resultados reactivos en pruebas treponémicas pero con signos y síntomas de sífilis tardía (Kaur & Kaur, 2014).

Al combinar la prueba treponémica (EIA) y no treponémica (VDRL-I), se obtuvo una concordancia de 146 pacientes positivos para este marcador serológico de Sífilis, sin embargo, también existieron 138 (47,91%) falsos positivos, al correlacionar los resultados obtenidos con el reactivo de VDRL II y EIA se obtuvo 72 (75%) de falsos positivos, es por esto que en la investigación llevada a cabo por la CDC algunos laboratorios recomiendan la denominada “secuencia inversa” en la que se utiliza el EIA o CLIA para optimizar el tiempo de las pruebas, seguido de las pruebas no treponémicas (Centers for disease control and prevention, 2011). La existencia de resultados discrepantes pueden ser: infección pasada, tratada o no y persistencia de anticuerpos treponémicos.

La alta variabilidad de los anticuerpos contra el *T.pallidum* indica que los resultados de una sola prueba no siempre son suficientes para la detección precisa, por lo tanto al relacionar los resultados reactivos de las pruebas no treponémica de VDRL con las treponémicas EIA y FTA (inmunocromatográfica) se encontraron 138 (47,91%) resultados falsos positivos y 2 falsos negativos, mientras que ante un resultado de VDRL no reactivo existe 0 falsos negativos, estos resultados son menores al hallazgo encontrado en la CDC de 56,7% de discrepancia entre EIA/CLIA reactivo y prueba no treponémica no reactiva (Centers for disease control and prevention, 2011), sin embargo se menciona que este dato es alarmante en relación al global que fue de 31,6% en el 2008, a pesar de ello se recomienda que las pruebas no treponémicas sean utilizadas en un tamizaje serológico por su valor predictivo negativo.

Los resultados obtenidos demostraron que en las pruebas treponémicas como no treponémicas puede conducirnos a resultados falsos positivos como falsos negativos ya que solo estarían evaluando una etapa del curso de sífilis y no los periodos primarios donde no se producen gran cantidad de anticuerpos o viceversa donde existe una sífilis primaria latente o tardía y además estas pruebas no pueden identificar de forma inequívoca la presencia de sífilis sin una correlación clínica o anamnesis al paciente que lamentablemente en donantes no es minucioso (Montiel, Arias, & Pozo, 2008).

Las pruebas no treponémicas presentan una sensibilidad entre el 89,70 y 99,39%, la prueba treponémica presenta una mayor sensibilidad del 100%, por lo tanto puede identificar correctamente a los pacientes que tienen la enfermedad pero al presentar una baja especificidad no identifican a los pacientes que verdaderamente están sanos; esto es debido a la gran cantidad de falsos positivos obtenidos en cada una de ellas, por lo tanto para realizar el tamizaje en donantes de sangre se debe realizar con una prueba treponémica junto con la confirmación de una segunda prueba treponémica diferente a la primera. (Ratnam, 2005) (Naidu N. K., 2012)

El valor predictivo positivo en VDRL-I y VDRL-II tiene una probabilidad del 51,39% y 44,08% respectivamente en identificar a los donantes que realmente están enfermos pero su valor predictivo negativo es de 82,29 % y 91,60% dato que corrobora la baja detección de falsos negativos; sin embargo en la razón de verosimilitud encontramos una probabilidad de 1,39% y 1,04% y de acuerdo a la interpretación de este resultado para que estas pruebas sean de gran utilidad deben ser mayores para diagnosticar correctamente a los pacientes que verdaderamente están enfermos, siendo estas pruebas deficientes.

Además las pruebas treponémicas presentan una alta sensibilidad pero baja especificidad, la probabilidad de que tenga la enfermedad es del 43,70% (VPP) y en el valor predictivo negativo es de 60%, la deficiencia de estas pruebas hacen que se dificulte identificar a los donantes que verdaderamente están sanos debido a la gran cantidad de falsos positivos encontrados en este estudio. Los datos publicados en CDC, 2011 indican un rango del 12 al 60% de resultados discordantes sin confirmación lo que implica que los resultados iniciales de EIA son falso positivos (Centers for disease control and prevention, 2011).

De acuerdo a los protocolos de CDC, individuos con resultados EIA (+) /VDRL (-) / FTA Inmunocromatográfica (+) presumiblemente podrían haber sido tratados o tener una sífilis latente, sin embargo algunos pueden tener una sífilis primaria, también recomienda que en resultados EIA (+) y VDRL (-) debe someterse la muestra a una tercera prueba treponémica (Centers for disease control and prevention, 2011). En cambio en resultados discordantes como EIA (+), VDRL (-), FTA (-) se deberá realizar un nuevo re-chequeo en cuatro semanas o utilizar un nuevo reactivo lo que sería costoso para un banco de sangre y un mayor tiempo para determinar el resultado.

Por estas razones CDC mantiene el uso de algoritmo tradicional que identifica las personas en infección activa, sin embargo el de secuencia inversa puede detectar más

casos de sífilis activa además que se eliminan los falsos reactivos en VDRL, a pesar de ello siempre requiere de una segunda prueba treponémica encareciendo los costos y no existen estudios del costo-beneficio de un algoritmo inverso (Centers for disease control and prevention, 2011).En este estudio y de acuerdo al análisis de datos se debería mantener un algoritmo “secuencia inversa”.

## 4.3 CONCLUSIONES

- Se determinó que en el banco de sangre del hospital Carlos Andrade Marín existe un bajo porcentaje de donantes voluntarios de sangre lo que aumenta la prevalencia de enfermedades infecciosas como sífilis.
- Se identificó una prevalencia de 74,47% de donantes portadores de anticuerpos reagínicos los que no son específicos para Sífilis.
- Mientras que en las pruebas treponémicas se identificó una prevalencia de 42,96% menor a las no treponémicas.
- El mayor porcentaje de resultados falsos positivos en pruebas no treponémicas fue determinado en las prueba de VDRL-II.
- En las pruebas treponémicas de EIA se detectaron resultados falsos positivos corroborando que estas pruebas exhiben un valor predictivo negativo de 34,14 lo que indica que solo ese porcentaje de donantes realmente no tiene la enfermedad.
- La relación entre prueba no treponémicas y treponémicas identifica la presencia de resultados falsos positivos y negativos, sin embargo cuando coinciden los resultados entre EIA/VDRL estos se confirman con la segunda prueba treponémica (FTA) lo que afirma el uso de un algoritmo inverso.
- El análisis de los parámetros de validez de las pruebas revelan una razón de verosimilitud negativa cercana a 0 en la prueba de VDRL-II indicativo de que la probabilidad de encontrar un resultado negativo en alguien enfermo que en sano es baja (0.2).
- La tasa de falsos positivos revela que la prueba treponémica de EIA tiene un 98,59% de probabilidad de obtener un resultado positivo en una persona sana, en contraste la tasa de falsos negativos identificó una probabilidad de 5,84% de obtener un resultado negativo en la prueba de una persona enferma.
- En la contribución de un resultado positivo de la prueba en el diagnóstico de la enfermedad las tres pruebas obtuvieron un valor de “pruebas deficientes”, por lo que no pueden ser utilizadas solas sino en combinación.
- El algoritmo propuesto de acuerdo a los resultados obtenidos es el de secuencia inversa a pesar del costo que implicará en los bancos de sangre.

## 4.4 RECOMENDACIONES

- Se recomienda la implementación del algoritmo de secuencia inversa en el banco de sangre con la utilización del reactivos VDRL-II a fin de evitar el desperdicio de hemocomponentes.
- Se recomienda establecer el uso de reactivos treponemicos (EIA) que presentes valores de verosimilitud eficaces.
- En resultados discrepante se recomienda utilizar el protocolo establecido por CDC, 2011.
- Debe realizarse la validación y verificación de los reactivos utilizados para la detección de sífilis antes de su uso.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Centers for Disease Control and Prevention. (2015). Recommendations and Reports Sexually Transmitted Diseases. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, Vol. 64 pag.34-46.
- AABB. (2012). Manual Técnico de Asociación de Bancos de Sangre.
- AABB. (2012). Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre. *Manual*.
- Abul K. Abbas, A. H. (2012). *Inmunología celular y molecular*. Madrid España: Elsevier Saunders.
- Acharjya, S. N. (2012). VDRL Test and its Interpretation. *Indian Journal of Dermatology* , 57 (1): 3-8; doi: 10.4103 / 0.019-5154,92666.
- Arias, J. c. (2006). *Muestras Estadísticas*. Obtenido de <http://inmaculadava.maristascompostela.org/Derive/ccss2/02excel/11muestrasexcel.htm>
- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). Manual Técnico de bancos de sangre. *Estándares de trabajo para servicios de sangre, Tercera Edición* .
- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre- AABB. *Manual*.
- Asociación Americana de Bancos de Sangre. (2012). Manual Técnico de la Asociación Americana de Bancos de Sangre-AABB. *Manual*.
- Beltrán, M., Ayala, M., & Jara, J. (2000). La importancia de la encuesta de selección de donantes en el pretamizaje: experiencia en un Banco de Sangre de Bogotá, noviembre-diciembre de 1996. *Biomedica*, Vol 20: 4.
- Benítez Merelo, M. A., Cebollero Agust, A., & Lobato, B. G. (2013). Contribution of automated serological tests in the diagnosis of syphilis: Comparison of 2 chemiluminescence immunoassays with Treponema pallidum hemagglutination assay. *Revista de Laboratorio Clínico*, Vol 6: 82-84. doi:10.1016/j.labcli.2012.07.002.

- Bennington. (2000). *Diccionario enciclopédico de Laboratorio Clínico* . España : Panamericana .
- Bennington, J. L. (2000). *Diccionario enciclopédico del laboratorio clínico*. Buenos Aires, Argentina: EDITORIAL MEDICA PANAMERICANA.
- BIO LINE. (s.f.). *SD Syphilis*. Recuperado el 20 de Abril de 2015, de [http://www.ctr.com.mx/img\\_prod/sifilis30\\_i.pdf](http://www.ctr.com.mx/img_prod/sifilis30_i.pdf)
- Buelvas Cortés, A., Muñiz-Díaz, E., & León de González, G. (2014). *Inmunohematología básica y aplicada*. Colombia: FERIVA.
- Centers for disease control and prevention. (2011). Discordant Results from Reverse Sequence Syphilis Screening —Five Laboratories, United States, 2006–2010. *Morbidity and Mortality Weekly Report*, 132-134.
- César de Almeida Neto, E. L. (2010). Profile of blood donors with serologic tests reactive for the presence of syphilis in São Paulo, Brazil. *NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH*, 330-336.
- Dafna Lipinsky, L. S. (2012). Validation of Reverse Sequence Screening for Syphilis. *Journal of Clinical Microbiology* , 50 (4): 1501. doi: 10.1128 / JCM.06286-11.
- Dorland. (2005). *Diccionario Enciclopédico Ilustrado de Medicina*. España: Elsevier.
- Dueñas, V. H. (2003). *El Banco de Sangre*. Cali: Universidad del Valle.
- Dueñas, V. H. (2003). *El Banco de Sangre* . Cali: Cargraphics.
- Fernández, P. (07 de Diciembre de 2010). *Pruebas diagnósticas: Sensibilidad y especificidad*. doi:Cad Aten Primaria 2003; 10: 120-124
- Fernández, P., & Pértegas Díaz, S. (2003). Investigación: Pruebas diagnósticas . *Unidad de Epidemiología Clínica y Bioestadística*, 1-6.
- Gagandeep Kaur, P. K. (2014). Syphilis testing in blood donors: an update. *Blood transfusion*, DOI 10.2450.0146-14.
- García, J. F. (2012). *Salud pública y epidemiología*. Bogota .
- Hernández, C., Fúnez, R., Repisoa, B., & Frieyro, M. (2013). Utilidad de la inmunohistoquímica con anticuerpos antitreponema en el diagnóstico de la sífilis. *Elsevier Actas Dermosifiliogr*, Vol 104: 926-927 DOI: 10.1016/j.ad.2012.12.011.

- Jean Delamare, Jacques Delamare. (1981). *DICCIONARIO DE LOS TERMINOS TECNICOS DE MEDICINA*. Paris: INTERAMERICANA.
- Kabiri, Z., Benajiba, M., Hajjout, Z., Dakka, N. H., & Bellaoui, H. (2014). Testing for Partial RhD with a D-Screen Diagast Kit in Moroccan Blood Donors with Weak D Expression. *Journal of Blood Transfusion*, 1-4, dx.doi.org/10.1155/2014/204301.
- Kaur, G., & Kaur, P. (2014). Syphilis testing in blood donors: an update. *Blood Transfusion*, 13(2) 197-204.
- Lee, K., Park, H., Youn Roh, E., Shin, S., Un Park, K., & Hee Park, M. &. (2013). Characterization of Sera with Discordant Results from Reverse Sequence Screening for Syphilis. *Biomedical Research International*, Volumen 20: doi.org 10.1155/2013/269347.
- Linda Sommesse, M. R. (2016). Efforts in blood safety: Integrated approach for serological diagnosis of syphilis. *Asian Journal of Transfusion Science*, doi: 10.4103 / 0.973-6.247,164267.
- Ministerio de Salud Pública. (2013). Anuario de Vigilancia Epidemiológica 1994-2013. <http://public.tableausoftware.com/profile/manco.suxio#!/vizhome/ITS/ANUARIO>.
- Montiel, M., Arias, J., & Pozo, E. y. (2008). Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre. *Scielo* , ISSN 0075-5222.
- Morshed, M., & Singh, A. (2014). Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. *Clin Vaccine Immunol*, 26. pii: CVI.00681-14.
- Muhammad G. Morshed Autor, y. A. (2015). Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. *Climical and vaccine Immunology*, 137-147; doi: 10.1128 / CVI.00681-14.
- Naidu, N. K. (2012). Comparative study of Treponemal and non-Treponemal test for screening of blood donated at a blood center. *Asian Journal of Transfusion Science*, 32-35. doi: 10.4103 / 0973-6247,95048.
- Naidu, N. K., Bharucha, Z. S., Sonawane, V., & Ahmed, I. (2012). Comparative study of Treponemal and non-Treponemal test for screening of blood donated at a blood center. *Asian Journal of Transfusion Science*, 6(1), 32–35. doi:10.4103/0973-6247.95048.

- Organización Mundial de la Salud. (2009). Estándares de bancos de sangre.
- Organizacion Panamericana de la Salud. (2009). *Elegibilidad para la Donación de Sangre*. Washington: Organizacion Panamericana de la Salud.
- Paz Burgos, L. E. (2010). Treponema pallidum: ESTRUCTURA Y ANTIGENICIDAD. *Revistas Bolivianas*, ISSN 8888-8888.
- Pedro Sánchez Frenes, M. d. (2012). Las enfermedades infecciosas y la transfusión de sangre. *Rev Latinoamericana Patología clinica*, 186-193, Vol. 59, Núm. 4.
- Quattordio, L. E., Milani, P. L., & Milani, H. L. (2004). Diagnóstico serológico de sífilis Correlación de resultados según técnicas disponibles en el laboratorio. *Inmunología*, 301-306.
- Ratnam, S. (2005). The laboratory diagnosis of syphilis. *Canadian Journal Infectious Diseases Medical Microbiology.*, 45–51.
- Rojó Medina, J. (2014). Enfermedades Infecciosas un Panorama internacional. *Gaceta Médica de México*, 150: 78-83.
- Ruiz de Adana Pérez, R. (2009). Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de un test. *Pruebas diagnósticas*, 30-32.
- Silberman, D. R. (Junio de 2007). *INSTITUTO DE BIOTECNOLOGÍA*. Obtenido de <http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/inmunoquimica.pdf>
- Smith, B. C., Yvonne, S., Smith, B. C., Simpson, Y., & Morshed, M. G. (2013). Proteins for a New Perspective on Syphilis Diagnosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(1), 105–111. doi:10.1128/JCM.01390-12.
- Tagny, C. T. (2011). Syphilis and Blood Safety in Developing Countries. *INTECH OPEN SCIENCE*, DOI: 10.5772 / 21499.
- Vázquez-Campuzano, R., Galnares-Olalde, J. A., Blachman-Braun, R., & Berebichez-Fridman, R. (2014). Doce años de experiencia en el diagnóstico de sífilis en México 2001-2012. *Gaceta Médica de México*, 150 Suppl 1:5-10 PMID: 25643672.
- Wiener lab. (s.f.). *Sífilis ELISA recombinante v.4.0*. Recuperado el 20 de Abril de 2015, de <http://plataformacomercialmedica.com/pdf/insertos/Inmunologia/sifiliselisarecombinantev40sp.pdf>

- Winner Lab . (2000). *Inserto de VDRL* . Obtenido de [http://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/vdrl\\_test\\_sp.pdf](http://www.wiener-lab.com.ar/VademecumDocumentos/Vademecum%20espanol/vdrl_test_sp.pdf)
- World Health Organization. (2010). Towards 100% Voluntary Blood Donation: A Global Framework for Action. *A Global Framework for Action*, ISBN-13: 978-92-4-159969-6.
- X. Fuentes Arderiu, M.J. Castiñeiras Lacambra, J. M. Queraltó Compañó. (1998). *Bioquímica clínica y Patología molecular* . Barcelona : Reverte .

## 6. ANEXOS

ANEXO N°1. Formulario de selección de donantes de sangre y consentimiento informado del donante.

**Hospital Carlos Andrade Marín** Zona: QUITO Provincia: QUITO Ciudad: QUITO  
 Dirección: ... Celular: ...

Fecha de Colecta: ...

### 1. FORMULARIO DE SELECCIÓN DEL DONANTE DE SANGRE (FSDS)

Estimado donante de sangre, Bienvenido y gracias por acudir y por el gesto solidario de donar su sangre que ayudará a salvar la vida de cualquier persona que necesita sangre. Nuestro objetivo es proteger su salud y también la salud de las personas que reciben su sangre. Por favor conteste con sinceridad el siguiente cuestionario y las preguntas que durante la entrevista se le van a realizar. La información que nos brinde es confidencial.

### 2. DATOS PERSONALES DEL DONANTE: Por favor, complete y marque con X.

Apellidos (2): MERA CUBA Nombres (2): [REDACTED]  
 Sexo: Hombre  Mujer  Fecha de nacimiento: Día 27 Mes Julio Año 1957 Edad 59 años  
 Documento de identidad: Cédula  Licencia de conducir  Pasaporte   
 Estado civil: Unión de hecho  Soltero/a  Casado/a  Divorciado/a  Viudo/a   
 Ocupación: debeperadora Lugar de trabajo: QUITO  
 Ciudad y dirección de domicilio: QUITO, Abatorola Moribulo E.S.14 y J.J. Caamoro  
 Teléfono fijo: 2400663 Celular: 0998146154 E-mail: [REDACTED]  
 En caso de emergencia llamar a: esposa Parentesco: Suzunio y Vimco Teléfono: 0987450914

### 3. CUESTIONARIO PARA EL DONANTE: Elija el Donante, por favor lea las preguntas y marque con una X su respuesta.

1. ¿Usted ha donado sangre o plaquetas alguna vez?	SI	NO	1
2. Cuando usted donó sangre o plaquetas ¿presentó alguna reacción adversa?	SI	NO	2
3. ¿Usted ha sido impedido de donar sangre alguna vez? Indique el por qué:	SI	NO	3
4. ¿Ha ingerido alimentos en las últimas 4 horas?	SI	NO	4
5. ¿Ha descansado por lo menos 6 horas?	SI	NO	5
6. ¿Se ha sentido enfermo, ha presentado fiebra, malestar al orinar, dolor de la garganta, congestión nasal u otro tipo de síntomas en los últimos 8 días?	SI	NO	6
7. ¿Usted ha observado la presencia de nódulos, tumores, ganglios inflamados (secas) o lesiones (lagas) en alguna parte de su cuerpo?	SI	NO	7
8. ¿Al momento presenta o ha tenido alergias, problemas de trioides, pulmonares, intestinales, de corazón, hígado, riñones, diabetes, hipertensión, enfermedades de la sangre, u otros?	SI	NO	8
9. ¿Usted tiene o ha tenido algún tipo de cáncer?	SI	NO	9
10. ¿Le han realizado a usted alguna cirugía, endoscopia, colonoscopia, cateterismo o biopsias en los últimos 12 meses?	SI	NO	10
11. ¿Sufrir de convulsiones, mareos o pérdida del conocimiento?	SI	NO	11
12. ¿Ha recibido alguna vez sangre, componentes sanguíneos, trasplante de tejidos, órganos, o tratamientos con hormona del crecimiento?	SI	NO	12
13. ¿Ha sido vacunado en los últimos 12 meses?	SI	NO	13
14. ¿Ha estado en tratamiento dental en los últimos 3 días?	SI	NO	14
15. ¿Ha recibido algún tipo de tratamiento médico, o ha tomado algún medicamento como ASPIRINA en el último mes?	SI	NO	15
16. ¿Ha tenido Hepatitis después de los 11 años de edad, o ha estado en contacto con pacientes con Hepatitis A, B o C?	SI	NO	16
17. ¿Usted ha tenido o ha visitado zonas donde hay dengue, paludismo, enfermedad de Chagas u otra enfermedad tropical en el último mes?	SI	NO	17
18. ¿Ha vivido o ha estado fuera del país en los últimos 6 meses?	SI	NO	18
19. ¿Accidentalmente ha sufrido algún pinchazo o corta con objetos cortopunzantes, o alguna punción con sangre de otra persona, en los últimos 12 meses?	SI	NO	19
20. ¿Se ha hecho tatuajes, orificios corporales, piercings, acupuntura, mesoterapia o maquillaje permanente en los últimos 12 meses?	SI	NO	20
21. ¿Ha recibido o recibe usted dinero o algún tipo de compensación para donar sangre?	SI	NO	21
22. ¿Tiene usted relaciones sexuales?	SI	NO	22
23. ¿En los últimos 12 meses, ha tenido más de una pareja sexual?	SI	NO	23
24. ¿Con su o sus pareja/s sexuales ha utilizado siempre el condón como forma de protección?	SI	NO	24
25. ¿En los últimos 12 meses, ha tenido relaciones sexuales con trabajadores/tes sexuales?	SI	NO	25
26. ¿En los últimos 12 meses, ha recibido dinero o drogas por tener relaciones sexuales?	SI	NO	26
27. ¿En los últimos 12 meses, ha mantenido relaciones sexuales bajo el efecto de alcohol, u otra droga o estupefaciente (inyectable o no)?	SI	NO	27
28. ¿Ha tenido usted o su pareja alguna enfermedad/infección de transmisión sexual (Sífilis, Gonorrea u otra) detectada en los últimos 12 meses?	SI	NO	28
29. ¿Done usted sangre sólo para que se le haga el análisis de VIH/SIDA, Sífilis, Hepatitis u otros exámenes?	SI	NO	29
30. ¿Usted o su pareja sexual han estado detenidos en un centro de reclusión/cárcel en los últimos 12 meses?	SI	NO	30
31. ¿Leyó y comprendió todas las preguntas? ¿Fueron contestadas todas sus dudas al respecto?	SI	NO	31
32. ¿Usted tuvo parto, cesárea o aborto en los últimos 12 meses? Mes: Año:	SI	NO	32
33. ¿Está usted embarazada o dando de lactar? Mes: Año:	SI	NO	33

### 4. DECLARACIÓN Y CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL DONANTE. Apreciado Donante, Lea con atención antes de firmar.

Por mi propia decisión y de manera libre, voluntaria e informada, declaro que la información confidencial proporcionada en este documento y en la entrevista es verdadera y que, en caso contrario asumo toda la responsabilidad. Que, he sido informado sobre el procedimiento de la donación de sangre y/o componentes sanguíneos, de las posibles reacciones adversas que pueden sufrir durante o después de la extracción de sangre propias de estos procedimientos, y que todas mis dudas y preguntas me fueron aclaradas. Consentido para que mi sangre, a título gratuito, sea utilizada exclusivamente para fines transfusionales y, que se realice en mi sangre las pruebas necesarias para identificar el VIH, Hepatitis B, Hepatitis C, Sífilis y Chagas que pueden causar daño en el receptor. Si alguna de las pruebas es reactiva, éste Servicio debe citarme para la toma de nuevas muestras para confirmar dichos resultados. Los resultados reactivos confirmados se me informarán de manera personal y confidencial. Si este Servicio luego de 3 intentos por comunicarse conmigo a las direcciones y teléfonos registrados por mí en éste documento, o si se contactaron y yo no me acerqué al mismo, se notificará los resultados a la autoridad de salud que corresponde.

Firma en la ciudad de: QUITO Fecha: 14.07.2016 Firma o huella digital: [Firma]

### 5. AUTOEXCLUSIÓN VOLUNTARIA DEL DONANTE (Para uso exclusivo del Donante).

Estimada donante, usted va a donar o ya donó sangre. Si sus respuestas no fueron verdaderas durante la entrevista o en el formulario porque sintió temor, vergüenza, fue obligado o presionado por alguna circunstancia, y piensa que su sangre no es segura para ser transfundida, todavía está a tiempo para evitar causarles cualquier infección al paciente que la recibe. Por ello, acedimos a su sensibilidad, valores y principios, para que nos responda con la verdad y de manera confidencial la siguiente pregunta:

¿Considera que su sangre es segura para transfundirse a otra persona? NO  SI

Deposite éste copión en el buzón antes de retirarse. Cualquier duda comuníquese con nosotros inmediatamente.



# ANEXO N°3. Inserto prueba FTA –inmuncromatográfico

## ONE STEP Syphilis anti-TP Test

# SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0

### Explanation of the test

The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test is a solid phase immunochromatographic assay for the qualitative detection of antibodies of all isotypes (IgG, IgM, IgA) against *Treponema pallidum* (TP). This test is intended for professional use as an aid in the diagnosis of syphilis.

*Treponema pallidum* (TP) is the causative agent of the venereal disease syphilis, a disease caused by the spirochetal bacterium *Treponema pallidum* (TP). Clinical diagnostic issues related to syphilis are the detection of syphilis antibodies in human blood by immunoassay. Among the existing immunological methods, the confirmatory serological tests are the application format such as the *T. pallidum* hemagglutination assay (TPHA) and the immunostaining analysis by fluorescent treponemal antibody adsorption test (FTA-Abs). Recently, the EUSA format and immunochromatography format (rapid) to detect antibody of *T. pallidum* are available. Since even highly purified antigens from inoculated TP may contain a certain amount of contaminating materials such as flagella or TP surface TP antigens may cause a non-specific reaction in the assay of test serum samples, and this may result in lower sensitivity and poor reproducibility. To circumvent these potential problems in immunoassays, researchers have constructed TP genes for the expression of recombinant antigens. In bacterium systems such as *E. coli* and focused on TP membrane proteins, which are definitely immunogenic. The major immunoreactive antigens of these membrane proteins have been reported to have a MW 40, 42, 17 and 13kDa based on western blot analysis.

The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 contains membrane strips which is pre-coated with recombinant *Treponema pallidum* antigens (TP, 13kDa) on test band region. The recombinant *Treponema pallidum* antigen-cobal-gold conjugate (TP, 13kDa), patient sample and sample diluent move along the membrane chromatographically to the test region (T) and forms a visible line as the antigen-antibody-gold particle complex forms. Therefore, the formation of a visible line in the test region (T) indicates a positive result for the detection of *Treponema pallidum*-specific antibodies (IgG, IgA, IgM). When the *Treponema pallidum* specific antibodies (IgG, IgA, IgM) are absent in the sample, no visible color band in the test region (T).

### Materials provided / Active ingredients of main components

- SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 strip contains following items to perform the assay
  - 25 SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test strips
  - Assay diluent (1 x 4ml/well)
  - 1 Instructions for use
- Active ingredients of main components
  - 1 test strip includes: Gold conjugates (as main component) Recombinant *Treponema pallidum* antigens (TP, 13kDa)-gold colloid (1 ± 0.2 µg), Test Line (as main component) Recombinant *Treponema pallidum* antigens (TP, 13kDa) (90 ± 4 µg), Control Line (as main component) Goat anti-*Treponema pallidum* serum (0.75 ± 0.1 µg/ml)
  - Assay diluent included: 50 mM Tris-HCl Buffer (4mM), Sodium azide (1%)

### Precautions / Kit storage and stability

- The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test strips should be stored at 2–8°C. Do not freeze the kit or components.
- The test strips is sensitive to humidity and as well as to heat.
- Perform the test immediately after removing the test strip from the bottle.
- Do not use kit beyond the expiration.
- The shelf-life of the kit is as indicated on the outer package.
- Do not use the test strip if the bottle is damaged.

### Specimen collection, storage and precautions

- [Whole blood]**
  - Collect the whole blood using the suitable anti-coagulant.
  - The whole blood may be used for testing immediately or may be stored at 2–8°C up to three days.
- [Serum or Plasma]**
  - [Serum]** Collect the whole blood into the collection tube (NOT containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture, leave to settle for 30 minutes for blood coagulation and then centrifuge blood to get serum specimen of supernatant.
  - [Plasma]** Collect the whole blood into the collection tube (containing anticoagulants such as heparin, EDTA and sodium citrate) by venipuncture and the centrifuge blood to get plasma specimen.
  - If plasma or serum specimens are not immediately tested, they should be refrigerated at 2–8°C for storage period longer than 2 weeks, freezing is recommended. They should be brought to room temperature prior to use.
  - Plasma or serum specimens containing precipitate may yield inconsistent test results. Such specimens must be clarified prior to assaying.
- Precautions**
  - Anticoagulants such as heparin, EDTA, and sodium citrate do not affect the test result.
  - As known relevant interference, haematolytic samples, rheumatoid factors-containing samples and lipemic, icteric samples can lead to impair the test results.
  - Use separate disposable pipettes or pipette tips for each sample in order to avoid cross-contamination of either samples which could cause erroneous results.

### Warnings

- For in vitro diagnostic use only. Do not re-use test strip.
- The instruction must be followed exactly to get accurate results. Anyone performing an assay with this product must be trained in its use and must be experienced in laboratory procedures.
- Do not eat or smoke while handling specimens.
- Wear protective gloves while handling specimens. Wash hands thoroughly afterwards.
- Avoid splashing or aerosol formation.
- Clean up spills thoroughly using an appropriate disinfectant.
- Decontaminate and dispose of all specimens, reaction kits and potentially contaminated materials, as if they were infectious waste, in a biohazard container.
- Do not mix and inter-change different specimens.
- Care should be taken to avoid contamination of the end of bottle when dropping of assay diluent into test tube.

### Procedure of the test

- Allow all kit components and specimen to room temperature prior to testing.
- Add specimen (10µl of serum, plasma, or 20µl of whole blood) and 4 drops of the assay diluent into the empty test tube. And then, mix well.
- Remove the test strip from the container.
- Holding the strip vertically, dip it into the above (2) test tube including specimen (Figure 1).
- As the test begins to work, you will see purple color move across the membrane in the center of the test strip.
- Interpret test results at 5–20 minutes. A positive result will not change once it has been established at 20 minutes. However, in order to prevent any incorrect results, the result should not be interpreted after 20 minutes.
- Especially, when you use the whole blood, please interpret the test results within 10 minutes. In this case, do not interpret after 10 minutes.



[Figure 1] specimen + assay diluent

**Caution:** The above interpreting time is based on reading the test results at room temperature. If your room temperature is significantly lower than 10°C, then the interpreting time should be properly extended to another 10 minutes.

### Interpretation of the test

- Negative Result:** Only control band appear.
  - Only one purple color band adjacent to the control region appears.



- Positive Result:** Two bands appear.
  - Two purple color bands adjacent to test and control band appears.



- Invalid result:** Control band fails to appear.
  - If the control band is not visible within the result window after performing the test, the result is considered invalid. The directions may not have been followed correctly or the test may have deteriorated. It is recommended that the specimen be re-tested.



### Limitations of the test

- The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test will only indicate the presence of TP antibodies in the specimens and should not be used as the sole criteria for the diagnosis of TP infection.
- As with all diagnostic tests, all results must be interpreted together with other clinical information available to the physician.
- If the test result is negative and clinical suspicion is present, additional testing using other clinical methods is recommended. A negative result does not at any time preclude the possibility of TP infection.

### Internal Quality Control

The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test strip has "Test Line" and "Control Line". Both the Test Line and Control Line in result window are not visible before applying any samples. The Control Line is used for procedural control. The control line of the RDT only shows that the diluent has been applied successfully, and that the active ingredients of main components on the strip was still functional, but is not a guarantee that the sample has been properly applied and does not represent a positive sample control.

### Performance characteristics

- The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test has been tested with positive and negative clinical samples tested by a leading commercial TPHA syphilis test. The result shows that the SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test is very accurate to TPHA.

Reference	SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0		Total Results
	Positive	Negative	
TPHA Results	152	1	153
	1	289	290
<b>Total Results</b>	<b>153</b>	<b>290</b>	<b>443</b>

\* Relative sensitivity: 99.76% (152/153) \* Relative specificity: 99.34% (289/290)

- Expected values
  - The SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 test has been compared with a leading commercial TPHA syphilis test. The overall accuracy is greater or equal to 98.0%.
- Reproducibility of SD BIO LINE Syphilis Fast 3.0 has been demonstrated by studies (within-run, between-run and batch-to-batch) with in-house reference panels. All values were identical to reference panel acceptance criteria.

### Bibliography of suggested reading

- Miller W. Value and limitations of serological and serological tests in the laboratory diagnosis of syphilis. Clin. Obstet Gynecol. 18: 191-203, 1975.
- Lefevre J, Bertrand M-A, Baogluad R. Evaluation of Capite enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. J Clin Microbiol. 28: 1794-1797, 1996.
- Singh C, Hunter EL, Larsen SA, Citty DJ. Double conjugate enzyme-linked immunosorbent assay for immunoglobulin G and M against *Treponema pallidum*. J Clin Microbiol. 20: 1109-1113, 1984.
- Kubaga Fujimura, Nobuyuki, Echi Ueno. Reactivity of recombinant *Treponema pallidum* antigens with anti-TP antibodies in human syphilis sera evaluated by EUSA. J Clin Lab Analysis 11: 315-322, 1997.

Date issued : 2014. 02  
06FK12-01-En-1

**Product Disclaimer:**  
While every precaution has been taken to ensure the diagnostic ability and accuracy of this product, the product is used outside of the control of the Manufacturer and Distributor and the result may accordingly be affected by environmental factors and / or user error. A person who is the subject of the diagnosis should consult a doctor for further confirmation of the result.

**Warning:**  
The Manufacturer and Distributor of this product shall not be liable for any losses, liability claims, costs or damages whether direct or indirect or consequential arising out of or related to an incorrect diagnosis, whether positive or negative, in the use of the product.


  
 Manufactured by  
**SD STANDARD DIAGNOSTICS, INC.**  
43, Gwanak-ro, Gwanak-gu, Songpa-gu, Gyeonggi-do, Republic of Korea  
 Tel: 82-31-899-2800 Fax: 82-31-899-2840  
 http://www.standardia.com sales@standardia.com


  
 Authorized Representative  
**MT Promed Consulting GmbH**  
Am Hofackerstrasse 61 D-46389 St. Ingbert Germany  
 Phone: +49 6894 581020, Fax: +49 6894 581021

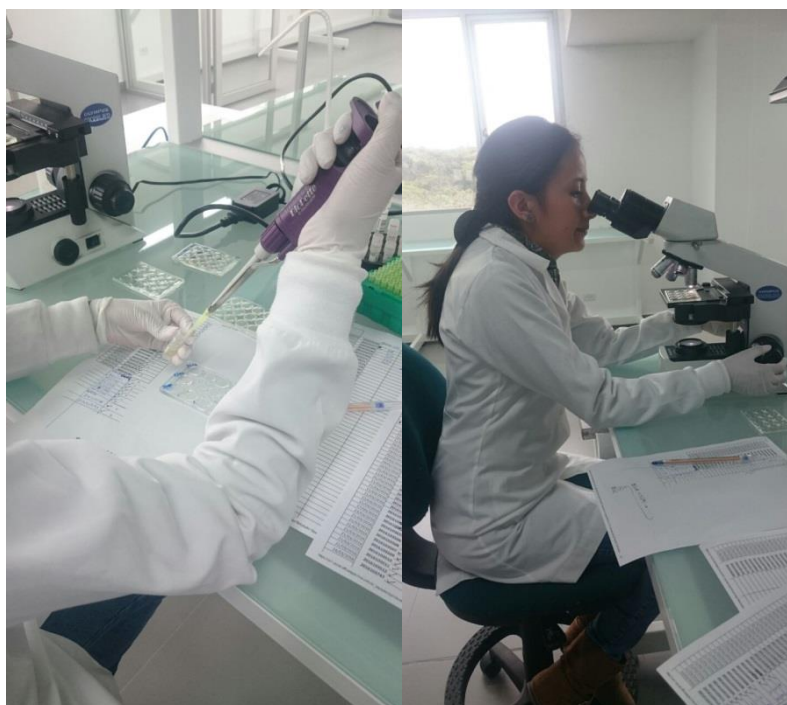
**ANEXO N°4.** Análisis de muestras por pruebas treponémicas y no treponémicas



**Equipo de análisis automatizado de muestras por Electroinmunoensayo**

*Autor: Verónica Aguaiza*

*Fuente: Hospital Carlos Andrade Marín*

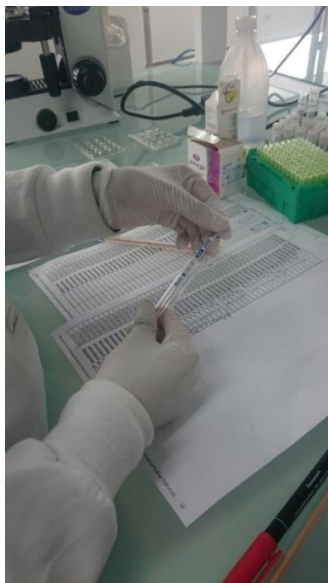


**Análisis manual de muestras reactivas en VDRL**

*Autor: Verónica Aguaiza*

*Fuente: CiSeAL*

## ANEXO N°5. Análisis de muestras por inmunocromatografía FTA



### Análisis de muestras reactivas en inmunocromatografía FTA

*Autor: Verónica Aguaiza*

*Fuente: CISEAL*