



Sífilis, ¿uso y abuso de una prueba serológica?

Guillermo Escamilla Guerrero*

* Jefe de Lab. del Banco de Sangre, Instituto Nacional de Pediatría. Químico adscrito al Banco de Sangre HOSGENAE.

Resumen

El primer marcador serológico empleado en la selección del donante de sangre, se ha visto sometido a la evolución propia de la tecnología, inicia como una prueba que detecta anticuerpos contra antígenos específicos, treponemas patógenos, continúa como un ensayo que detecta anticuerpos contra antígenos no específicos, una combinación de cardiolipinas (prueba de reagentes) y finaliza el siglo regresando a sus orígenes. Las fuertes campañas para erradicar esta patología de la faz de la tierra, han conllevado a la práctica desaparición de los reportes de incidencia asociada a la transfusión. Esto ha puesto en tela de juicio el beneficio de su empleo como ensayo de tamizaje. Usarla o no usarla, éste es el dilema.

Palabras clave: Treponémico, no treponémico, reagin, VDRL, RPR.

La sangre, con el sentido mágico religioso o carente de él, al emplearse desde baños terapéuticos hasta otros usos, siempre ha implicado un riesgo, mismo que el hombre ha intentado abatir; ejemplo de ello es la implementación de grupos sanguíneos, reformas en la historia clínica que se aplican al seleccionar donadores así como los estudios de tamizaje de marcadores microbiológicos y la implementación de su detección vía amplificación de RNA o de DNA, para rematar en nuestros días con la inactivación de posibles patógenos en el producto final.

Abstract

The first used serologic marker in the selection of the blood donors, has been put under the own evolution of the technology, initiates test to detect antibodies produced against specific for pathogenic treponemes, continuous a test to detect antibodies produced against nonspecific treponemal antigens, that is, the cardiolipin or lipoidal antigen test («reagin test») and finalizes the century returning to its origins. The strong campaigns to eradicate this pathology of the earth face, have entailed to the practical disappearance of the reports of incidence associated to the transfusion. This has put in judgment fabric the benefit of its use like tamizaje test. To use it or not to use it, this is the dilemma.

Key words: Treponemic, non-treponemic, reagin, VDRL, RPR.

La implementación de estas reformas ha caminado de la mano con la evolución de los conceptos de sangre «segura» al de sangre «estudiada». Si consideramos que el aporte y provisión de sangre «estudiada» es responsabilidad de la autoridad sanitaria, es entendible el interés manifiesto por parte de éstas en establecer y normar las instancias pertinentes a fin de prevenir las infecciones transmitidas por transfusión (ITT).

Los impactos observados en los últimos 25 años como la aparición del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en la década de los 80 como un pro-

blema mundial y en los últimos años la percepción de riesgo en países latinos con el problema de la enfermedad de Chagas y de la Brucelosis, así como su relación con la transfusión de sangre, concomitante a ello el terror en los usuarios de la misma y por ende la presión ejercida hacia los sistemas de salud para garantizar la seguridad de la misma, culminando todo esto en las modificaciones realizadas en los Bancos de Sangre tal como la implementación de un programa que permita mantener un stock de donadores de bajo riesgo, el uso racional y apropiado de la sangre e incorporación de los más recientes desarrollos tecnológicos que desafían a las metodologías clásicas actualmente en uso con el objetivo de detectar y prevenir la transmisión de agentes infecciosos vía transfusión. Sin embargo, considerando el origen biológico del producto más que de manufactura, es casi imposible reducir el riesgo a CERO.

Dos factores importantes en prevenir la transmisión de agentes infecciosos secundarios a una transfusión son la selección cuidadosa del donante y las pruebas de tamizaje que se le realizan. Son aproximadamente 65 años de la incorporación de técnicas para la detección y de los marcadores serológicos a estudiar.¹

Sífilis²

La sífilis surge en el siglo XX como el mayor problema de salud que aquejaba a la sociedad. En 1905 Schaudinn y Goffmann toman una muestra de una lesión en una persona con sífilis, y realizan una modificación de la tinción de Giemsa; en base a este resultado postulan la asociación entre la *Spirochaeta pallida* o *T. pallidum* con la sífilis. Un año después August von Wasserman desarrolla una prueba para la detección de la sífilis, para ello aplica algunas variaciones sobre la prueba de fijación del complemento implementada por Bordet y Gengou (1901). Wasserman emplea como antígeno un extracto de hígado obtenido de un recién nacido que murió de sífilis congénita. Una limitante en esta técnica, como se podrá observar, era el antígeno de Wasserman. Años después Landsteiner demuestra que otros extractos de diferentes tejidos se podían reemplazar con eficacia similar a este antígeno. Propone el extracto alcohólico obtenido del corazón de la res. En base a diferentes estudios se adiciona el colesterol y lecitina, lo que incrementa la sensibilidad de la prueba. Grandes problemas se presentaban en la realización de la prueba para grandes bloques ya que requerían el empleo complemento, diversos reactivos

y sobre todo un tiempo promedio de 24 horas para su realización.

En 1907 Michaelis, y Meinicke en 1917, modificando la forma de extracción mediante agua y cloruro de sodio, e implementan el primer ensayo mediante la precipitación que no requería complemento. Para el año de 1922, Kahn introduce las pruebas de floculación que podían ser leídas en pocas horas. Durante 18 años a partir del desarrollo de la técnica de Kahn se presentó en el ámbito científico las mil y un variaciones sobre ella; sin embargo, todas éstas tenían un problema en común, la estandarización de la misma, afectando directamente la sensibilidad y especificidad del ensayo.

Es 1941 se tiene un giro interesante; Pangborn, basado en los experimentos de Landsteiner, empleando como fuente de muestras el corazón de una vaca, logra aislar un fosfolípido al que en función de su origen denomina «cardiolipina». Al combinarse con el colesterol y la lecitina generó un antígeno serológicamente activo, presentaba buena sensibilidad y especificidad, además se podía estandarizar. Surgen así técnicas de floculación como son el VDRL; (Venereal Disease Research Laboratory), Investigación por Laboratorio de Enfermedad Venérea. Al agregarle algunos aditivos como el EDTA y cloruro de colina se estabilizaba el antígeno y se amplificaba tanto la reactividad como la sensibilidad del ensayo. La realización de los ensayos hasta ese momento requería de un calentamiento previo del suero a probar. Surge en este momento el USR; (unheated serum reagin), Reagina sin calentamiento de suero, implicando la eliminación del paso previo de calentamiento de suero. Estos adelantos permiten la entrada de una técnica revolucionaria, desarrollada para trabajar grandes lotes de muestras: el RPR (rapid plasma reagin test), Prueba rápida de las reaginas del plasma, ésta su primera versión no tuvo gran éxito, carecía de especificidad y el volumen de plasma no estaba definido. Andujar y Mazurek, en 1958, conjuntan dos técnicas para ser aplicadas en recién nacidos y niños pequeños; éstas son el plasmacrito obtenido a partir del hematócrito y el RPR. La prueba del RPR sufre cambios sustanciales; inicialmente se desarrolla un sistema de tarjeta más la adición extra de partículas de carbón que le confieren mayor estabilidad, posteriormente se presentan tarjetas con recubierta plástica. En 1960 aparece en el mercado un automatizado para la prueba en tarjeta del RPR, se implementa en Bancos de Sangre y en las zonas de admisión de

Hospitales. En la década de los 70, cuando la incidencia cae abruptamente, en diversas zonas se deja de exigir el RPR. En 1982 se presenta un ELISA empleando el antígeno del VDRL en el mercado.³

Considerando el número de falsos positivos que presentaban estos ensayos, en 1949 Nelson y Mayer desarrollan la primera prueba treponémica: el TPI (T. pallidum immobilization). Inmovilización del T. pallidum era una prueba que se caracterizaba por ser difícil, tardada y requería personal altamente capacitado. Se realiza un intento a fin de agilizar el ensayo y en 1953 Dállesandro y Dardanoni preparan un antígeno de T. phagedenis conocido como antígeno Reiter; realmente acortaba el tiempo, tenía buena sensibilidad, pero también un mayor número de falsos positivos que el TPI. Es en 1957 que se desarrollan las técnicas basadas en fluorescencia llamada FTA (Fluorescent Treponemal Antibody), Fluorescencia del anticuerpo contra treponema, donde se desafía el suero del paciente en dilución predeterminada ante treponemas muertos, se revela la reacción con un anti-anticuerpo conjugado. La dilución inicial fue de 1:5, lo que daba varios falsos positivos. Se realiza una modificación y la técnica es bautizada como FTA-200 (suero del paciente con dilución de trabajo de 1:200). Prueba altamente específica pero poco sensible. A fin de incrementar este último parámetro es que Deacon y Hunter preparan un sonicado a partir de un cultivo de espiroquetas de Reiter y extraen el antígeno en común mediante absorción, con éste preparan un nuevo ensayo denominado FTA-ABS o «FTA Absortion» pruebas que permanecen hasta nuestros días. En 1965 Rathlev reporta el primer ensayo basado en técnicas de hemaglutinación par el diagnóstico serológico de sífilis. La base se conformaba de eritrocitos previamente tratados con ácido tánico y posteriormente sensibilizados con T. pallidum, el primer formato se presentaba en tubo, migra lentamente a la placa.^{4,5}

A partir del desarrollo el primer ensayo para la detección de sífilis, la estandarización y evaluación de las reformas ha sido el principal trabajo de los químicos. Los principales factores que se toman en consideración son la sensibilidad (capacidad de detectar la enfermedad en sujetos que la padecen, reactivo en pacientes con sífilis), la especificidad (poder de discriminación con sujetos que no padecen la enfermedad, negativo en sujetos sanos) y reproducibilidad (la capacidad del ensayo para dar el mismo resultado cuando se desafía con la misma muestra n veces). Considerando la versatilidad de las pruebas no treponémicas, así como el costo de las mismas, son empleadas como pruebas de tamizaje en los Bancos de Sangre. A aquellos donantes que son reactivos en este ensayo, se les práctica prueba clasificada como treponémica. Las técnicas de ELISA para detección tanto de anticuerpos del tipo IgG como IgM van desplazando lentamente a las pruebas de FTA-ABS en sus diferentes variantes como confirmatorias.^{6,7} Basados en el formato establecido para el Western Blot practicado con las muestras reactivas al marcador del VIH, se realizaron algunos intentos para generar su aplicación en la confirmación de sífilis con la capacidad para detectar anticuerpos del tipo IgG o IgM.^{8,9}

En México se comercializaba tanto ensayos treponémicos como no treponémicos, que daban varios resultados falso positivos; en algunos casos se contaba con la técnica de FTA-Abs, que requería personal y equipo especializado para su realización; como respuesta a esto se introdujeron en el mercado pruebas igualmente específicas pero más sencillas de realizar y sin la necesidad de equipo especial como fue el caso de las técnicas de hemaglutinación y aglutinación pasiva. La comparación entre especificidad y sensibilidad se presentó en el taller de «Control de Calidad en Bancos de Sangre en México»¹⁰ (Cuadro I).

En 1937, tanto en Estados Unidos como en gran parte del mundo, el mencionar por la radio o en pe-

Cuadro I. Comparación de reactivos comerciales para detección de sífilis.

Reactivo	Sensibilidad	Especificidad	VPP*	VPN**	Prevalencia
USR	60.9	97.7	78.9	95.4	11.8
VDRL	73.9	97.1	95.4	11.8	
RPR (Interbiol)	65.2	97.7	79.0	95.4	11.8
RPR (Interdiga)	65.2	97.7	79.0	95.4	11.8
Serodia-TP	91.3	99.41	95.5	95.4	11.8
Serodia TP-PA	91.3	99.41	95.5	95.4	11.8

riódico la palabra «sífilis» motivaba causa de censura, poseían un reporte de que 640,000 personas eran tratadas de este mal en los centros de salud y se estimaba que aproximadamente 1.4 millones no estaba reportado y por lo tanto no recibía atención médica, sin embargo la terapia transfusional se practicaba infundiéndole directamente del donador al receptor, apoyados con una pequeña bomba y se incrementaba el riesgo de contagio vía transfusión, aun para el donador (posible reflujo).¹¹ En la década de los 40 se aplicaba la entrevista clínica donde se enfatizaba cuestionamientos tales como el empleo de drogas, viajes realizados o historia de hepatitis personal o familiar. A fin de establecer cierta presión se les solicitaba jurar decir verdad en relación de no haber padecido sífilis o malaria; aunado a ello se realizaban los ensayos para descartar sífilis.¹² Si éste era negativo, se convertían en donadores.

El primer caso reportado de transmisión de sífilis por transfusión es de 1915;¹³ un promedio de 100 casos más se registraron entre ese año y el inicio de la Segunda Guerra Mundial. Cuatro meses después de la transfusión se manifestaba como una sífilis secundaria, corroborando esto con la prueba de Wassermann. En la Segunda Guerra Mundial se inicia el almacenamiento en refrigeración de la sangre recolectada, condiciones letales para las espiroquetas. Así mismo, la forma de almacenamiento de plaquetas a temperatura ambiente en bolsas de plástico que permitían la difusión del oxígeno aparentemente generaba condiciones inadecuadas para las espiroquetas (anaerobias).¹⁴ En 1966 se da el último reporte en Estados Unidos de la transmisión de sífilis post transfusión. De los 30 casos implicados, 27 disponen al ser reestudiados, demostraron ser negativos a este ensayo.¹⁵ En 1978, dada la ausencia de reportes de transmisión de esta patología, el Comité de Estándares de Bancos de Sangre de la Asociación Americana (AABB), retiran esta prueba de tamizaje para los donadores.¹⁶ La aparición del SIDA los hace recaptar; en los Estándares de 1991 se reincorpora este ensayo como obligatorio, aunado a ello, en una conferencia realizada en 1995¹⁷ se establece que esta prueba tenía la posibilidad de detectar al menos a un donador por año que no presentaba anticuerpos detectables para el HIV.^{18,19}

En el editorial de Louis M. Katz²⁰ se menciona que algunas enfermedades han perdido su prestigio, ya no son lo mismo. Las explicaciones para la «desaparición» de la transmisión de la transfusión del sífilis, a

pesar del funcionamiento de la prueba, incluyen: 1) la disminución dramática en la incidencia de la sífilis temprana, redujo el número de reservorios capaces de transmitir la enfermedad; 2) el dejar las transfusiones directas de donante a receptor; 3) la sobrevivencia afectada del *Treponema pallidum*, cuando almacenan a 4°C la sangre que lo contiene, o su afectación con la diferencia de presiones de oxígeno al que se ve sometido en concentrados plaquetarios; 4) la administración de antibióticos a casi todos los pacientes internados; 5) la falta de reportes asociados a esta patología post-transfusión; 5) la no aceptación de donadores que tiene prácticas de riesgo^{21,22}

Tomando las reflexiones anteriores, la pregunta sigue en el aire: ¿es factible retirar este ensayo de las pruebas de tamizaje del donante? ¿Podemos asegurar que no se tendrá una reacción transfusional adversa asociada a este marcador?, ¿Las políticas nos impulsan a ver otras enfermedades emergentes, y dirigir los apoyos económicos y científicos hacia ese rumbo?

Referencias

1. «Guerra de la sangre» en Historia de la sangre, Starr Douglas. 1ed. 2000: 81-198.
2. Carrada BT. El diagnóstico de laboratorio de la sífilis. Rev Mex Patol Clin 2003; 50: 82-96.
3. Pedersen NS, Orum O, Mouritsen S. Enzyme-linked immunosorbent assay for detection of antibodies to venereal disease research laboratory (VDRL) antigen in syphilis. J Clin Microbiol 1987; 25: 1711-1716.
4. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 1-21.
5. Cable RG. Evaluation of syphilis testing of blood donors. Trans Med Rev 1996; 10: 296-302.
6. Moyer NP, Hudson JD, Hausler WJ. Evaluation of the Bio-EnzaBead Test for syphilis. J Clin Microbiol 1987; 25: 619-623.
7. Lefebvre JC, Bertrand MA, Bauriaud R. Evaluation of the Capita enzyme immunoassays for detection of immunoglobulin G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. J Clin Microbiol 1990; 28: 1704-1707.
8. Byrne RE, Laske S, Bell M, Larson D, Phillips JP, Todd J. Evaluation of a *Treponema pallidum* Western immunoblot assay as a confirmatory test for syphilis. J Clin Microbiol 1992; 30: 115-122.
9. Meyer MP, Hedi T, Baughn RE. Analysis of Western blotting (immunoblotting) technique in diagnosis of congenital syphilis. J Clin Microbiol 1994; 32: 629-633.
10. Taller de «Control de Calidad en Bancos de Sangre en México» SSA, CNTS, OMS. 1995.
11. Schmidt PJ. Syphilis, a disease of direct transfusion. Transfusion 2001; 41: 1069-1071.
12. «Germ, genes, and genomes» by Y. Dood R. In: Blood Safety in the New Millennium by Strammer Sussan L. AABB 2a Ed. Bethesda, Maryland (USA). 2001: 97-118.

13. Orton S. Syphilis and blood donors: What we know, what we do not know, and what we need to know. *Trans Med Rev* 2001; 15: 282-292.
14. Leikola J. Does it make sense for blood transfusion services to continue the time-honored syphilis screening with cardiolipin antigen? *Vox Sang* 1981; 41: 183-192.
15. Chambers RW, Foley HT, Schmidt PJ. Transmisión of syphilis by fresh blood components. *Transfusion* 1969; 9: 32-34.
16. Oberman HA, editor. Standards for blood banks and transfusion services. 9th ed. Washington: American Association of Blood Banks. 1978.
17. Widmann FK. editor. Standards for blood banks and transfusion services. 14th ed. Washington: American Association of Blood Banks. 1991.
18. Greenwalt TJ, Ríos JA. To test or not to test for syphilis: a global problem. *Transfusion* 2001; 41: 976.
19. Herrera GA, Lackritz EM, Janseen RS, Raimondi VP, Dodd RY, Aberle-Grasse J, Petersen LR. Serologic test for syphilis as a surrogate marker for human immunodeficiency virus infection among United States blood donors. *Transfusion* 1997; 37: 836-840.
20. Katz LM. A test that won't die: the serologic test for syphilis. *Transfusion* 2009; 49: 617-619.
21. van der Sluis JJ, PC de Onvlee, Kothe FC, Vuzevski VD, GM de Aelbers, Menke HE. Transfusion syphilis, survival of *Treponema pallidum* in stored donor blood. I Report of an orientating study. *Vox Sang* 1984; 47: 197-204.
22. van der Sluis JJ, diez Kate FJ, Vuzevski VD, Kothe FC, GM de Aelbers, van Eijk RV. Transfusion syphilis, survival of *Treponema pallidum* in stored donor blood. II Dose dependence of experimentally determined survival times. *Vox Sang* 1985; 49: 390-9.

Correspondencia:

M. en C. Guillermo Escamilla Guerrero

E-mail: fetca@prodigy.net.mx
fetca19@gmail.com