

## Hemaglutinación de *Treponema pallidum* para la confirmación de sífilis en Cuba

### *Treponema pallidum* hemagglutination for confirmation of syphilis in Cuba

Dr. C. Islay Rodríguez González,<sup>I</sup> Téc. Eduardo Echevarría Pérez,<sup>I</sup> Lic. Angel A. Noda Ramos,<sup>I</sup> Dra. Marila Rivero Caballero,<sup>II</sup> Lic. Carmen M. Hernández Louhau,<sup>III</sup> MSc. Loyda Machado Villa,<sup>IV</sup> MSc. Hilda Roque de Escobar Martín,<sup>V</sup> Lic. Yudeimy Espinosa López,<sup>VI</sup> Téc. Isabel de la Rosa Gómez,<sup>VII</sup> Téc. Bertha Ricardo Pérez,<sup>VIII</sup> Dra. Miosotis Góngora Torres,<sup>IX</sup> Lic. Abel Ruiz Suárez,<sup>X</sup> Lic. Yedisley Brito Mallea<sup>XI</sup>

<sup>I</sup> Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

<sup>II</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Camagüey, Cuba.

<sup>III</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Santiago de Cuba, Cuba.

<sup>IV</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. La Habana, Cuba.

<sup>V</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Villa Clara, Cuba.

<sup>VI</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Pinar del Río, Cuba.

<sup>VII</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Ciego de Ávila, Cuba.

<sup>VIII</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Granma, Cuba.

<sup>IX</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Las Tunas, Cuba.

<sup>X</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Guantánamo, Cuba.

<sup>XI</sup> Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología. Sancti Spíritus, Cuba.

---

### RESUMEN

**Introducción:** la sífilis es una infección de transmisión sexual reemergente en países desarrollados y en vías de desarrollo. En Cuba permanece como problema de salud y para su diagnóstico serológico solo se emplean pruebas no treponémicas. La hemaglutinación de *Treponema pallidum* (HATP) se usa exclusivamente en el Laboratorio Nacional de Espiroquetas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (LNE-IPK), por lo que se trabajó en su descentralización a los laboratorios provinciales del país como prueba confirmatoria.

**Objetivo:** mostrar los resultados de la aplicación de la HATP para la confirmación de sífilis.

**Métodos:** se estudiaron 1 015 muestras de sueros con resultados reactivos por VDRL/RPR (*venereal disease research laboratories/rapid plasma reagin*) (622 de embarazadas, 25 de puérperas y 368 de otros individuos) en 11 provincias de Cuba. A todas se les aplicó la HATP en el laboratorio provincial y después en el LNE-IPK como control de la calidad. A partir de estos últimos resultados se determinó el porcentaje de confirmación serológica, los porcentajes de resultados falsos positivos por VDRL/RPR y la tasa específica de resultados falsos positivos según el trimestre de gestación de las embarazadas.

**Resultados:** el control de la calidad realizado en el LNE-IPK mostró valores de discordancia entre los resultados de 0 a 30 %. Se confirmó sífilis en 65,0 % de las muestras. El 33,9 % de los resultados reactivos por VDRL/RPR en embarazadas constituían falsos positivos, el 20,0 % en puérperas y 38,3 % en otros individuos. En el caso de las embarazadas los trimestres I y III contribuyen mayormente a este tipo de resultado.

**Conclusión:** estos resultados refuerzan la necesidad de incluir pruebas no treponémicas y treponémicas en el diagnóstico serológico de la sífilis en Cuba, sobre todo en embarazadas.

**Palabras clave:** sífilis, hemaglutinación de *Treponema pallidum*, resultados falsos positivos, diagnóstico.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** syphilis is a reemerging sexually transmitted infection in industrial and developing countries. It remains a health problem in Cuba and for the serological diagnosis, nontreponemal tests are the only used. *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) is used exclusively in the National Laboratory of Spirochetes at "Pedro Kouri" Institute of Tropical Medicine (LNE-IPK), so it was decided to decentralize the conduction of this test, in order that the provincial laboratories throughout the country can perform it as a confirmatory test.

**Objective:** to show the results of applying the TPHA to confirm syphilis.

**Methods:** one thousand fifteen serum samples with reactive results in the VDRL/RPR (*venereal disease research laboratories/rapid plasma reagin*) (622 from pregnant women, 25 from postpartum women and 368 from other individuals) were studied in 11 provinces. TPHA was applied to all sera in the provincial laboratories and later in the LNE-IPK as quality control. From these last results, the percentage of serological confirmation, the rates of false positive results according to the VDRL/RPR and the specific rate of false positives by trimester of pregnancy were all determined.

**Results:** the quality control performed in the LNE-IPK showed discordance values among the results of 0 to 30 %. Syphilis was confirmed in 65% of the samples. Of the reactive VDRL/RPR results, 33.9 % were false positives in pregnant women, 20.0 % in puerperas and 38.3 % in other individuals. The first and third trimesters of pregnancy contributed a lot to this type of result.

**Conclusions:** these results support the need of including nontreponemal and treponemal tests in the serological diagnosis of syphilis in Cuba, mainly for pregnant women.

**Key words:** syphilis, TPHA, false positive results, diagnosis.

La sífilis es una infección de transmisión sexual (ITS) de evolución crónica con períodos asintomáticos. *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*, su agente causal, se disemina de forma sistémica de horas a días después de su inoculación, por lo que se pueden presentar manifestaciones clínicas a nivel de piel, sistema nervioso central, cardiovascular, óseo, y otros.<sup>1,2</sup>

Actualmente la sífilis es considerada una enfermedad reemergente en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo.<sup>3</sup> En Cuba, continúa siendo un problema de salud y es una de las ITS más frecuentes a pesar de que las tasas anuales de morbilidad mostraron un franco descenso desde 2000 hasta 2009, momento en el que se comienza a observar un incremento en sus valores.<sup>4</sup>

Para el diagnóstico de la sífilis se requiere de métodos directos que evidencien el agente causal, y de métodos indirectos que detecten anticuerpos séricos inespecíficos (pruebas no treponémicas o de pesquisa) o específicos (pruebas treponémicas o confirmatorias) contra este agente. La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la combinación de ambas pruebas serológicas para lograr establecer el diagnóstico de esta entidad.<sup>2,5</sup>

El Programa Nacional de Prevención y Control de las ITS en Cuba orienta, para el diagnóstico microbiológico de la sífilis, realizar el examen directo en campo oscuro (EDCO) para la detección de treponemas a partir de las lesiones características, y el diagnóstico serológico a través de las pruebas VDRL (*venereal disease research laboratory*) o RPR (*rapid plasma reagin*), ambas no treponémicas.<sup>6,7</sup> Las pruebas treponémicas no están contempladas en el programa por ser costosas. Hasta 2008 la prueba confirmatoria de hemaglutinación de *Treponema pallidum* (HATP) solo era realizada en el Laboratorio Nacional de Espiroquetas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (LNE-IPK). Los resultados de su aplicación sugerían tomar acciones para descentralizarla, y priorizar su aplicación en grupos importantes como las embarazadas.<sup>8,9</sup> Recientemente, por la ejecución del Proyecto "Expansión y descentralización de las acciones de prevención del VIH/sida y la atención integral y apoyo a las personas que viven con VIH/sida (PVVS) en la República de Cuba" financiado por el Fondo Mundial (Ronda 6), se descentralizó la HATP a nivel de los laboratorios de los Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología (CPHEM) del país para la confirmación de sífilis en embarazadas.

El presente trabajo se propone mostrar los resultados de la aplicación de esta prueba confirmatoria en Cuba durante el período 2009-2011, a partir de su descentralización.

Durante el período 2009-2011 se estudió en 11 provincias del país [Pinar del Río (PR), La Habana (HA), Matanzas (MT), Sancti Spiritus (SS), Villa Clara (VC), Camagüey (CM), Ciego de Ávila (CA), Las Tunas (LT), Granma (GR), Santiago de Cuba (SC) y Guantánamo (GT)], un total de 1 015 muestras de sueros distribuidas en las categorías siguientes: 622 de embarazadas, 25 de puérperas y 368 de otros individuos (pacientes que acudieron a consultas de ITS, donantes de sangre, parejas de embarazadas, reclusos), las que se correspondían con 100 % de las embarazadas y puérperas que presentaron resultados reactivos por las pruebas VDRL/RPR; así como de otros casos, con iguales resultados por estas pruebas, en los que era necesario realizar la confirmación serológica de sífilis atendiendo a las características clínicas y epidemiológicas.

En los laboratorios de los CPHEM se les realizó a cada una de estas muestras la HATP (Centis, Cuba) según las instrucciones de su productor. Posteriormente, se enviaron al LNE-IPK para la realización del control de la calidad de la prueba serológica confirmatoria. Las muestras se enviaron acompañadas de la información

siguiente: categoría del paciente, tiempo de gestación en el caso de las embarazadas, resultados de las pruebas VDRL/RPR y HATP realizadas en el CPHEM de procedencia.

A partir de la información enviada por los CPHEM y los resultados del control de la calidad se determinó el porcentaje de confirmación serológica por provincia, el porcentaje de resultados falsos positivos por VDRL/RPR en cada categoría con sus respectivos intervalos de confianza (IC 95 %), la tasa específica de resultados falsos positivos según el trimestre de gestación de las embarazadas, así como los valores de los títulos de anticuerpos por VDRL/RPR en las muestras a partir del cálculo de las medidas de tendencia central como media geométrica, moda y mediana. Además se compararon los resultados para cada categoría mediante el método de comparación de proporciones independientes utilizando el paquete estadístico EPIDAT v3.1.

El control de la calidad realizado en el LNE-IPK mostró valores de discordancia entre los resultados de 0 a 30 % y teniendo en cuenta que se trata de un sistema estandarizado (comercial), pueden estar dados principalmente por errores técnicos como la no homogenización correcta de los frascos que contienen las células prueba (glóbulos rojos+antígeno), o la incubación de las placas de poliestireno de 96 pocillos con fondo en "U" en lugares que no están libres de vibraciones (Rodríguez I. Experiencia en el uso de los productos VDRL, RPR y HATP. En: Mesa Redonda: Diagnosticadores serológicos para sífilis en Cuba [disertación en el I Congreso Internacional "Espiroquetas Habana 2010"; Habana, 2010]).

Los resultados del control de la calidad están en correspondencia con los reportados en un programa de evaluación externa de las pruebas serológicas utilizadas para el diagnóstico de la sífilis en Corea, donde se reportó una tasa de discordancia entre los resultados por HATP superior a 10 %.<sup>10</sup> Ello indica la necesidad de capacitación de recursos humanos a través de actualizaciones y adiestramientos periódicos dirigidos al personal de laboratorio.

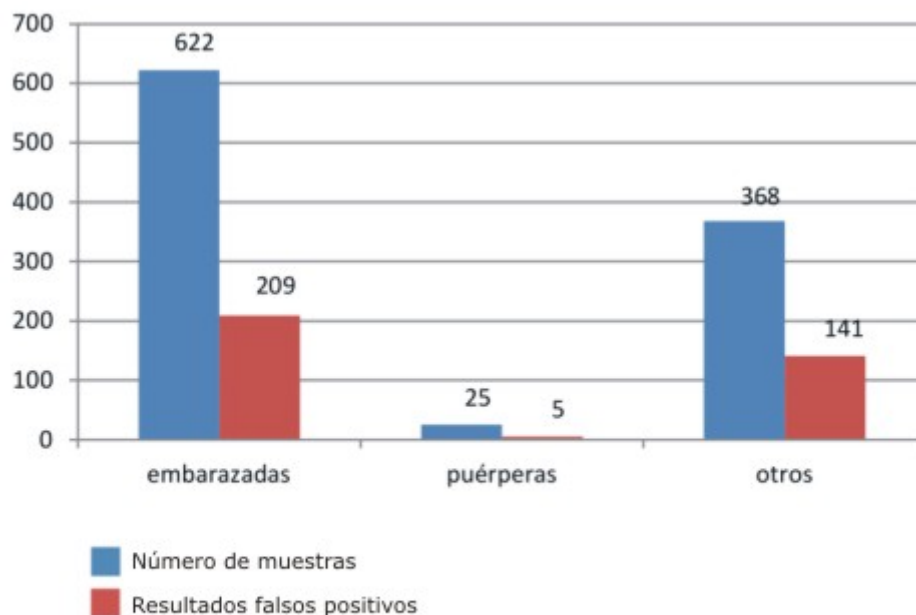
Los resultados de la confirmación serológica de sífilis por HATP según provincia se muestra en la tabla. Como se puede apreciar, según las muestras estudiadas y el período evaluado, las provincias en las que se confirmaron mayor número de casos son SC, LT, GR, PR, VC y HA. Precisamente SC, HA y PR son las provincias en las que se reportaron mayores tasas acumuladas de incidencia de esta ITS durante el período evaluado, no así las otras provincias (IPK. Enfermedades de Declaración Obligatoria-Parte telefónico semanal 2009, 2010, 2011); aunque es conocido que estos valores dependen del tamaño de la población específica de cada provincia.

De estos resultados se deriva que la frecuencia general de resultados falsos positivos por VDRL/RPR fue de 35,0 % (355/1 015), que pueden estar dados por diversas causas tanto infecciosas como no infecciosas, así como por posibles errores técnicos durante la preparación de la emulsión de antígeno o en la lectura al microscopio de la prueba.<sup>9,11,12</sup>

En la figura 1 se presenta el número de muestras según categoría del paciente, con resultados falsos positivos por las pruebas no treponémicas. Se puede constatar que en las embarazadas el valor resultó de 33,6 % (209/622; IC 95 %: 29,8 37,4), en puerperas de 20,0 % (5/25; IC 95 %: 6,8 40,7) y en otros pacientes de 38,3 % (141/368; IC 95 %: 33,2 43,4).

**Tabla.** Confirmación serológica de sífilis por hemaglutinación de *Treponema pallidum* según provincia

Provincia	% de confirmación
Pinar del Río	66,2 (49/74)
La Habana	63,0 (68/108)
Matanzas	100,0 (1/1)
Sancti Spíritus	40,0 (2/5)
Villa Clara	63,4 (144/227)
Camagüey	59,6 (167/280)
Ciego de Ávila	57,1 (36/63)
Las Tunas	76,9 (10/13)
Granma	70,7 (29/41)
Santiago de Cuba	82,3 (135/164)
Guantánamo	48,7 (19/39)
Total	65,0 (660/1 015)



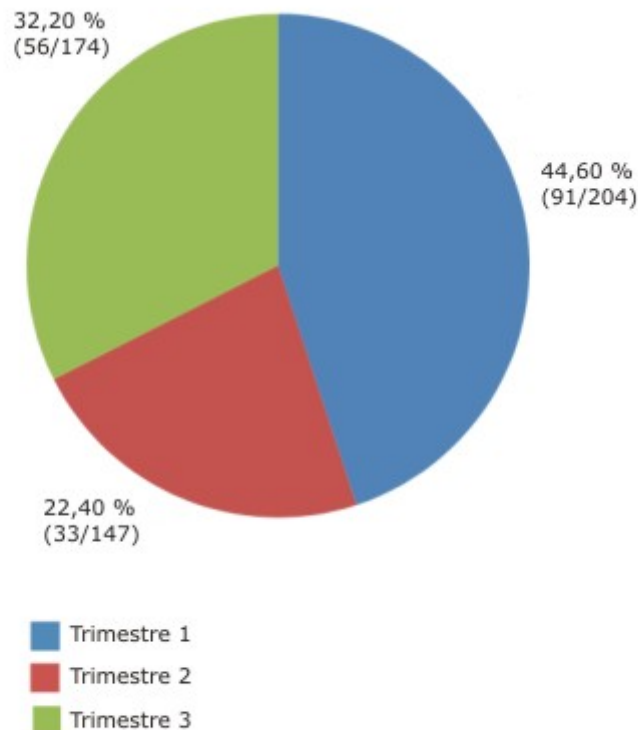
**Fig. 1.** Número de muestras según categoría con resultados falsos positivos por VDRL/RPR (*venereal disease research laboratories/rapid plasma reagin*) .

Al comparar las proporciones para cada grupo de pacientes no se obtuvieron diferencias significativas entre ellas ( $p > 0,05$ ), además de que los intervalos de confianza individuales se superponen, por lo que la probabilidad de obtener resultados falsos positivos por VDRL/RPR es homogénea para cada grupo o categoría, a pesar de que el propio embarazo constituye una variable de riesgo, pero los autores desconocen si los individuos que conformaron la categoría de "otros" presentaban alguna enfermedad aguda o crónica de base.

La frecuencia de resultados falsos positivos por VDRL/RPR detectada en embarazadas en esta investigación es similar al valor reportado (29,2 %) por *Griemberg* y otros en una evaluación realizada en Argentina;<sup>13</sup> sin embargo, ambas son inferiores a la hallada durante una pesquisa de sífilis realizada a embarazadas en Nigeria, donde se encontró que 70 % de las embarazadas con resultados no treponémicos (RPR) reactivos eran falsos positivos al evaluar las muestras por HATP.<sup>14</sup> Todo ello, confirma la necesidad de aplicar pruebas no treponémicas y treponémicas para el diagnóstico de la sífilis en este grupo poblacional.

Por ende, estos resultados demuestran de nuevo la importancia de contar con pruebas confirmatorias de sífilis, fundamentalmente para embarazadas; porque un resultado serológico reactivo o débil reactivo por VDRL/RPR implica, según el Programa Nacional de Prevención y Control de ITS, la localización inmediata del individuo a partir del nombre y apellidos, dirección y consultorio médico, la aplicación enseguida del tratamiento establecido (orientado por el médico de familia), la valoración del paciente por el servicio de dermatología para estudio y definición diagnóstica, la realización de serología por VDRL/RPR a la pareja y la realización de otras 2 serologías en un tiempo máximo de 3 meses (seguir el caso para su definición). Además, en el caso específico de las embarazadas lleva un seguimiento serológico mensual hasta el momento del parto.<sup>6,7</sup> Todas estas acciones no son necesarias si se conoce que el resultado de una prueba confirmatoria es negativo.

La tasa específica de resultados falsos positivos por pruebas no treponémicas según trimestre de embarazo se expone en la figura 2. Para este objetivo solo se pudo contar con información de 84,4 % (525/622) de las embarazadas.



**Fig. 2.** Tasa específica de resultados falsos positivos por VDRL/RPR (*venereal disease research laboratories/rapid plasma reagin*) en embarazadas según el trimestre de gestación.

Como se puede observar, los trimestres I y III contribuyen mayormente a este tipo de resultado, detectándose diferencias significativas entre los resultados del trimestre I con el II ( $p=0.0000$ ) y el III ( $p= 0,0181$ ), no así entre el II y III ( $p= 0,0694$ ). Al determinar los valores de los títulos por VDRL/RPR en las muestras con resultados falsos positivos; se comprobó que estos fluctuaban desde resultados débiles reactivos hasta 64; aunque todas las medidas de tendencia central calculadas (media geométrica, moda y mediana) se correspondían al título de 1, lo que confirma que este tipo de resultado se presenta mayormente a títulos bajos (inferiores a 4). Los casos con títulos iguales o superiores a 8 fueron puntuales.

Los resultados mostrados en este trabajo refuerzan la necesidad de incluir pruebas no treponémicas y treponémicas en el diagnóstico serológico de la sífilis en Cuba. Se recomienda realizar evaluaciones económicas del uso de esta prueba para conocer su costo-beneficio y costo-efectividad, y así ofrecer información a los decisores del Ministerio de Salud Pública.

## AGRADECIMIENTOS

A todos los especialistas que han trabajado en el proyecto de la Ronda 6 de Fondo Mundial, específicamente de la Oficina Nacional de Proyectos (ONP), de la Empresa Ejecutora de Donativos (EMED) y del propio IPK. A los funcionarios del Programa Nacional de Prevención y Control de las ITS del MINSAP por todo el interés mostrado en la ejecución y el seguimiento del proyecto.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tramont EC. *Treponema pallidum* (Syphilis). En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R editors. Mandell, Douglas, and Bennett's principles and practice of infectious diseases. 6 ed. USA: Elsevier Inc; 2005. p. 2768-85.
2. Rodríguez I. Diagnóstico de laboratorio de sífilis venérea. En: Colectivo de autores. Manual de técnicas diagnósticas de las infecciones del tracto reproductivo. Ecimed: La Habana; 2009. p. 79-94.
3. Mattei PL, Beachkofsky TM, Gilson RT, Wisco OJ. Syphilis: a reemerging infection. Am Fam Physician. 2012;86(5):433-40.
4. MINSAP. Anuario estadístico de salud. Dirección Nacional de Estadísticas. La Habana: Ecimed; 2012. p.110.
5. Binnicker MJ. Which algorithm should be used to screen for syphilis? Curr Opin Infect Dis. 2012;25(1):79-85.
6. MINSAP. Programa Nacional de Prevención y Control de ITS. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 1997. p. 11-2.
7. MINSAP. Infecciones de Transmisión Sexual: pautas para su tratamiento. La Habana: Ministerio de Salud Pública; 2004. p. 61-80.

8. Rodríguez I, Álvarez EL, Fernández C. Aplicación de la hemaglutinación de *Treponema pallidum* al diagnóstico de la sífilis venérea. Rev Cubana Hig Epidemiol. 2002;40(2):108-11.
9. Rodríguez I, Fernández C, Martínez MB. Falsos biológicos positivos por VDRL en el diagnóstico serológico de la sífilis. Rev Cubana Med Trop. 2006;58(1):90-2.
10. Song EY, Yang JS, Chae SL, Kim S, Choi YS, Cha YJ. Current status of external quality assessment of syphilis test in Korea. Korean J Lab Med. 2008;28(3):207-13.
11. Monath TP, Frey SE. Possible autoimmune reactions following smallpox vaccination: the biologic false positive test for syphilis. Vaccine. 2009;27(10):1645-50.
12. Zhu WF, Lei SY, Li LJ. Hepatitis C virus infection and biological false-positive syphilis test: a single-center experience. Hepatobiliary Pancreat Dis Int. 2011;10(4):399-402.
13. Griemberg G, Ravelli MR, Etcheves PC, Orfus G, Pizzimenti MC. Sífilis y embarazo. Control prenatal, seroprevalencia y falsos biológicos positivos. Medicina (B Aires). 2000;60(3):343-7.
14. Taiwo SS, Adesiji YO, Adekanle DA. Screening for syphilis during pregnancy in Nigeria: a practice that must continue. Sex Transm Infect. 2007;83(5):357-8.

Recibido: 6 de agosto de 2012.

Aprobado: 5 de febrero de 2013.

*Islay Rodríguez González.* Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Avenida Novia del Mediodía, km 6 ½. La Lisa. Habana, Cuba. Correo electrónico: islay@ipk.sld.cu