



Caso clínico

Seguridad transfusional: La determinación de anticuerpos contra *Treponema pallidum* en donantes de sangre. Reporte de caso

César Cerdas-Quesada*

Resumen

El tamizaje de laboratorio para sífilis está usualmente llevado a cabo por serología. No se observaron resultados falsos positivos cuando se utilizó ID-PaGIA pero sí se observó una excelente sensibilidad y especificidad de esta prueba treponémica. Las ventajas del método son el tiempo de reacción de tan sólo 20 minutos, la simplicidad del procedimiento con poco equipo de laboratorio, la posibilidad de realizar lecturas automatizadas así como de mantener un récord de los resultados y, con ello, la trazabilidad. El caso clínico se sustenta en el hecho de que las poblaciones de baja prevalencia tienen un porcentaje más alto de resultados falsos positivos que una población de alta prevalencia.

Palabras clave: Sífilis, ID-PaGIA, *Treponema pallidum*, pruebas treponémicas, donadores.

Abstract

Laboratory diagnosis of syphilis is usually accomplished by serology. No false-positive results were found with ID-PaGIA and compared with other treponemal tests ID-PaGIA has excellent sensitivity and specificity. Advantages of the PaGIA are the fast reaction time of only 20 minutes, the simplicity of the procedure with minimal technical equipment, the possibility of automated readings, to mantain a record and, thus, traceability. It has been clear that the low-prevalence population had higher percentage of false-positive tests results.

Key words: Syphilis, ID-PaGIA, *Treponema pallidum*, treponemal test, blood donors.

Introducción

La sífilis es una enfermedad causada por espiroquetas del género *Treponema*. La sífilis sexualmente adquirida ocurre por distribución mundial y es causada por *T. pallidum* subespecie

pallidum. Los bancos de sangre y servicios de transfusión tienen diferentes requerimientos en cuanto a las pruebas para sífilis.¹

Las pruebas específicas para *T. pallidum* utilizan tanto organismos completos como antígenos del patógeno.² La preparación de un antígeno

* Curso Internacional de Inmunohematología y Medicina Transfusional. Universidad Nacional de Rosario e Instituto Universitario Italiano de Rosario, Rosario, Argentina.

Este artículo puede ser consultado en versión completa en <http://www.medicgraphic.com/medicinatransfusional/>

reproducible es una tarea difícil debido a que la bacteria no puede cultivarse y debe ser mantenida en animales. Estas características son lo que la hacen elegible para el tamizaje serológico. Es un importante problema de salud pública, hay una fase de latencia bien reconocida, pruebas serológicas validadas a un costo relativamente bajo y los efectos adversos pueden ser serios en casos no diagnosticados.¹ De aproximadamente 40 proteínas de *T. pallidum* que pueden ser separadas por inmunolectrofóresis, sólo unas cuantas han sido utilizadas para propósitos diagnósticos.³ Mientras que las proteínas responsables del transporte de nutrientes o movilidad tienen epítopos en común con otras bacterias, se ha demostrado alta especificidad para tres proteínas llamadas TpN15, TpN17 y TpN47.^{2,4}

La variación de la estrategia de tamizaje empleada depende de diversos factores, tales como la necesidad de detectar todos los estadios de sífilis o solamente la infección propiamente dicha.¹

La desventaja de las pruebas no treponémicas es la baja sensibilidad en el estado tardío de la infección (falsos negativos); con estas pruebas, el tamizaje solamente puede acarrear reacciones falsamente positivas en varias condiciones agudas y crónicas en ausencia de sífilis (reacciones falsas positivas biológicas).¹

Debido a que la ocurrencia y frecuencia de resultados falsos positivos varía en los diferentes tipos de pruebas, se ha recomendado que una prueba treponémica positiva sea confirmada con otro tipo de análisis treponémico; así mismo, los casos confirmados en el laboratorio deben tener al menos dos ensayos treponémicos diferentes positivos.⁵⁻⁸ Una persona que tenga resultados negativos en dos métodos es asumida como no infectada.

En la actualidad, el uso de antígenos recombinantes con el potencial de elevar la especificidad de los test diagnósticos forma parte de los desarrollos recientes; sin embargo, en nuestro

país aún se siguen utilizando pruebas de aglutinación que presentan limitaciones técnicas, falta de automatización y la condición subjetiva de quien las realiza.⁹⁻¹²

El inmunoensayo de partículas en gel (PaGIA por sus siglas en inglés) es un método que consiste en microtubos que contienen una matriz de gel y un polímero particulado rojo sensibilizado con los antígenos recombinados TpN15, TpN16 y TpN47 en una suspensión lista para usar. El PaGIA ha mostrado una sensibilidad similar al ELISA y FTA-Abs y más alta que el TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination assay*). Además, se ha documentado el uso de PaGIA en el tamizaje de donadores de sangre donde se reportaron niveles de sensibilidad y especificidad similares. Las ventajas del método son el tiempo de reacción de tan sólo 20 minutos, la simplicidad del procedimiento con poco equipo de laboratorio, la posibilidad de realizar lecturas automatizadas y la posibilidad de mantener un récord de los resultados y con ello la trazabilidad.¹¹

Reporte de caso

Mujer de 33 años, se presentó a donar voluntariamente en una colecta extramural en la empresa donde actualmente labora. Luego de completar la plantilla de «Entrevista de donante» y pasar las pruebas preliminares de entrevista y exámenes físicos (presión arterial y temperatura) y de laboratorio (hemoglobina, hematocrito, recuento de leucocitos y plaquetas), se le colectó la donación. Posteriormente, en el Banco de Sangre, se procedió a realizar los análisis serológicos de sus muestras y para sífilis se utilizó la Prueba ID-PaGIA de DiaMed. En resumen, se pipetea 10 µL de suero en el pocillo del microtubo apropiado, un volumen de 50 µL de partículas con los antígenos previamente mezcladas por Vortex se agregan. La mezcla se incuba a temperatura ambiente de 5 a 10 minutos. Despues de la centrifugación de 10

minutos en una centrífuga de identificación (ID), se leyeron los resultados en el sistema Banjo de lectura automatizada de tarjetas de gel DiaMed. Se empleó suero siguiendo las especificaciones del fabricante.

La prueba PaGIA resultó reactivo (Fuertemente reactiva++) por lo que se puso en marcha el algoritmo vigente en el Banco de Sangre. Como el tamizaje es reactivo, se descartó la unidad implicada y a los componentes que se obtuvieron de la misma, y previo al descarte, se recolectó una alícuota de la unidad para repetir la prueba de tamizaje. Con la misma técnica, se realizó la repetición de la prueba de tamizaje por duplicado a la muestra original que resultó reactiva y a la alícuota tomada de la unidad. Ambas determinaciones fueron reactivas (*Figura 1*).

Además, de acuerdo con el algoritmo, se realizó un análisis interlaboratorio, es decir, se envió la muestra a otro laboratorio y con otra tecnología. En este caso, se realizó un FTA/ABS (*Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*) IgG con resultado positivo.

Si la prueba confirmatoria (o dependiendo del caso, suplementaria) con la muestra implicada y

muestras del donante tomadas posteriormente son positivas, se debe notificar al donante.

Posteriormente, se le realizó un VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) a la muestra y a la bolsa para comparar los resultados de ambas pruebas. El VDRL en ambos casos fue no reactivo. Se envío otra alícuota de la muestra original para el análisis interlaboratorial de VDRL, cuyo resultado también fue no reactivo. Se hizo la determinación de VDRL debido a que en el país la gran mayoría de Bancos de Sangre la utilizan como prueba de tamizaje, a pesar de que su sensibilidad es muy baja.¹¹

Discusión

La respuesta humoral a *T. pallidum* sugiere infección previa y constituye un marcador valioso para el tamizaje en los Bancos de Sangre y el seguimiento de la terapia, además de que es un marcador de conductas de riesgo.

En el tamizaje de donantes de sangre, el empleo de métodos no treponémicos no es recomendable debido a la generación de resultados falsos negativos; por lo cual es necesario generar estrategias costo-efectivas como los ensayos inmunoenzimáticos, reproducibles y confiables que incrementen la seguridad transfusional.¹²

El ID-PaGIA Syphilis ofrece excelentes especificidad y sensibilidad, similar a la de las otras pruebas treponémicas y en comparación con los ELISA tiene las ventajas de operación simple (sin fases de lavado, equipo técnico mínimo); el bajo costo con respecto a los ELISA y un tiempo de reacción de aproximadamente 20 minutos, lo destaca como un método atractivo de elección para la detección de anticuerpos anti- *T. pallidum*. La prueba en gel, además, es útil en la realización de diluciones seriadas de la muestra para obtener el reporte de un título.

Las pruebas de anticuerpos treponémicos sí son positivas y a menudo siguen siendo de por vida, a pesar del tratamiento de su enfermedad;



Figura 1. Análisis de la muestra original, alícuota de la bolsa y las repeticiones de la donadora y controles negativo y positivo en ID-PaGIA Syphilis de DiaMed.

sin embargo, es posible que ninguna prueba aislada sea suficiente, si se tienen en cuenta las complicaciones del tratamiento, las reacciones biológicas positivas y negativas falsas.¹³

Arroyo-Pérez et al documentan que las pruebas de reaginas rápidas poseen una sensibilidad de 52.38% con valor predictivo positivo de 0.6875 y un valor predictivo negativo de 0.9967. Por otra parte, los ensayos inmunoenzimáticos evidencian una sensibilidad de 100% y una especificidad de 99.80% con un valor predictivo positivo de 0.7778 y un valor predictivo negativo de 0.100.¹² Esta evidencia del riesgo transfusional que estas pruebas acarrean se pone en evidencia cuando se comparan varios métodos con las mismas muestras. En este caso, el inmunoensayo en partículas de gel mostró una sensibilidad de 98.8% y una especificidad de 100%, mientras que una prueba de ELISA mostró valores de sensibilidad y especificidad similares al inmunoensayo en gel, según análisis de Q de Kendall y Chi cuadrada.¹¹

Se ha documentado hasta un 20% de falsos positivos con el VDRL, lo cual indica que es más difícil de interpretar, ya que se debería recurrir a una segunda prueba para determinar si el donante se reingresa al sistema de donación regular o si realmente se deben diferir y descartar las unidades, sin contar la pérdida de donantes por primera vez al tener que pasar por un sistema que les difiere temporalmente y les solicita una segunda muestra debido a problemas del método. La introducción de esta prueba, además de las ventajas anteriormente señaladas, acortaría el tiempo de cuarentena de unidades o en su defecto, el descarte de unidades por serología debido a malas interpretaciones. Cabe recalcar que este sistema también ofrece un lector de tarjetas con la posibilidad de documentar los resultados en una base de datos.^{11,12}

En este caso, queda en evidencia que el uso de pruebas no treponémicas pone en riesgo la seguridad transfusional puesto que, a pesar de

que no hay riesgo cero en las transfusiones, la mejor transfusión es la que se hace con criterio en todos sus eslabones.¹¹ El VDRL es sensible en la etapa primaria y al ser no reactivo, nos descarta ese estadio. Es necesario revisar la historia clínica del paciente para examinar cuáles medicamentos ha tomado en el último año con el fin de considerar si se clasificó de manera tardía debido a que las IgG se mantienen positivas fuertes incluso a 2-3 años y la IgM incluso por 1 año.

Asimismo, las poblaciones de baja prevalencia tienen un porcentaje más alto de resultados falsos positivos que una población de alta prevalencia.¹⁴

Conclusiones

En el tamizaje de donantes de sangre, el empleo de métodos no treponémicos no es recomendable debido a la generación de resultados falsos negativos, por lo cual es necesario generar estrategias costo-efectivas como los ensayos inmunoenzimáticos, reproducibles y confiables, que incrementen la seguridad transfusional. Además, muestran una especificidad del 100% en donadores de sangre.

Referencias

1. Egglestone SI, Turner AJ. Serological diagnosis of syphilis.PHLS Syphilis serology working group. Commun Dis Public Health 2000; 3: 158-162.
2. Schmidt BL. Evaluation of a new particle gel immunoassay for determination of antibodies against *Treponema pallidum*. J Clin Microbiol 2004; 42: 2833-2835.
3. Norris SJ. Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles. Microbiol Rev 1993; 57: 750-779.
4. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of test for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995; 8: 1-21.
5. Herring AJ, Ballard RC, Pope V, Adegbola RA, Changalucha J, Fitzgerald DW et al. A multi-centre evaluation of nine rapid, point-of-care syphilis test using archived sera. Sex Transm Infect 2006; 82: 7-12.
6. Goh BT, van Voorst Vader PC. European guideline for the management of syphilis. International Journal of STD & AIDS 2001; 12: 14-26.

7. Brown DL, Frank JE. Diagnosis and management of syphilis. Am Fam Physician 2003; 68: 283-290.
8. Naaber P, Makoid E, Aus A, Lövukene K, Pöder A. Evaluation of ID-PaGIA syphilis antibody test. Indian J Dermatol Venereol Leprol 2009; 75: 492-494.
9. Borelli S, Monn A, Meyer J, Berger U, Honegger HP, Lautenschlager S. Evaluation of a particle gel immunoassay as a screening test for syphilis. Infection 2009; 37: 26-28.
10. Grouzi E, Haikali A, Panagou I, Spiliotopoulou I. Evaluation of particle gel immunoassay (ID-PaGIA) as screening test for syphilis in blood donors. Vox Sanguinis 2004; 87: 110.
11. Cerdas-Quesada C. Evaluación de un inmunoensayo de partículas en gel para la determinación de anticuerpos contra *Treponema pallidum* en donantes de sangre. Revista Argentina de Transfusión 2011; 1: 71-74.
12. Arroyo-Pérez J, Berrón-Ruiz P, Torras-Giner V, Marín y López R. Sensibilidad y especificidad de reactivos de tamizaje empleados para la determinación de *Treponema pallidum* en donadores de sangre. VI Congreso de la Asociación Mexicana de Medicina Transfusional, 2008.
13. Hernández A, Hernández M, Renderos M, Rivas O. Sensibilidad y especificidad del método inmunoensayo en gel para la detección de anticuerpos contra el *Treponema pallidum* en relación con FTA-ABS realizados en el Laboratorio Central del Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social durante los meses de octubre a noviembre de 2004. Seminario de Graduación. Universidad Andrés Bello. San Salvador, El Salvador.
14. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Discordant results from reverse sequence syphilis screening---five laboratories in the United States, 2006-2010. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2011; 60 (5): 133-137.

Correspondencia:

Dr. César Cerdas-Quesada

Banco de Sangre, Hospital Hotel La Católica.

San José, Costa Rica.

Tel. (506) 8885-4654

E-mail: ccerdas@hospitallacatolica.com