

Nueva propuesta metodológica para la pesquisa serológica de sífilis con VDRL-Plus

A new methodological proposal for the serological screening of syphilis using VDRL-Plus

Dr. C. Islay Rodríguez González, Téc. Cecilia Torres Rodríguez, Téc. Eduardo Echevarría Pérez, MSc. Angel Alberto Noda Ramos

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", La Habana, Cuba.

La Habana, 8 de agosto de 2013

Estimado Doctor:

El Programa Nacional de Prevención y Control de Infecciones de Transmisión Sexual reglamenta para la pesquisa serológica de sífilis las pruebas VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) o RPR (detección rápida de reagentes plasmáticos).¹ Ambas constituyen pruebas no treponémicas que emplean como antígeno una suspensión de lípidos complejos compuesta por cardiolipina (fosfolípido extraído del corazón de buey), lecitina y colesterol.²

En Cuba se han utilizado diagnosticadores de este tipo, procedentes de la Empresa de Productos Biológicos "Carlos J. Finlay" y más recientemente del Centro de Isótopos (Centis). Históricamente, la realización del VDRL ha requerido del tratamiento previo de las muestras de sueros con calor (56 °C durante 30 min) para inactivar las proteínas del complemento.³ En la actualidad, la casa española Spinreact comercializa un diagnosticador VDRL que contiene una suspensión antigénica estabilizada y no requiere de la inactivación de las muestras de suero o plasma;⁴ mientras Centis comercializa el diagnosticador VDRL-Plus a partir de

materias primas obtenidas de Spinreact. Este diagnosticador se emplea en la red de laboratorios de Cuba para la pesquisa de sífilis a partir de muestras de sueros inactivados o calentados antes.⁵

Recientemente se publicó en esta misma revista [Rev Cubana Med Trop 2013; 65(2)], por especialistas del Centis, la evaluación de las características funcionales del VDRL-Plus sin la previa inactivación con calor de las muestras de sueros.⁶ El Laboratorio Nacional de Espiroquetas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (LNE-IPK) por su parte realizó la evaluación comparativa del empleo de muestras de sueros inactivadas y sin inactivar en esta prueba, resultados que se muestran a continuación porque ambas evaluaciones contribuyen a la modificación del procedimiento que hasta hoy se sigue en los laboratorios de la red.

Durante el mes de noviembre de 2012 se realizó una investigación de servicios y sistemas para la validación parcial de un método de diagnóstico serológico, en el que se modificó la preparación de la muestra clínica. Se emplearon 167 muestras de sueros humanos divididas en los grupos siguientes:

Grupo I: 109 muestras de sueros frescos procedentes de individuos a quienes se les había indicado extracción de sangre para diferentes exámenes hematológicos y serológicos, durante el mes de noviembre en el Laboratorio Clínico del Hospital del IPK. Se consideró suero fresco a todo aquel que no tuviese más de 24 h de extraído y conservado a temperatura ambiente o de 2 a 8 °C. Las muestras hemolizadas o lipémicas se eliminaron.

Grupo II: 50 muestras de sueros almacenados a -20 °C en la seroteca de sífilis del LNE-IPK entre los meses de marzo y octubre de 2012; de ellos, 30 con resultados no reactivos por RPR y negativos por hemaglutinación de *Treponema pallidum* (HATP) ("individuos sin sífilis"), y 20 con resultados de diferentes grados de reactividad por RPR y positivos por HATP ("individuos con sífilis").

Grupo III: 8 muestras de sueros conservadas a - 20 °C en la seroteca del LNE-IPK entre julio y octubre de 2012 (2 sueros/mes), con diferentes grados de reactividad por RPR y negativos por HATP (falsos biológicos positivos).

De cada muestra de suero se obtuvieron 2 fracciones; 1 se sometió a calentamiento (56 °C/30 min) en baño de agua; mientras la otra se dejó a temperatura ambiente hasta su uso.

A cada fracción de los sueros (inactivados y no inactivados) se les realizó a la par la prueba VDRL-Plus (Centis, Cuba) siguiendo las instrucciones del fabricante.⁵

Los resultados de esta evaluación demostraron una concordancia global (índice de validez) entre ambas variantes de 98,8 %, y un valor de Kappa global excelente (0,9700; IC 95 %: 0,9287-1,0000).

Solo 2 muestras mostraron resultados discordantes, una (del grupo II) con resultado no reactivo al ser inactivada y débil reactivo al emplear suero sin inactivar; y la otra (del grupo III) mostró un resultado contrario. Esta diferencia en los resultados pudiera estar dada por la subjetividad que caracteriza la lectura de este tipo de prueba.^{2,3} Es importante mencionar que ambas muestras tenían resultados negativos por HATP.

Al analizar los resultados según grupo de muestra se constató que la concordancia fue excelente en los grupos I (100 %) y II (98 %), porque los valores de Kappa específicos fueron 1,0000 (IC 95 %: 1,0000-1,0000) y 0,9580 (IC 95 %: 0,8765-1,0000), respectivamente; mientras que en el grupo III (87,5 %) el valor fue de

0,6000 (IC 95 %: -0,0721-1,0000); este valor aceptable estuvo dado por el número bajo de muestras estudiadas, porque solo una mostró resultados discordantes.

Al comparar las proporciones de resultados coincidentes y los coeficientes de concordancia Kappa obtenidos, no se logró diferencias significativas ($p > 0,05$), lo que refleja la elevada concordancia de los resultados al emplear sueros inactivados y sin inactivar en el VDRL-Plus.

Por otra parte, se demostró que los resultados por VDRL-Plus en muestras inactivadas o sin inactivar son independientes del tiempo y modo de conservación de los sueros.

Al evaluar la ocurrencia de variación en la reactividad de las muestras al ser inactivadas o no, se obtuvo variación (exclusivamente de una dilución) en los títulos de 20 % (9/46) de las muestras reactivas; siendo superior en 6 muestras inactivadas con calor y 3 no inactivadas.

Las variaciones en las reactividades en una dilución del mismo suero al repetir un procedimiento no son consideradas como discordancias; ello está muy relacionado con la precisión del ensayo, que puede estar afectado por la variación propia de la marcha técnica o la variación del examinador o analista.⁷ En este caso la marcha técnica no varió, solo se modificó la preparación previa de la muestra; y en cuanto al analista, todas las lecturas para una misma muestra se realizaron por un único examinador, pero no debe obviarse la subjetividad de la lectura que conlleva a este tipo de variación.

Todos los parámetros de desempeño del VDRL-Plus con sueros no inactivados mostraron valores aceptables (tabla). Las variables cualitativas se ubican entre los rangos reportados internacionalmente para este tipo de prueba.^{3,8} El índice de Youden demuestra que se trata de una prueba diagnóstica casi perfecta, y las razones de verosimilitud señalan que la prueba con suero sin inactivar es mucho más probable que sea positiva entre los individuos enfermos que en los no enfermos, y casi no es probable que sea negativa entre los enfermos.

Tabla. Parámetros de desempeño del VDRL-Plus con muestras de sueros no inactivadas por calor

Parámetro	Valor	IC 95 %
Sensibilidad (%)	97,83	92,52-100
Especificidad (%)	99,17	97,15-100
Valor predictivo positivo (%)	97,83	92,52-100
Valor predictivo negativo (%)	99,17	97,15-100
Índice de Youden	0,97	0,92-1,02
Razón de verosimilitud positiva	118,37	16,80-833,92
Razón de verosimilitud negativa	0,02	0,00-0,15

Los resultados del presente estudio avalan que el calentamiento de los sueros para la inactivación de las proteínas del complemento no es necesario cuando se emplea como diagnosticador el VDRL-Plus, pudiéndose proceder como se describe para la prueba de detección de reaginas en suero no calentado (USR, de sus siglas en inglés *Unheated Serum Reagines*) y para el RPR. En estas pruebas los antígenos

están estabilizados gracias al empleo de cloruro de colina, agente químico que actúa sobre las proteínas del complemento.³ Al respecto no se ofrece información para el antígeno del VDRL estabilizado (Spinreact) y del VDRL-Plus (Centis).^{4,5}

Estos resultados se informaron oportunamente a Centis (fabricante) para sugerir la modificación en el procedimiento de la prueba, con lo cual se logrará la reducción del tiempo de ejecución, el ahorro de recursos y superar las dificultades existentes con la disponibilidad de baños de agua termostatados en la red de laboratorios del país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MINSAP. Infecciones de Transmisión Sexual: pautas para su tratamiento. Cuba: MINSAP; 2004. p. 61-80.
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. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev. 1995;8(1):1-21.
4. Literatura interior de VDRL Stabilized, SPINREACT, SGIS09E-I 02/03/12 [citado 22 May 2013]. Disponible en: [http://www.spinreact.com/files/Inserts/Serologia/SGIS09 -
Ref. 1200405 VDRL stabilized 2012.pdf](http://www.spinreact.com/files/Inserts/Serologia/SGIS09-_Ref._1200405_VDRL_stabilized_2012.pdf)
5. Literatura interior de VDRL Plus, CENTIS, ESP: 7720, Emisión 07, Marzo 2012. La Habana: CENTIS; 2012 [citado 22 May 2013]. Disponible en: <http://www.centis.cu/productos.php?idcat=33>
6. Castro M, Cruz J, Pérez CR. Evaluación de las características funcionales del juego de reactivos VDRL Plus. Rev Cubana Med Trop. 2013;65(2):234-41.
7. Roque de Escobar H, Hernández C, Sánchez ML, Pastrana AC, Rodríguez I. Propuesta y evaluación de un modelo estadístico para el control de la calidad de las serologías VDRL/RPR. Rev Cubana Med Trop. 2013;65(2):223-33.
8. Estrada S. Las pruebas rápidas en la promoción, prevención y diagnóstico de la sífilis. Infect. 2008 [citado 9 jun 13];12(4):287-296. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v12n4/v12n4a07.pdf>

Recibido: 9 de agosto de 2013.

Aprobado: 11 de septiembre de 2013.

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