



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN PARASITOLÓGICA  
“Dr. JESÚS MORENO R.”**



**DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS  
REAGINA PLASMÁTICA RÁPIDA (RPR), *VENEREAL DISEASE  
RESEARCH LABORATORY* (VDRL) E INMUNOCROMATOGRAFÍA (IC)  
EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DEL ÁREA DE LA SALUD**

**AUTORAS:**

**Angélica J. Elkhoury P.**

**C.I.: V- 25.631.682**

**Aniesca G. Gutiérrez M.**

**C.I.: V- 23.305.205**

**TUTORA:**

**Prof. Rima C. Bahsas Z.**

**Mérida, Mayo de 2023**



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN PARASITOLÓGICA  
“Dr. JESÚS MORENO R.”**



**DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS  
REAGINA PLASMÁTICA RÁPIDA (RPR), *VENEREAL DISEASE  
RESEARCH LABORATORY* (VDRL) E INMUNOCROMATOGRAFÍA (IC)  
EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DEL ÁREA DE LA SALUD**

**Trabajo Especial de Grado presentado como requisito parcial para optar  
al título de Licenciadas en Bioanálisis**

**AUTORAS:**

**Angélica J. Elkhoury P.**

**C.I.: V- 25.631.682**

**Aniesca G. Gutiérrez M.**

**C.I.: V- 23.305.205**

**TUTORA:**

**Prof. Rima C. Bahsas Z.**

**Mérida, Mayo de 202**



### VEREDICTO

Los suscritos miembros del jurado, Profesoras: MSc. María Evelyn Alviárez, MSc. Yasmin Yinec Varela y Lcda. Rima Bahsas, miembros designados por el Consejo de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, para conocer el trabajo titulado: **“DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS REAGINA PLASMÁTICA RÁPIDA (RPR), VENEREAL DISEASE RESEARCH LABORATORY (VDRL) E INMUNOCROMATOGRAFÍA (IC) EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DEL ÁREA DE LA SALUD”**, presentado por las Bachilleres; **Angélica José Elkhoury Perdomo, C.I. V-25.631.682 y Aniesca Gisbell Gutiérrez Molina, C.I. V-23.305.205**, como requisito parcial para optar al Grado de Licenciadas en Bioanálisis; reunidos el día Miércoles 31 de Mayo de 2023 a las 4:00 pm, en el salón de Parasitología del Departamento de Microbiología y Parasitología de la Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes, previo estudio y análisis del Trabajo de Grado, nos permitimos **APROBAR el trabajo con una calificación de 20 puntos** para los efectos que ha sido presentado y **RECOMENDAMOS SU PUBLICACIÓN.**

En Mérida, a los 31 días del mes de Mayo del año 2023.



*Rima Bahsas Z.*

Prof<sup>a</sup>. Rima Carolina Bahsas Zaky  
Tutora

*María Evelyn Alviárez*  
Prof<sup>a</sup>. María Evelyn Alviárez  
Jurado

*Yasmin Yinec Varela*  
Prof<sup>a</sup>. Yasmin Yinec Varela  
Jurado

## DEDICATORIA

Dedicamos este logro principalmente a **Dios** todopoderoso por permitirnos terminar con éxito esta etapa de nuestro trayecto.

A nuestros padres, **Gladys, José, Cristina y Juan Carlos** por su apoyo incondicional, esto es por y para ustedes.

A nuestros familiares que nos han apoyado en este camino.

A **nosotras**, por el esfuerzo, la disciplina, constancia y dedicación que nos condujo hasta aquí.

## AGRADECIMIENTOS

Primeramente, agradezco a **Dios** todopoderoso, por brindarme salud, bendiciones y entendimiento, por siempre guiar mi camino e iluminar cada paso que he dado.

A mis Padres: **Gladys y José**, quienes han sido mi ejemplo y mi fuerza, gracias por enseñarme a luchar por mis sueños, por apoyar cada paso que he dado, por las palabras de aliento en los momentos difíciles, gracias por tanto amor.

A mi Hermana: **Anggy**, quien con su cariño, amor y apoyo ha sido una pieza fundamental en este camino, gracias por siempre hacerme reír y por ser mi compañera.

A mis Abuelas: **Ma. Reyes y Ma. Victoria**, que aunque ya no están conmigo, sé que desde el cielo me han ayudado a luchar y seguir adelante, y sé que desde allá me dan su bendición.

A mis tías, tíos, primas, primos y sobrinos, quienes de una u otra forma siempre me han brindado su cariño y apoyo.

A mi amiga y compañera **Aniesca Gutiérrez**, gracias por todo el apoyo incondicional, por las risas, por acompañarme desde el día 1, hemos sido el mejor equipo durante este caminar. Gracias por creer en mí.

A la familia **Bahsas Zaky** por el cariño y ser como una familia para mi acá en Mérida, en especial a la **Prof. Rima Bahsas**, por todas sus enseñanzas, el apoyo, el cariño y todas las oportunidades que me has brindado.

A mis compañeros de clase a lo largo de esta carrera, en especial a **Valeria, Ma. Fernanda, Mariana e Ignacio**, que, aunque cada uno está cumpliendo nuevos sueños, desde donde están me han brindado su apoyo.

A la **Universidad de Los Andes** y a los profesores de la Escuela de Bioanálisis, que nos han acompañado en este caminar y de una u otra forma formaron parte de este trabajo.

A todos y cada uno de ustedes, eternamente Gracias.

**Angélica Elkhoury**

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a **Dios** y a la Virgen por darme el privilegio de llegar hasta esta etapa, por sus bendiciones, por la salud y por regalarme entendimiento durante toda la carrera. También por darme sabiduría al momento de elegir mi carrera y ayudarme a encontrar mi propósito.

A mis padres **Cristina Molina y Juan Carlos Gutiérrez** que siempre me han brindado su apoyo para cumplir todos mis sueños y metas. Especialmente a mi madre quien es mi mayor ejemplo de constancia y con su cariño, consejos me ha impulsado a siempre seguir adelante. Gracias por estar para mí siempre.

A mi abuela **Juana Avendaño**, quien me acompaña desde el cielo, ninguna distancia podrá borrar tus enseñanzas.

A mis familiares cercanos especialmente a mis tías **Karina y Nancy Molina** quienes siempre me han motivado a conseguir todo lo que me propongo.

A mi amiga y compañera **Angélica Elkhoury** por elegirme para que juntas alcancemos una meta en común, por siempre creer en mí, gracias por ser mi apoyo incondicional.

Además, quiero agradecer a mis compañeros por tantas horas compartidas de cada uno me llevo una enseñanza, gracias a ustedes esta experiencia resulto mucho más amena.

A la **Prof. Rima Bahsas** por acogerme, orientarme y enseñarme con amor. Gracias por tu paciencia y por compartir tu intelecto que sin duda es invaluable.

Finalmente, gracias a la Ilustre **Universidad de Los Andes** y a todos sus profesores, especialmente aquellos que han sido parte de mi formación, gracias por transmitir y compartir todos los conocimientos necesarios para poder haber llegado hasta acá.

**Aniesca Gutiérrez**

## ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	ix
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
INTRODUCCIÓN.....	1
Antecedentes de la Investigación.....	1
Justificación de la Investigación.....	5
El Problema.....	7
Antecedentes Teóricos.....	8
Trabajos Previos.....	8
Antecedentes Históricos.....	12
Bases Teóricas.....	14
Aproximación Teórica sobre el Inmunodiagnóstico.....	14
Aproximación Teórica sobre los Parámetros de Validez y Seguridad de una Prueba de Inmunodiagnóstico.....	15
Aproximación Teórica sobre RPR como prueba diagnóstica de infección por <i>Treponema pallidum</i> .....	15
Aproximación Teórica sobre el VDRL como prueba diagnóstica de la infección por <i>Treponema pallidum</i> .....	16
Aproximación Teórica sobre la IC como prueba diagnóstica de la infección por <i>Treponema pallidum</i> .....	16
Taxonomía y aspectos característicos de <i>Treponema pallidum</i> .....	17

Infección por <i>Treponema pallidum</i> .....	18
Epidemiología de la infección causada por <i>Treponema pallidum</i> .....	20
Respuesta Inmunológica frente a <i>Treponema pallidum</i> .....	21
Evasión de la Respuesta Inmune.....	22
Diagnóstico de la infección.....	23
Definición Operacional de Términos.....	27
Operacionalización del Evento de Estudio.....	29
Objetivos.....	33
Objetivo General.....	33
Objetivos Específicos.....	33
MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
Tipo de Investigación.....	34
Diseño de Investigación.....	34
Población y Muestra.....	34
Unidad de Investigación.....	34
Selección del Tamaño Muestral.....	34
Procedimiento Metodológico.....	35
Recolección de la muestra.....	35
Detección de la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica RPR.....	36
Identificación de la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica VDRL.....	37
Diagnóstico de la presencia de anticuerpos anti-treponémicos mediante la técnica IC.....	39
Diseño de Análisis.....	40
RESULTADOS.....	41
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIONES.....	53
RECOMENDACIONES.....	54

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS.....	55
ANEXOS.....	62
Anexo N°1. Consentimiento Informado.....	63
Anexo N°2. Ficha de Recolección de Datos.....	64
Anexo N°3. Inserto de la Técnica RPR.....	65
Anexo N°4. Inserto de la Técnica VDRL.....	67
Anexo N°5. Inserto de la Técnica IC.....	69
Anexo N°6. Datos Sociodemográficos representados en gráficos.....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Pág.</b>
Figura N°1. Procedimiento para la recolección de la muestra.....	36
Figura N°2. Esquema de la detección de anticuerpos reagínicos mediante la técnica RPR.....	37
Figura N°3. Esquema de la identificación de anticuerpos reagínicos mediante la técnica VDRL.....	38
Figura N°3. Esquema del diagnóstico de anticuerpos anti-treponémicos mediante la técnica IC.....	40

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla</b>	<b>Pág.</b>
Tabla N°1. Operacionalización del evento de estudio: Diagnóstico de sífilis.....	29
Tabla N°2. Operacionalización del criterio de análisis: Técnica Reagina Plasmática Rápida.....	30
Tabla N°3. Operacionalización del criterio de análisis: Técnica <i>Venereal Disease Research Laboratory</i> .....	31
Tabla N°4. Operacionalización del criterio de análisis: Técnica Inmunocromatografía.....	32
Tabla N° 5. Sexo y edad en años de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	41
Tabla N°6. Procedencia de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	42
Tabla N°7. Carrera y semestre o año que cursan los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	43
Tabla N°8. Desempeño de los NTTs (RPR y VDRL) en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	44
Tabla N°9. Desempeño de los NTTs (RPR y VDRL) y concordancia de los mismos en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	45
Tabla N°10. Desempeño del VDRL y concordancia con la Inmunocromatografía en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023....	45

Tabla N°11. Desempeño de la RPR y concordancia con la Inmunocromatografía en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023....	46
--	----

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

<b>Gráfico</b>	<b>Pág.</b>
Gráfico N°1. Edad en años de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina en el año 2023.....	70
Gráfico N°2. Sexo en porcentaje de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	71
Gráfico N°3. Procedencia en porcentaje de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	72
Gráfico N°4. Semestre o año en porcentaje que cursan los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.....	73



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS  
ESCUELA DE BIOANÁLISIS  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN PARASITOLÓGICA  
“Dr. JESÚS MORENO R.”



DIAGNÓSTICO DE SÍFILIS A TRAVÉS DE LAS TÉCNICAS  
REAGINA PLASMÁTICA RÁPIDA (RPR), *VENEREAL DISEASE  
RESEARCH LABORATORY* (VDRL) E INMUNOCROMATOGRAFÍA (IC)  
EN ESTUDIANTES UNIVERSITARIOS DEL ÁREA DE LA SALUD

**Autoras:**

Angélica J. Elkhoury P.

Aniesca G. Gutiérrez M.

**Tutora:**

Prof. Rima C. Bahsas Z.

**RESUMEN**

La sífilis es una infección causada por la bacteria *Treponema pallidum*. Entre las alternativas para su diagnóstico se incluyen los tests serológicos no treponémicos como la RPR y el VDRL y los test treponémicos como la IC. **Objetivo:** Comparar el desempeño de las técnicas Reagina Plasmática Rápida, *Venereal Disease Research Laboratory* e Inmunocromatografía para el diagnóstico de sífilis en estudiantes universitarios del área de la salud de la Universidad de Los Andes. **Materiales y Métodos:** La investigación fue analítica y comparativa y el diseño de campo, contemporáneo, transversal y multivariable. En el estudio participaron 84 estudiantes de las escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina, a quienes previo consentimiento informado se les tomaron muestras sanguíneas, las cuales fueron procesadas en el Laboratorio de Investigación Parasitológica “Dr. Jesús Moreno R.” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Las muestras fueron analizadas utilizando las técnicas RPR, VDRL e IC. **Resultados:** Se obtuvo una especificidad y un valor predictivo negativo de 100% para cada prueba, así mismo, las pruebas presentaron una concordancia “casi perfecta” al obtener un valor para el índice de Kappa de Cohen de 1,00. **Conclusión:** Las pruebas presentaron igual rendimiento, por lo cual se infiere que podrían usarse indistintamente en el cribado de sífilis; sin embargo, la IC posee mayor ventaja sobre las otras pruebas al ser más rápida, de costo apropiado y porque al tratarse de un test treponémico permite hacer cribado y diagnóstico al mismo tiempo.

**Palabras clave:** Sífilis, *Treponema pallidum*, diagnóstico de sífilis, inmunodiagnóstico, RPR, VDRL, IC, estudiantes universitarios.

**DIAGNOSIS OF SYPHILIS USING RAPID PLASMA REAGIN (RPR),  
VENEREAL DISEASE RESEARCH LABORATORY (VDRL), AND  
IMMUNOCHROMATOGRAPHY (IC) TECHNIQUES  
IN HEALTH SCIENCES UNIVERSITY STUDENTS**

**ABSTRACT**

Syphilis is an infection caused by the bacteria *Treponema pallidum*. Alternatives for its diagnosis include non-treponemal serological tests such as RPR and VDRL and treponemal tests such as IC. **Purpose:** To compare the performance of Rapid Plasma Reagin, Venereal Disease Research Laboratory and Immunochromatography techniques for the diagnosis of syphilis in university students of health sciences at the Universidad de Los Andes. **Materials and Methods:** The research was analytical and comparative and its design was field, contemporary, cross-sectional, and multivariable. Eighty-four students from the schools of Medical Technology, Pharmacy and Medicine participated in the study. After obtaining their informed consent, blood samples were taken and processed at the Parasitological Research Laboratory "Dr. Jesús Moreno R." of the School of Pharmacy and Medical Technology of the Universidad de Los Andes. The samples were analyzed using RPR, VDRL and IC techniques. **Results:** The specificity and negative predictive value was 100% for each test, and the tests showed an "almost perfect" agreement with a Cohen's Kappa coefficient value of 1.00. **Conclusion:** The tests showed equal performance, so it is inferred that they could be used indistinctly in syphilis screening; however, the IC has a greater advantage over the other tests since it is faster, cost-appropriate and because as a treponemal test, it allows both screening and diagnosis at the same time.

**Keywords:** Syphilis, *Treponema pallidum*, syphilis diagnosis, immunodiagnosis, RPR, VDRL, IC, university students.

# INTRODUCCIÓN

## Antecedentes de la Investigación

La sífilis es una infección sistémica crónica<sup>1</sup> de importante prevalencia a nivel mundial<sup>2</sup>, cuyo agente etiológico es la bacteria *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*<sup>3</sup> y su principal vía de transmisión es por contacto sexual<sup>1</sup>. La presencia de la bacteria y su interacción con los tejidos del hospedador provoca la ruptura de las membranas celulares y por lo tanto la liberación de sustancias lipídicas, que pueden ser reconocidas como patrones moleculares asociados al daño tisular (DAMPs) e inducen la respuesta inmune<sup>4</sup>.

Una parte muy importante de esta respuesta es la producción de anticuerpos anti-lipoidales<sup>4</sup> o también denominados anticuerpos reagínicos, los cuales se llaman así porque la reagina es un anticuerpo de tipo Inmunoglobulina M (IgM) o Inmunoglobulina G (IgG) capaz de unirse a los antígenos lipoidales<sup>5</sup>. Al mismo tiempo, la presencia de la bacteria induce la formación de anticuerpos anti-treponémicos de tipo IgM e IgG, que van a interactuar con antígenos propios de la estructura bacteriana<sup>4</sup>.

Es importante destacar que para evidenciar la presencia de *T. pallidum* pueden emplearse diversas técnicas diagnósticas. Por un lado, puede llevarse a cabo el análisis directo de los exudados de las lesiones cutáneas las cuales son ricas en treponemas, mediante el uso de microscopía de campo oscuro o técnicas especiales de tinción fluorescente<sup>6</sup>. Y, por otro lado, están los tests serológicos, los cuales son el pilar para el diagnóstico de sífilis<sup>7</sup>. Éstos últimos se basan en el inmunodiagnóstico y pueden ser tests no treponémicos (NTTs, por sus siglas en inglés): que determinan la presencia de anticuerpos reagínicos de tipo IgM e IgG<sup>8</sup> y los tests treponémicos (TTs, por sus siglas en inglés): los cuales permiten detectar los anticuerpos anti-treponémicos y son más específicos<sup>9</sup>.

Es conveniente acotar que el inmunodiagnóstico se basa en evidenciar la reacción antígeno-anticuerpo como su principal medio de detección<sup>10</sup>, lo que permite hacer diagnósticos tempranos y más certeros. Además, es posible monitorear el progreso de una enfermedad al evaluar la variación de los anticuerpos reagínicos presentes en las muestras de los pacientes<sup>11</sup>.

Debido a lo mencionado anteriormente, las técnicas de inmunodiagnóstico deben cumplir con ciertos parámetros de validez y seguridad, siendo estos la sensibilidad (S), especificidad (E), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN). La sensibilidad se define como la capacidad que tiene el test para detectar la enfermedad, mientras que la especificidad es la probabilidad de obtener un resultado negativo para un sujeto sano<sup>12</sup>. Por su parte, el valor predictivo positivo se refiere a la proporción de pacientes con un resultado positivo en el test que son correctamente diagnosticados y el valor predictivo negativo es la proporción de pacientes con un resultado negativo en el test que son correctamente diagnosticados<sup>13</sup>.

En cuanto a los NTTs, en esta investigación se incluyó a las pruebas: Reagina Plasmática Rápida y *Venereal Disease Research Laboratory*, que son las más frecuentemente utilizadas. Dichas técnicas se basan en los principios de aglutinación y floculación respectivamente<sup>9</sup>, los cuales tienen en común que consisten en la generación de entramados tridimensionales producto de la formación de complejos antígeno-anticuerpo. En estos tests se utiliza como antígeno una solución alcohólica que contiene partículas de cardiolipina, colesterol y lecitina, la cual será enfrentada al suero del paciente y en caso de estar presentes los anticuerpos reagínicos, ocurrirá la formación del inmunocomplejo<sup>8</sup>.

En la RPR se puede usar como muestra al suero o plasma indistintamente y la solución antigénica contiene pequeñas cantidades de carbón preparado, el cual facilita la visualización macroscópica del entramado tridimensional<sup>14</sup>. En cambio, en la técnica de VDRL puede utilizarse el suero del paciente, que, de acuerdo a las características particulares de la prueba, puede requerir o no

ser inactivado por calentamiento, o bien puede evaluarse líquido cefalorraquídeo (LCR), que no requiere calentamiento. En este caso la reacción es una floculación que puede visualizarse empleando el microscopio<sup>15</sup>.

Por su parte, entre los distintos TTs disponibles, en la presente investigación se empleó la Inmunocromatografía. Esta prueba se fundamenta en el desplazamiento de una muestra que puede ser sangre total, suero o plasma a través de una membrana de nitrocelulosa. Dicha membrana posee varias regiones; una de ellas es la zona de contacto con la muestra del paciente, localizada en el extremo inferior, posteriormente está la zona donde se encuentran los antígenos recombinantes de *T. pallidum*, los cuales están conjugados con partículas de oro coloidal y finalmente se encuentran la región de test y la región de control<sup>16</sup>.

Una vez que se da el contacto de la muestra del paciente con la membrana, esta comienza a desplazarse cromatográficamente a través de la misma, hasta encontrarse con los antígenos recombinantes, si están presentes los anticuerpos anti-treponémicos en la muestra, estos se unen a sus antígenos formando un inmunocomplejo soluble que se seguirá desplazando hasta la región de test, donde se encuentran anticuerpos que se unen a otro epítipo del antígeno, dando lugar a una línea de color debido a la presencia del oro coloidal. Además, para validar la prueba también se encuentran presentes conjugados que se desplazan hasta la región de control donde se unen con anticuerpos específicos y forman inmunocomplejos, los cuales también se visualizan con una banda de color<sup>17</sup>. Es importante destacar que todas estas técnicas pertenecen al grupo de herramientas del inmunodiagnóstico<sup>5</sup>.

Ahora bien, de acuerdo a los parámetros de validez y seguridad, la capacidad diagnóstica de una prueba y su empleo para el cribado o la confirmación de la infección va a variar. Por lo tanto, es importante comparar las distintas opciones disponibles y elegir aquella cuyo desempeño sea ideal. De hecho, contrastar técnicas treponémicas con no treponémicas siempre ha

sido un foco de estudio, dando pie a que en los últimos 5 años se hayan publicado investigaciones como: Evaluación de la Prueba de Micro Hemaglutinación de *Treponema pallidum* (MICRO-TPHA, por sus siglas en inglés), VDRL y RPR en el serodiagnóstico de sífilis, en la cual se demostró una falsa positividad por la técnica de VDRL, en cuanto al parámetro de sensibilidad; los NTTs demostraron ser muy similares aunque fue más específica la RPR. Por otro lado, la técnica MICRO-TPHA fue más sensible durante la fase latente y terciaria de la sífilis, es por ello que se sugiere el empleo de estas técnicas como un complemento<sup>18</sup>.

De la misma forma, otro estudio evaluó el rendimiento de la IC como alternativa de prueba rápida para el diagnóstico de sífilis al comparar cuatro tests serológicos que incluían además a la RPR, el TPHA y los inmunoensayos de micropartículas por quimioluminiscencia (CMIA, por sus siglas en inglés); en dicha comparación la IC como alternativa diagnóstica mostró muy buen rendimiento, igualmente la RPR obtuvo valores significativos en cuanto a los parámetros de validez y seguridad<sup>19</sup>. Por su parte, una investigación comparó la RPR, el VDRL y el Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA, por sus siglas en inglés) en el cribado de sífilis en mujeres embarazadas, obteniendo un mejor rendimiento del ELISA sobre las pruebas no treponémicas e indicando que dicha técnica podría reemplazarlas<sup>20</sup>.

Otro estudio realizado buscó determinar cuál era el procedimiento preferencial para el cribado de sífilis en laboratorios de clínicas chinas. Para ello los investigadores compararon el Inmunoensayo por Quimioluminiscencia (CLIA, por sus siglas en inglés) con métodos convencionales, resultando una alta sensibilidad y especificidad para el CLIA, sugiriendo su uso como una técnica de detección para el diagnóstico de sífilis. Mientras que el test de Aglutinación de Partículas de *Treponema pallidum* (TPPA, por sus siglas en inglés) y la RPR son necesarias para confirmar las muestras positivas<sup>21</sup>.

Por último, en la Evaluación de la técnica no treponémica RPR en comparación con la técnica treponémica Ensayo inmunocromatográfico (IC)

para la detección de donantes de sangre sanos, se concluyó que la IC presentó una mejor sensibilidad. Mientras la especificidad fue mejor para la RPR. Por lo cual la IC se recomienda para el cribado de donantes sanos dada su alta sensibilidad<sup>22</sup>.

### **Justificación de la Investigación**

La necesidad de llevar a cabo esta investigación radica en el hecho de que la sífilis es una infección que presenta cifras alarmantes, por lo que es catalogada como un importante problema de salud pública<sup>2</sup>. Esto no solo motiva a conocer acerca de esta infección, sino también sobre las diferentes pruebas diagnósticas que permiten detectarla, porque no todas se comportan de la misma manera. Por ello, surge la necesidad de estudiar a las técnicas RPR, VDRL e IC en lo que respecta a los parámetros de validez y seguridad<sup>12</sup>; de manera tal de recomendar el uso de la prueba con mejor desempeño y así evitar proporcionar al paciente un resultado erróneo.

Aunado a esto, para la realización de esta investigación se encontraron razones de potencialidad como la variabilidad para diagnosticar la sífilis, ya sea detectando anticuerpos producidos directamente contra su agente causal o anticuerpos específicos para los productos del daño tisular que este ocasiona<sup>4</sup>.

Es a través de estos anticuerpos que se puede realizar el diagnóstico serológico de la infección. Adicionalmente, para detectar sífilis pueden emplearse diversas técnicas, como el análisis directo de los exudados de las lesiones cutáneas<sup>6</sup>. No obstante, los tests serológicos basados en el inmunodiagnóstico son el pilar fundamental<sup>7</sup>, los mismos pueden ser no treponémicos o treponémicos<sup>8</sup>.

Por una parte, la presente investigación estudió los NTTs más frecuentemente utilizados: RPR y VDRL. Como fue mencionado, ambas técnicas se basan en los principios de aglutinación y floculación

respectivamente, que consisten en la formación de entramados como consecuencia de una reacción antígeno-anticuerpo, dicha aglutinación o floculación se evidencia dependiendo del formato de la prueba<sup>8,9</sup>.

Y, por otra parte, como representante de los TTs se estudió a la IC, la cual consiste en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa, que contiene antígenos recombinantes de la bacteria conjugados con oro coloidal, los cuales se unen a los anticuerpos anti-treponémicos presentes en la muestra del paciente, y esto se evidencia por la formación de una banda de color<sup>16</sup>.

Entre las razones de tendencia se encuentra la relevancia de estas técnicas, las cuales constituyen herramientas esenciales para el diagnóstico de la infección. Aunado a esto, al fundamentarse en el inmunodiagnóstico presentan las ventajas inherentes al mismo, como son la elevada sensibilidad y especificidad en la detección de anticuerpos. Dichos parámetros son los que permiten hacer diagnósticos tempranos y más certeros<sup>11</sup>.

Resulta interesante que, en la actualidad, diversas investigaciones han evaluado y contrastado los parámetros de validez y seguridad de los NTTs con los de los TTs. A partir de esto, se ha obtenido información de interés como una falsa positividad por la técnica de VDRL, valores de sensibilidad similares para los NTTs, altos valores de sensibilidad y especificidad para la IC y una alta especificidad para la técnica RPR<sup>18,19,21,22</sup>. Además, se describió un bajo rendimiento de los NTTs frente a los TTs<sup>20</sup>. Estos hallazgos representaron el punto de partida que orientó el presente estudio.

Es importante destacar que son escasas las investigaciones recientes en las cuales se comparan las técnicas previamente mencionadas entre sí. Esto motivó la realización de esta investigación y pone en evidencia la necesidad imperativa de comparar estas tres pruebas, para determinar si se obtiene una discrepancia significativa en el desempeño de las mismas, en lo que respecta a la capacidad de detección de la infección por *Treponema pallidum*. Así como también, para poder establecer cuál técnica resulta mejor en cuanto a

parámetros de validez y seguridad, costos, limitaciones, tiempo de ejecución e insumos empleados.

Una vez conocidas las razones que justifican el presente estudio es relevante describir los alcances y las limitaciones del mismo, pues de los alcances depende la estrategia de investigación. En este sentido, el diseño, los procedimientos y otros componentes del proceso varían dependiendo del alcance, el cual puede ser: exploratorio, descriptivo, correlacional o explicativo<sup>23</sup>. Sin embargo, se ha propuesto una clasificación de mayor amplitud la cual comprende 10 tipos de investigación: exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa, siendo esta clasificación más didáctica y productiva desde el punto de vista metodológico<sup>24</sup>. Tomando en cuenta lo anterior, esta investigación posee un alcance analítico y comparativo dado que se estarán contrastando tres pruebas inmunodiagnósticas e interpretando los resultados obtenidos para cada una.

Por otro lado, las limitaciones de una investigación vienen dadas por la disponibilidad de recursos financieros, humanos, teóricos y materiales<sup>23</sup>. Por consiguiente, las limitaciones de este estudio se presentaron por las escasas investigaciones previas en el país y la región andina, así como también por la escasez y altos costos de los reactivos.

## **El Problema**

Una vez descrita la situación actual del problema, las autoras de esta investigación han formulado el siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuáles son las diferencias y semejanzas en cuanto al desempeño de las técnicas Reagina Plasmática Rápida, *Venereal Disease Research Laboratory* e Inmunocromatografía para el diagnóstico de sífilis en estudiantes del área de la salud de la Universidad de Los Andes, en el período comprendido entre abril y mayo de 2023?

## Antecedentes Teóricos

### Trabajos Previos

En los últimos años se han realizado diversas investigaciones que se asocian con el presente evento de estudio, dándole así un respaldo ante la comunidad científica. Entre ellas destacan las siguientes:

Los investigadores Terzi, Aydemir, Karakece, Hatipoglu, Olmez, Koroglu, et al., en el año 2020, llevaron a cabo un estudio titulado *Investigation of the rapid immunochromatographic test performance in the diagnosis of syphilis; comparison of four serological methods* (Investigación del rendimiento de la prueba de inmunocromatografía rápida en el diagnóstico de sífilis; comparación de cuatro métodos serológicos), cuyo objetivo fue comprobar el rendimiento de una nueva prueba rápida para sífilis al compararla con el TPHA, y a su vez evaluar el rendimiento de la RPR y los inmunoensayos de micropartículas por quimioluminiscencia (CMIA) utilizando como *gold standard* al TPHA. El diseño utilizado fue de campo, contemporáneo y multivariable. Para llevar a cabo el estudio, los investigadores analizaron 595 muestras de pacientes con sospecha de sífilis, obteniendo una S de 100%, 93,3% y 100% para la RPR, los CMIA y la IC respectivamente, mientras que los valores de E fueron de 98,8%, 99,1% y 99,5% respectivamente, el VPP fue de 81%, 84,8% y 90,9% y el VPN fue de 100%, 99,6% y 100% respectivamente. Con los resultados expuestos, los autores concluyeron que la prueba de IC mostró un buen rendimiento, fue accesible, rápida y fácil de aplicar<sup>19</sup>. Los valores anteriormente descritos, proporcionaron una guía sobre los parámetros de validez y seguridad esperados para la IC y la RPR.

Por su parte, la investigación titulada; *Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) versus Venereal Disease Research Laboratory test (VDRL) and Rapid Plasma Reagin test (RPR) for screening of syphilis in pregnant women* (Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas [ELISA] comparado con el

VDRL y la RPR para el cribado de sífilis en mujeres embarazadas), llevada a cabo por Solaimalai, Rathore, Beck, Regi, Yesudhasan, Veeraraghavan, et al., en el año 2020, planteó como objetivo evaluar una prueba treponémica (ELISA) como alternativa para el cribado de sífilis en mujeres embarazadas, el diseño fue de campo, transversal y multivariable. Utilizaron un total de 416 muestras, de las cuales 102 muestras eran conocidas para sífilis por TPHA y 314 eran muestras de mujeres embarazadas. Todas las pruebas fueron evaluadas por VDRL, RPR, ELISA y TPHA como *gold standard*; obteniendo los siguientes resultados: el VDRL y la RPR mostraron una mayor tasa de falsos positivos que fue de 10,5% y 9,6%, respectivamente, en comparación con un 2,5% para el ELISA. La S y E del ELISA fueron de 98% y 97,5%, las del VDRL de 71,6% y 89,5%, y las de la RPR de 73,5% y 90,5% respectivamente. Así mismo, el ELISA tuvo una concordancia excelente ( $\kappa=0,9$ ) con el TPHA en comparación con el VDRL y la RPR que sólo tuvieron una concordancia moderada ( $\kappa=0,6$ ). Los autores concluyeron que el ELISA puede reemplazar a las pruebas no treponémicas en el cribado de sífilis antenatal<sup>20</sup>. Los resultados obtenidos sugieren que los valores de S y E de las pruebas no treponémicas suelen ser menores que los obtenidos por las pruebas treponémicas.

También, la publicación denominada; *A comparison of nontreponemal tests in cerebrospinal fluid for neurosyphilis diagnosis: equivalent detection of specific antibodies* (Comparación de pruebas no treponémicas en LCR para el diagnóstico de neurosífilis: detección equivalente de anticuerpos específicos), cuyos autores fueron Versiani, Cabral-Castro y Puccioni-Sohler en el año 2019, tuvo como objetivo evaluar el rendimiento de dos pruebas no treponémicas (RPR y prueba del suero no calentado [USR, por sus siglas en inglés]), en comparación con el VDRL en LCR, el diseño utilizado fue de campo, contemporáneo y multivariable. Se evaluaron 120 muestras con las tres técnicas, las cuales se dividieron en tres grupos; en el grupo 1 se encontraban los pacientes con neurosífilis confirmada, en el grupo 2 los

pacientes con sospecha de neurosífilis y en el grupo 3 los pacientes sanos utilizados como control. Se obtuvo una correlación satisfactoriamente significativa en las tres pruebas, ya que las muestras de los pacientes del grupo 1 fueron todas reactivas y en los grupos 2 y 3 resultaron negativas como se esperaba, presentando una sensibilidad y especificidad del 100%<sup>25</sup>. Estos resultados orientaron sobre el comportamiento que podían tener las técnicas RPR y VDRL. Si bien este estudio fue realizado en LCR, se han descrito resultados similares utilizando muestras de suero.

En otro orden de ideas, destaca la investigación denominada; *Evaluation of Nonspecific Treponemal Test: Rapid Plasma Reagin in Comparison with Specific Treponemal Test: Immunochromatographic Assay for Screening Healthy Blood Donors* (Evaluación del test no treponémico: RPR en comparación con el test treponémico IC para la detección de donantes de sangre sanos), llevada a cabo por Tiwari, Acharya, Dara, Arora, Aggarwal y Rawat en el año 2017. El objetivo de este estudio fue comparar la técnica no treponémica RPR con la técnica treponémica IC, el diseño utilizado fue de campo, contemporáneo y multivariable. Las muestras se evaluaron en simultáneo para anticuerpos anti-treponémicos por IC en fase sólida, RPR y el Ensayo de Absorción de Anticuerpos Treponémicos Fluorescentes (FTA-ABS, por sus siglas en inglés). Obteniendo como resultados de las 10.200 muestras analizadas; una S de 93% y 66% para IC y RPR respectivamente, mientras que la E fue de 66% para IC y de 83% en el caso de la técnica RPR. Se concluyó que la IC es mejor para el cribado de donantes de sangre sanos por su alta sensibilidad<sup>22</sup>. Dicha investigación constituyó un sustento para el presente evento de estudio, al describir valores de sensibilidad y especificidad para las técnicas de RPR e IC.

El siguiente trabajo realizado por Zhamungui, Herrera, Landázuri y Vinueza en el año 2017, lleva por título; Análisis de técnicas treponémicas y no treponémicas en el tamizaje serológico de sífilis, su objetivo fue analizar y evaluar la eficacia de cuatro técnicas de tamizaje serológico. El diseño fue de

campo, contemporáneo y multivariable, se estudiaron 1376 muestras para comparar las técnicas de IC, VDRL, Electroquimioluminiscencia (ECLIA, por sus siglas en inglés) y Microelisa con respecto al *gold standard* (FTA-ABS). Se obtuvo una concordancia del 98,67% en las cuatro técnicas, el 63,16% de los resultados discrepantes fueron generados por el VDRL, que alcanzó los valores más bajos de S y E, siendo estos de 69% y 45% respectivamente, en contraste con la IC (S: 100%, E: 82%), ECLIA (S: 96%, E: 82%) y Microelisa (S: 100%, E: 64%). Los autores demostraron así la necesidad de reemplazar el uso del VDRL con el empleo de técnicas basadas en nuevas tecnologías para el tamizaje serológico de sífilis<sup>26</sup>. Dichos resultados, entre otros, permitieron conocer los valores de sensibilidad y especificidad reportados por la literatura para dos de las técnicas empleadas en esta investigación, como son el VDRL y la IC.

Por último, en un trabajo titulado: *Seroprevalence of syphilis by VDRL test and biological false positive reactions in different patient populations* (Seroprevalencia de sífilis por la prueba VDRL y reacciones biológicas falsas positivas en diferentes poblaciones de pacientes), los investigadores Patwardhan, Bhattar, Bhalla y Rawat en el año 2016, tuvieron por objeto determinar la seroprevalencia real de la sífilis y los falsos positivos en diferentes grupos de pacientes. El diseño fue de campo, histórico y univariable, se analizaron 57.308 muestras utilizando la técnica de VDRL y los sueros reactivos fueron confirmados con el TPHA. En los resultados se determinó una seroprevalencia de sífilis de 1,27% por la técnica de VDRL, con una tasa de falsos positivos de 0,14%, ya que, de 733 muestras reactivas, 81 fueron falsos positivos, produciéndose estos con una frecuencia del 11% del total de las muestras positivas. A partir de los resultados mencionados se concluyó que incluso cuando la seroprevalencia de sífilis es baja, la frecuencia de los falsos positivos llama la atención<sup>27</sup>. Esta investigación proporcionó un indicio de que el VDRL posee una alta tasa de falsos positivos, lo cual resulta alarmante pues es la principal técnica utilizada en el país para el cribado de sífilis.

## Antecedentes Históricos

Ya conociendo algunas investigaciones recientes sobre el diagnóstico de sífilis y las técnicas utilizadas para ello, específicamente en lo que respecta al rendimiento o desempeño de los tests treponémicos y no treponémicos, es importante tener conocimiento del origen de su agente etiológico. Aunque ya se sabía sobre la infección, se desconocía su agente causal y no fue sino hasta marzo del año 1905 cuando Fritz Schaudinn y Erich Hoffman describieron la relación entre la bacteria *Treponema pallidum* con la sífilis<sup>28</sup>, demostrando la presencia del microorganismo en una muestra obtenida de una pápula erosionada en la vulva de una mujer con sífilis secundaria. El examen se realizó en un microscopio Zeiss, en el que observaron varios microorganismos en espiral muy delgados y claros, de allí surge su primer nombre *Spirochaetta pallida*. Posteriormente, en octubre del mismo año se le cambia el nombre a *Treponema pallidum*<sup>29</sup>.

Años más tarde, se hace necesaria la invención de técnicas serológicas que evidenciaran la presencia del microorganismo, entre dichas técnicas se encuentra el test VDRL, desarrollada por Harris, Rosenberg y Riedel en 1946. Ellos realizaron una serie de experimentos para crear una técnica que fuera estandarizada, reproducible, rápida y con una sensibilidad y especificidad adecuada, utilizando diferentes combinaciones de antígenos de cardiolipina, colesterol y lecitina, hasta encontrar la más apropiada. Para realizar la prueba agregaron el antígeno al suero calentado y la reacción obtenida fue comparada con las técnicas existentes para la época, encontrando valores de sensibilidad satisfactorios, con resultados semejantes a los de la técnica Kahn estándar<sup>30</sup>.

Otro de los tests creados para el cribado de pacientes con sífilis fue la RPR, por el Dr. John Brewer en mayo de 1961. El Dr. Brewer mezcló el suero del paciente con el antígeno de VDRL, pero con la variante de que el mismo contenía partículas de carbono secadas en cartulinas blancas recubiertas de plástico. Dentro de las ventajas de esta prueba se incluyen; el uso de

materiales desechables, el hecho de que la muestra a analizar no requiere calentamiento y se realiza sin aparatos de laboratorio, excepto por la centrífuga. La técnica reunía algunas de las características deseadas para una técnica de tarjeta, como lo es la suspensión estable de antígenos, el rápido rendimiento y el elevado nivel de sensibilidad. Es así como la técnica de la RPR, surge de la colaboración del Laboratorio de Investigación de Enfermedades Venéreas del Servicio de Salud Pública con el Dr. Brewer, al realizarle algunas modificaciones al formato de VDRL<sup>14</sup>.

Otro formato de prueba que se implementó a través de los años para el diagnóstico de sífilis fue la IC, también conocida como Inmunoensayo de Flujo Lateral (LFIA, por sus siglas en inglés), la cual fue propuesta por primera vez en el año 1959 por la biofísica Rosalyn S. Yalow y el médico endocrinólogo Solomon A. Berson, quienes utilizaron un papel parafinado con el fin de determinar la presencia de insulina en plasma sanguíneo<sup>31</sup>. Con el pasar de los años, se fueron incorporando mejorías a la prueba para poder disminuir el tiempo de reacción y aumentar su especificidad y practicabilidad<sup>32</sup>; además el papel fue sustituido por membranas de nitrocelulosa donde se encuentran los anticuerpos y/o antígenos específicos<sup>31</sup>.

El uso que principalmente impulsó al desarrollo de estas pruebas rápidas fue la detección de la hormona gonadotropina coriónica humana, por la necesidad de realizar un diagnóstico médico rápido<sup>32</sup>. De igual forma se amplió la aplicación de esta prueba a diversos analitos, incluidos los anticuerpos anti-treponémicos para el diagnóstico de sífilis, esto lo consiguieron al utilizar antígenos recombinantes de *T. pallidum* unidos a partículas de oro coloidal, que interactúan con los anticuerpos en la muestra del paciente. De esta forma se obtuvo una prueba simple, rápida y específica para el diagnóstico de sífilis<sup>31</sup>.

## **Bases Teóricas**

### **Aproximación Teórica sobre el Inmunodiagnóstico**

La interacción que ocurre entre un antígeno con su anticuerpo específico es una relación bimolecular análoga a la de una enzima y su sustrato, pero difiere en que no habrá una alteración química irreversible en el anticuerpo ni en el antígeno. La gran especificidad de las interacciones antígeno-anticuerpo ha llevado en los últimos años a la creación de diversas técnicas inmunológicas que facilitan el diagnóstico de numerosas enfermedades, dichas técnicas son denominadas técnicas de inmunodiagnóstico o inmunoensayos<sup>33</sup>.

Es así, como el inmunodiagnóstico se basa en evidenciar la reacción antígeno-anticuerpo como su principal medio de detección, esto debido a la minuciosa especificidad de los anticuerpos por antígenos particulares, lo que los convierte en reactivos muy valiosos para detectar, cuantificar y purificar antígenos<sup>10</sup>.

La creación de nuevas técnicas de inmunodiagnóstico ha resultado ventajosa, pues con el desarrollo de las mismas ha ido en aumento la sensibilidad y especificidad en la detección de analitos de interés, permitiendo hacer diagnósticos tempranos y más certeros, monitorear el progreso de la enfermedad al evaluar la variación de los anticuerpos presentes en las muestras de los pacientes o bien hacer seguimiento en la efectividad de un tratamiento determinado<sup>11</sup>.

Existen distintas clasificaciones del inmunoanálisis, entre ellas destaca aquella que lo divide en dos grandes grupos, los ensayos competitivos y los no competitivos. Por otra parte, también se pueden clasificar en función del marcador empleado, el cual puede dar lugar a una reacción colorimétrica, ultravioleta, fluorescente, quimioluminiscente, entre otras<sup>34</sup>.

### **Aproximación Teórica sobre los Parámetros de Validez y Seguridad de una prueba de Inmunodiagnóstico**

La confiabilidad de una técnica basada en el inmunodiagnóstico depende de ciertos parámetros, siendo estos; sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. La sensibilidad se define como la probabilidad de verdaderos positivos que son correctamente identificados por un test<sup>35</sup>. Es decir, la capacidad del test para detectar la enfermedad. Por su parte, la especificidad es la probabilidad de verdaderos negativos correctamente identificados por un test. Haciendo referencia entonces a la posibilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo<sup>12</sup>.

El valor predictivo positivo es la proporción de pacientes con un resultado positivo en el test que son correctamente diagnosticados. En contraste, el valor predictivo negativo es la proporción de pacientes con un resultado negativo en el test que son correctamente diagnosticados<sup>13</sup>.

### **Aproximación Teórica sobre la RPR como técnica diagnóstica de la infección por *Treponema pallidum*.**

La técnica RPR se realiza para el cribado de sífilis y control de tratamiento de pacientes con la infección confirmada<sup>36</sup>. El test utiliza una suspensión de antígenos preparada con material lipoidal, capaz de interactuar con los anticuerpos reagínicos en caso de estar presentes en la muestra del paciente<sup>5</sup>. Además, contiene pequeñas cantidades de carbón preparado, el cual permite facilitar la visualización del entramado tridimensional, que se genera debido a la formación de los inmunocomplejos. Para este test, no es necesario inactivar las muestras por calentamiento y se puede usar suero o plasma indistintamente. Los resultados se reportan como reactivos, en los cuales se observará una aglutinación macroscópica de color negro o como no reactivos, en los que solo se visualiza una mezcla homogénea de color grisáceo. Se caracteriza por ser un test de rendimiento rápido y altamente sensible<sup>14</sup>.

### **Aproximación Teórica sobre el VDRL como técnica diagnóstica de la infección por *Treponema pallidum***

El VDRL es una técnica de floculación para el diagnóstico de sífilis. Para ello puede utilizarse como muestra el suero del paciente, que, de acuerdo con el kit diagnóstico empleado, puede requerir ser inactivado por calentamiento o LCR, el cual no requiere calentamiento. Ambas muestras son enfrentadas a un antígeno compuesto por una solución alcohólica incolora de cardiolipina, colesterol y lecitina, que pondrá en evidencia la presencia de anticuerpos reagínicos<sup>15</sup>. La floculación en la mezcla, que ocurre como consecuencia de la reacción antígeno-anticuerpo, se puede reportar como reactivo, mientras que la ausencia de la misma significa no reactivo. Es importante destacar que el reporte de los resultados es subjetivo, porque depende de la experiencia del personal clínico<sup>8</sup>.

Algunas de las ventajas de la técnica VDRL, es la rapidez, su economía y la facilidad de realizarla. Sin embargo, es necesario que las muestras cumplan ciertos requerimientos para ser procesadas, como en el caso del suero, el cual no debe tener partículas que puedan interferir con la lectura, no debe estar hemolizado ni extremadamente turbio. Por su parte, el LCR tampoco debe tener restos de sangre ni contener partículas que interfieran en la reacción<sup>37</sup>.

### **Aproximación Teórica sobre la IC como técnica diagnóstica de la infección por *Treponema pallidum*.**

La IC es una técnica treponémica y cualitativa que se utiliza en la detección de anticuerpos de distintos isotipos tales como: IgM, IgG e IgA *contra T. pallidum*. La tira reactiva está formada por una membrana de nitrocelulosa, que tiene en un extremo una superficie absorbente donde ocurre el contacto con la muestra. La misma se desplaza a través de la membrana hasta alcanzar una región la cual se encuentra precubierta con antígenos recombinantes de *T. pallidum*, a su vez estos antígenos están conjugados con partículas de oro coloidal con el fin de dar color a la reacción. Además, están presentes

conjugados libres que serán reconocidos por los anticuerpos de la línea de control<sup>16</sup>.

Si los anticuerpos anti-treponémicos están presentes en la muestra del paciente, estos se unen al antígeno recombinante formando un inmunocomplejo que es soluble, el cual se va a desplazar hasta la región del test en la que se encuentran anticuerpos específicos para un epítotope distinto del antígeno recombinante, capturando e inmovilizando el inmunocomplejo formado, evidenciando así la reacción con la aparición de una señal visual como una línea de color. Por su parte, los conjugados libres siguen con el flujo lateral hasta llegar a la región de control, donde también se encuentran fijados unos anticuerpos específicos para esas moléculas, por lo tanto, al entrar en contacto se forma un inmunocomplejo de control, lo que permite la aparición de una línea de color que es indicativa de que el test es válido<sup>17</sup>.

Para esta prueba se pueden utilizar distintas muestras dependiendo del kit diagnóstico utilizado, tales como: suero, plasma y sangre total obtenida por venopunción o punción capilar. Los resultados se reportan como: positivo si se evidencia la línea de color en la región del test y en la región de control, negativo si solo se evidencia la línea de color en la región de control e inválido cuando no se evidencia color en la región de control. Esta prueba presenta múltiples ventajas ya que es rápida, fácil de realizar, permite dar al paciente un diagnóstico rápido para establecer un tratamiento oportuno y es la prueba que se prefiere para el cribado de sífilis en los Centros de Atención.<sup>17,38</sup>

### **Taxonomía y aspectos característicos de *Treponema pallidum*:**

*Treponema pallidum* pertenece al dominio *Bacteria*, filo *Spirochaetota*, clase *Spirochaetia*, orden *Spirochaetales*, familia *Treponemataceae*, género *Treponema*, especie *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*<sup>39</sup>, cuyas dimensiones van de 0,1 a 0,2 µm de diámetro y de 6 a 20 µm de longitud, con extremos rectos puntiagudos en los que se incrustan tres flagelos periplásmicos<sup>6</sup>. Estas espiroquetas no pueden cultivarse *in vitro* ya que

presentan múltiples limitaciones metabólicas como la incapacidad de sintetizar lípidos, nucleótidos y aminoácidos, además de la ausencia de enzimas para realizar el ciclo de los ácidos tricarboxílicos, como consecuencia el microorganismo posee una alta dependencia de los nutrientes del hospedador<sup>40</sup>.

Por ser una espiroqueta tan delgada es muy difícil visualizarla con los microscopios ópticos en muestras teñidas con coloraciones tradicionales. Sin embargo, se identifican con facilidad en el microscopio de campo oscuro o empleando microscopía de fluorescencia cuando se encuentran en su forma móvil<sup>6</sup>.

La imposibilidad de cultivar a *T. pallidum in vitro* limita conocer algunos de sus factores de virulencia. A pesar de esta limitación, se ha descrito que tiene una serie de lipoproteínas adheridas a la membrana citoplasmática bacteriana, pero no todas estas se exponen en la membrana externa, por lo que no presenta antígenos específicos de especie en la superficie celular y esto le da la capacidad de eludir al sistema inmunitario<sup>40</sup>.

Aunado a esto, como parte de los mecanismos utilizados por la bacteria para resistirse a la fagocitosis, se encuentra su capacidad de unión con la fibronectina del hospedador, lo que le permite interactuar con los tejidos del mismo, provocando la ruptura de las membranas celulares y por lo tanto la liberación de sustancias lipídicas como la cardiolipina, colesterol y lecitina, reconocidas como DAMPs que inducen la respuesta inmune<sup>4</sup>. Sin embargo, considerando que el estudio del genoma de esta espiroqueta ha sido difícil, gran parte de la información descrita se basa en extrapolaciones al comparar genes que se encuentran en otras bacterias patógenas<sup>41</sup>.

### **Infección por *Treponema pallidum*:**

*T. pallidum* es el agente causal de la sífilis<sup>1</sup>, para el desarrollo de esta infección el período de incubación oscila entre los 10 a 90 días, con un

promedio de 21 días<sup>42</sup>. Entre las principales vías de transmisión se incluyen la exposición sexual o por transmisión vertical durante el embarazo<sup>40</sup>.

La sífilis puede causar diversas manifestaciones clínicas durante los primeros 3 años, entrando en una etapa latente que pudiese avanzar hasta la etapa terciaria. A causa de que las lesiones sifilíticas muchas veces son asintomáticas y/o pueden aparecer en áreas del cuerpo donde no son observadas con facilidad, no todas las personas que la padecen presentan las manifestaciones clásicas de las etapas clínicas de la infección. Estas etapas son conocidas como: primaria, secundaria, latente y terciaria. La sífilis primaria refiere la aparición de una lesión inicial en el sitio de inoculación, en esta la principal manifestación clínica es la presencia de una pápula indolora, solitaria, endurecida y de base limpia, la cual luego se erosiona para convertirse en una úlcera indolora con bordes elevados conocida como chancro sifilítico. Este chancro resulta un foco local para la multiplicación del microorganismo, el cual puede alcanzar el resto del cuerpo por el sistema circulatorio. Además, la mayoría de los pacientes presentan linfadenopatía<sup>6,43</sup>.

Simultáneamente o después de la desaparición del chancro, comienza la etapa secundaria, la cual resulta de la diseminación hematogena de la infección<sup>42,43</sup>. En esta etapa las manifestaciones clínicas incluyen malestar general, cefalea, fiebre baja y erupciones maculopapulares que inician en el tronco con posterior diseminación en hombros, brazos, pecho, espalda, palmas de las manos y plantas de los pies, las cuales son conocidas como sifilides<sup>41</sup>. También pueden aparecer lesiones en los pliegues cutáneos y en las mucosas denominadas condiloma lata<sup>6</sup>. Si la persona no es tratada, entra en el periodo latente caracterizado por la ausencia de las manifestaciones clínicas y puede durar varios años<sup>42</sup>.

En algunos casos, los pacientes sin ser tratados evolucionan hasta un estadio terciario, esta etapa generalmente se presenta varios años después de la infección. Entre los síntomas más comunes de esta fase se encuentran dificultad en la coordinación del movimiento, parálisis, entumecimiento,

ceguera y demencia, dado que en este punto *T. pallidum* puede invadir cualquier sistema. En el caso del sistema cardiovascular produce sífilis cardiovascular, en el sistema nervioso origina neurosífilis y sífilis gomosa a nivel cutáneo y óseo. Durante esta fase el número de espiroquetas desciende radicalmente por lo que la transmisión sexual de la infección en este punto es casi nula<sup>44</sup>.

### **Epidemiología de la infección causada por *Treponema pallidum*:**

Como se mencionó anteriormente, la infección causada por *T. pallidum*, es considerada un problema de salud pública a nivel mundial, que se hace más notorio en las áreas de bajos y medianos ingresos<sup>45</sup>, siendo estas donde la infección se desarrolla de manera exagerada ya que tienen acceso limitado a los sistemas de salud<sup>43</sup>. Sin embargo, a partir del 2016 se ha descrito un aumento de los casos en países de altos ingresos como los pertenecientes a la Unión Europea, Estados Unidos, Canadá y Australia, con cifras alarmantes en ciertos subgrupos poblacionales<sup>46</sup>.

En la actualidad la red de hombres que tienen sexo con hombres (HSH), personas privadas de libertad, los trabajadores sexuales y sus clientes, los migrantes, así como las personas adictas a drogas intravenosas y sus parejas, son la población mayormente afectada. Además, se asocia frecuentemente con co-infección o co-transmisión con el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH)<sup>46,47</sup>. Por otro lado, el aumento de los casos de sífilis en mujeres en edad fértil se ha visto reflejado en el incremento de sífilis congénita, lo que ha ocasionado a su vez un aumento de la mortalidad infantil<sup>48</sup>.

Una de las razones por las cuales disminuyó la incidencia de la infección en la década de los 40 fue por la implementación de la penicilina, sin embargo, se ha descrito un resurgimiento desde 1980 que se ha ido intensificando<sup>42,43,45</sup>. Según los últimos datos obtenidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para el año 2020 se reportó un promedio de 7,1 millones de casos nuevos por año<sup>49</sup>. Es importante destacar que, las cifras de incidencia y

prevalencia varían según la ubicación geográfica<sup>2</sup>, siendo las regiones del sur, sudeste y este de Asia incluidas India y China las poblaciones con los cambios más drásticos en cuanto a la epidemiología de sífilis<sup>47</sup>.

### **Respuesta Inmunológica frente a *Treponema pallidum*:**

Una vez que el microorganismo es inoculado sobre las mucosas o la piel durante el contacto sexual, se desarrolla la sífilis, pues al unirse la membrana extracelular de la bacteria con las células del hospedero se da el paso inicial de la infección<sup>50</sup>. No obstante, la interacción entre *T. pallidum* y las células no se registra únicamente durante el proceso de invasión, sino que también la bacteria posee una gran cantidad de lipoproteínas capaces de activar a representantes del sistema inmunológico como los macrófagos y las células dendríticas (DC), por medio de las vías de señalización dependientes de los receptores tipo Toll 2 (TLR-2). Es por ello que se piensa que esas lipoproteínas constituyen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs) que son los principales agonistas pro-inflamatorios en la sífilis<sup>51</sup>. Sin embargo, dichos PAMPs se encuentran por debajo de la membrana externa, por lo que no son de fácil contacto para los TLR u otros receptores de reconocimiento de patrones (PRRs) presentes en los monocitos, macrófagos y DC, lo que explica la ausencia de los síntomas inflamatorios que son característicos de la sífilis<sup>50,51</sup>.

En este sentido, al eludir a la inmunidad innata la bacteria puede replicarse y diseminarse por todo el organismo. No obstante, al aumentar la cantidad de espiroquetas, una pequeña proporción de microorganismos son englobados por DC específicas del tejido, las cuales viajan a los ganglios linfáticos para presentar los antígenos treponémicos a los linfocitos T y B vírgenes y que así ocurra la diferenciación y migración de los mismos al lugar de la infección<sup>51</sup>. Es así como, las DC actúan como puente entre la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa<sup>52</sup>. Como consecuencia de la generación de una respuesta inmune adaptativa, se evidencia la formación de anticuerpos

opsónicos, los cuales facilitan la degradación de las espiroquetas y permiten que los PAMPs treponémicos entren en contacto con los PRRs de la vacuola fagocítica, desencadenando su activación. A pesar de esto, motivado a la baja cantidad de proteínas integrales de la membrana externa (OMP) de la bacteria y la escasa respuesta de anticuerpos que se producen, disminuye la factibilidad de que los anticuerpos anti-treponémicos que actúan contra la membrana bacteriana, puedan por si solos controlar la infección<sup>51</sup>.

Por otra parte, a causa de la diseminación y multiplicación de *T. pallidum* a otros tejidos, se induce un infiltrado celular inflamatorio, cuyos protagonistas incluyen a los macrófagos, linfocitos T CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> y células plasmáticas, acompañadas de distintos grados de inflamación y proliferación de células endoteliales. Además, la producción de interferón  $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) por las células T activadas aumenta la capacidad que tienen los macrófagos de internalizar y degradar las espiroquetas, lo que incrementa la producción de citocinas pro-inflamatorias. Por consiguiente, la respuesta inflamatoria producida promueve el daño tisular dando lugar a las manifestaciones clínicas<sup>50</sup>, así como a la liberación de sustancias lipídicas (cardiolipina, colesterol y lecitina), que son reconocidas como DAMPs. Estos últimos promueven la producción de anticuerpos anti-lipoidales de tipo IgM e IgG o también conocidos como anticuerpos reagínicos<sup>4,5</sup>.

### **Evasión de la Respuesta Inmune:**

Como se ha descrito, *T. pallidum* tiene la capacidad de eludir extraordinariamente las respuestas celular y humoral del hospedero, permaneciendo en el organismo durante muchos años y haciendo que la infección avance a etapas tardías. El microorganismo tiene diversos mecanismos para pasar desapercibido, uno de ellos es que posee un grupo de proteínas de membrana denominadas proteínas de repetición de *T. pallidum* (Tpr). Presumiblemente la proteína TprK es la que principalmente le da la capacidad de evadir el sistema inmune, al otorgarle variabilidad

antigénica en siete regiones que se supone son bucles extracelulares los cuales guardan epítopes de células B<sup>9,50</sup>.

Además, la espiroqueta tiene una exclusiva arquitectura molecular, la cual le confiere una baja antigenicidad<sup>53</sup>. Otro aspecto importante, es que tiene la capacidad de recubrirse con proteínas u otras sustancias propias del hospedador, como la fibronectina, inmunoglobulinas de tipo IgG, glucosa y la transferrina. Para ello utiliza moléculas conocidas como la proteína TpN83 encargada de adsorber fibronectina, también está la lipoproteína GlpQ (glicerofosfodiéster fosfodiésterasa) la cual es capaz de unirse a la fracción constante (Fc) de las IgG, permitiendo que las inmunoglobulinas cubran la célula microbiana y oculten algunos epítopes que serían reconocidos en condiciones normales por el sistema inmunitario. Asimismo, la TpN3 asemeja un receptor de glucosa por lo que la captación de glucosa del hospedero ayuda a cubrir la bacteria y el carbohidrato ingresaría al citoplasma bacteriano sin haber interacción entre la fracción variable (Fab) de las inmunoglobulinas con la superficie bacteriana<sup>54</sup>.

A pesar de lo descrito previamente, el mecanismo exacto por el cual *T. pallidum* elude la respuesta inmune del organismo aún no ha sido completamente dilucidado, debido a la incapacidad de poder cultivarla *in vitro*. Es importante destacar, que por todo lo antes mencionado al microorganismo se le conoce como el “patógeno sigiloso”<sup>50</sup>.

### **Diagnóstico de la infección:**

Para demostrar la presencia de *T. pallidum* en el organismo, existen diversas técnicas diagnósticas que van desde la microscopía de campo oscuro y el diagnóstico serológico, hasta las últimas tecnologías desarrolladas por la biología molecular. El diagnóstico directo se realiza a través de la microscopía de campo oscuro o por técnicas especiales de tinción fluorescente de exudados cutáneos ricos en espiroquetas, pero estas técnicas han caído francamente en desuso dado que son más las desventajas que las ventajas

de las mismas<sup>6</sup>. En consecuencia, el diagnóstico indirecto (serológico) ha ido tomando fuerza a través de los años, siendo actualmente el método más utilizado en la determinación de la infección por *T. pallidum*<sup>7</sup>. Sin embargo, no se puede dejar a un lado la importancia del diagnóstico molecular, a través de la utilización de la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que es la más eficiente para confirmar la presencia de la bacteria<sup>55</sup>.

Con respecto al diagnóstico serológico, se ha establecido que los tests empleados para la detección de sífilis se dividen en dos grupos, NTTs y TTs. Los NTTs determinan anticuerpos anti-lipoidales de tipo IgM e IgG, producidos en respuesta al material lipoidal liberado por el daño tisular. En esta categoría se encuentran las técnicas: VDRL, RPR y el test del suero no calentado y rojo de toluidina (TRUST, por sus siglas en inglés), siendo las dos primeras las más frecuentemente utilizadas<sup>7-9</sup>. Para realizar estos tests es recomendable esperar de 10 a 15 días después de la aparición de una lesión primaria, de lo contrario el análisis puede resultar negativo. Tanto el VDRL como la RPR utilizan como antígenos soluciones alcohólicas con volúmenes determinados de cardiolipina, colesterol y lecitina<sup>7,9</sup>, que al enfrentarse a las muestras provenientes de los pacientes y en ellas estar presentes los anticuerpos anti-lipoidales, se formarán los inmunocomplejos<sup>34</sup>.

Existen varias diferencias entre ambas técnicas, el VDRL necesita de un microscopio para observar el entramado tridimensional ya que se forma una floculación en caso de estar reactivo. También, como muestra se utiliza suero, que dependiendo de las características de la prueba puede requerir ser calentado, para eliminar las proteínas del complemento que puedan interferir en el resultado, o también puede evaluarse el LCR<sup>15</sup>. Por su parte, en la técnica de RPR se forma una aglutinación, por lo que el uso del microscopio no es necesario, además el antígeno posee partículas de carbón marcado, que facilitan la visualización. Se puede utilizar suero o plasma que no requieren calentamiento porque la solución alcohólica contiene cloruro de colina y EDTA

que inactivan las proteínas del complemento. En ambos casos los resultados son subjetivos y se necesita de personal capacitado<sup>14</sup>.

Puesto que los anticuerpos anti-lipoidales no son exclusivos de la sífilis, para confirmar resultados no treponémicos positivos es necesario la realización de TTs, que permiten detectar anticuerpos específicos frente a *T. pallidum*. Los resultados de los TTs son positivos de 6 a 14 días después de la aparición del chancro primario y por su alta sensibilidad permiten diagnosticar la sífilis temprana que no se detecta con los NTTs. Dentro de estos se encuentran: el FTA-ABS, Micro TPHA, TPHA, la aglutinación pasiva de partículas de *T. pallidum* (TPPA, por sus siglas en inglés) y la IC<sup>8,9</sup>.

Actualmente existen dos algoritmos utilizados para el diagnóstico de sífilis: el algoritmo tradicional y el algoritmo serológico de secuencia inversa<sup>38</sup>. Por un lado, el algoritmo tradicional utiliza un NTT como la RPR o VDRL y se confirma un resultado positivo con un TT. Por otro lado, el algoritmo inverso emplea en primer lugar un TT, como CLIA o un inmunoensayo enzimático (EIA, por sus siglas en inglés) y confirma los resultados positivos con un NTT, en caso de haber discrepancia entre los tests, se realiza un segundo TT, comúnmente el TPPA para confirmar el resultado<sup>56,57</sup>.

La elección de alguno de los algoritmos va a depender de distintos criterios, presentando cada uno ciertas ventajas y limitaciones. En cuanto al algoritmo tradicional, se considera menos sensible y va a depender de la experiencia del operador en la interpretación de los NTTs; del mismo modo, el efecto prozona puede intervenir en los resultados, dando lugar a falsos negativos, así como también pacientes que se encuentren en fases tempranas de la infección o en sífilis latente. Sin embargo, este algoritmo es preferido en los laboratorios de recursos limitados dado su bajo costo<sup>38,57</sup>.

Por el contrario, el algoritmo inverso es utilizado en laboratorios con grandes volúmenes de muestras, ya que requiere menos mano de obra con tiempos de detección rápidos, dado que los TTs admiten formatos automatizados; además son más sensibles en estadios tempranos de la

infección, así como en la sífilis latente<sup>57</sup>. La desventaja de este algoritmo, es que en poblaciones de alta prevalencia pueden presentarse falsos positivos<sup>56</sup>. De hecho, una recomendación emitida por la OMS es aplicar el algoritmo inverso en el cribado de sífilis en poblaciones de baja prevalencia como los donantes de sangre<sup>20</sup>, esto debido a que el uso de pruebas con baja especificidad puede dar lugar a falsos positivos que pueden causar preocupación en esas poblaciones y generar mayores costos<sup>58</sup>.

Tomando en consideración lo antes descrito para cada algoritmo, la elección de un NTT o un TT como primera prueba para el cribado debe basarse en variables como la prevalencia local, el volumen de trabajo del laboratorio clínico, los equipos de los que se dispone y el presupuesto correspondiente<sup>56</sup>.

## Definición Operacional de Términos

### **Sífilis:**

Es una infección con afectación sistémica, de evolución crónica, cuyo agente causal es la bacteria *Treponema pallidum*. Sus principales mecanismos de transmisión son el contacto sexual sin protección y la transmisión vertical<sup>1</sup>.

### **Antígeno:**

Toda sustancia química (casi siempre ajena) que se une a un anticuerpo o a un receptor de célula T, siendo capaz de inducir una respuesta inmunitaria específica y de reaccionar con sus elementos<sup>10,33</sup>.

### **Anticuerpo:**

Molécula glucoproteica producida por los linfocitos B, también llamada inmunoglobulina, que se une a los antígenos con un elevado grado de especificidad y de afinidad. La unidad estructural básica de un anticuerpo está compuesta por dos cadenas pesadas idénticas y otras dos cadenas ligeras idénticas<sup>10</sup>.

### **Anticuerpo reagínico:**

Se denominan anticuerpos reagínicos a los anticuerpos no-treponémicos o anticuerpos anti-lipoidales, que se generan en respuesta a los derivados tisulares productos del daño ocasionado durante el proceso de invasión bacteriana. Estos anticuerpos, no son exclusivos de la sífilis y también son producidos en otras enfermedades infecciosas<sup>5</sup>.

### **Inmunocomplejo:**

Complejo multimolecular constituido por las moléculas del anticuerpo que llevan ligado un antígeno. Como cada anticuerpo tiene un mínimo de dos sitios de unión al antígeno son polivalentes, por lo tanto, los inmunocomplejos pueden variar mucho de tamaño<sup>10</sup>.

**Aglutinación:**

Interrelación de los anticuerpos con los antígenos que se encuentran en la superficie o forman parte de la membrana de un microorganismo, de células o de partículas inertes<sup>59</sup>.

**Microaglutinación o floculación:**

Reacción de aglutinación que pone en evidencia la unión antígeno-anticuerpo, la cual se realiza utilizando pequeños volúmenes de reactivo y no se observa a simple vista por lo que se requiere el empleo de un microscopio<sup>60</sup>.

**Cromatografía**

Técnica biofísica que permite la separación, identificación, purificación, cuantificación, calificación y determinación de los componentes de una muestra. Este procedimiento consta de una fase estacionaria que suele ser un sólido y una fase móvil que puede ser un líquido o gas y corre a través de una superficie<sup>61</sup>.

**Inmunocromatografía**

Es una técnica de inmunodiagnóstico que combina la cromatografía con las reacciones inmunoquímicas. Permiten detectar anticuerpos o antígenos presentes en una muestra. En la actualidad el formato más utilizado es el de tira reactiva<sup>62</sup>.

## Operacionalización del Evento de Estudio

**Tabla N°1. Operacionalización del evento de estudio:  
Diagnóstico de Sífilis**

Evento de estudio	Definición conceptual ¿qué es?	Definición operacional ¿cómo se mide?
Diagnóstico de Sífilis	<p>Consiste en poner en evidencia la presencia de la bacteria <i>Treponema pallidum</i>, la cual es el agente causal de la sífilis, a través de diversas técnicas diagnósticas.</p>	<p>Se utilizan diferentes métodos como:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>➤ El análisis directo de los exudados de lesiones cutáneas, utilizando microscopía de campo oscuro o técnicas especiales de tinción fluorescente.</li> <li>➤ Pruebas serológicas que pueden ser no treponémicas que miden los anticuerpos reagínicos y treponémicas que evalúan los anticuerpos anti-treponémicos.</li> </ul>
Dimensiones	Indicadores	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Diagnóstico positivo para Sífilis.</li> <li>➤ Diagnóstico negativo para Sífilis.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Análisis Directo: Presencia o ausencia de <i>Treponema pallidum</i>.</li> <li>➤ Pruebas Serológicas: Presencia o ausencia de anticuerpos reagínicos o anti-treponémicos.</li> </ul>	

**Fuente:** Elkhoury AJ, Gutiérrez AG, Bahsas RC, 2023.

**Tabla N°2. Operacionalización del Criterio de Análisis:**

**Técnica Reagina Plasmática Rápida**

<b>Criterio de análisis</b>	<b>Definición conceptual ¿qué es?</b>	<b>Definición operacional ¿cómo se mide?</b>
Técnica Reagina Plasmática Rápida	Es una técnica serológica que se fundamenta en el inmunodiagnóstico y se basa en el principio de aglutinación. Esta prueba utiliza como antígeno una solución alcohólica que contiene partículas de cardiolipina, colesterol y lecitina que van a unirse con los anticuerpos reagínicos, además contiene partículas de carbón preparado para ayudar a la visualización de los resultados. Se puede usar como muestra al suero o el plasma indistintamente.	A través de la formación de entramados tridimensionales producto de la formación de complejos antígeno-anticuerpo, que se observarán como una aglutinación macroscópica.
<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Reactivo.</li> <li>➤ No Reactivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Aglutinación macroscópica de color negro.</li> <li>➤ Mezcla homogénea de color grisáceo.</li> </ul>	

**Fuente:** Elkhoury AJ, Gutiérrez AG, Bahsas RC, 2023.

**Tabla N°3. Operacionalización del Criterio de Análisis:**

**Técnica *Venereal Disease Research Laboratory***

<b>Criterio de análisis</b>	<b>Definición conceptual ¿qué es?</b>	<b>Definición operacional ¿cómo se mide?</b>
<i>Técnica Venereal Disease Research Laboratory</i>	Es una técnica serológica que se fundamenta en el inmunodiagnóstico y se basa en el principio de floculación. Esta prueba utiliza como antígeno una solución alcohólica que contiene partículas de cardiolipina, colesterol y lecitina que van a unirse a los anticuerpos reagínicos. Se puede usar como muestra LCR y suero.	A través de la formación de entramados tridimensionales producto de la formación de complejos antígeno-anticuerpo, que se observarán como una aglutinación microscópica.
<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Reactivo.</li> <li>➤ No reactivo.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Aglutinación microscópica.</li> <li>➤ Ausencia de aglutinación.</li> </ul>	

**Fuente:** Elkhoury AJ, Gutiérrez AG, Bahsas RC, 2023.

**Tabla N°4. Operacionalización del Criterio de Análisis:**

**Técnica Inmunocromatografía**

<b>Criterio de análisis</b>	<b>Definición conceptual ¿qué es?</b>	<b>Definición operacional ¿cómo se mide?</b>
Técnica Inmunocromatografía	Es una técnica serológica que se fundamenta en la cromatografía de flujo lateral. Consiste en una membrana de nitrocelulosa que contiene antígenos recombinantes de <i>T. pallidum</i> conjugados con oro coloidal, dichos antígenos se unen a los anticuerpos anti-treponémicos presentes en la muestra del paciente. Se puede usar como muestra suero, plasma o sangre total.	A través de la unión de los anticuerpos anti-treponémicos con los antígenos conjugados con oro coloidal, dando lugar a la formación de inmunocomplejos que se evidenciarán con la aparición de una banda de color visible.
<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Positivo.</li> <li>➤ Negativo.</li> <li>➤ Inválido.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Dos bandas de color, una en la región de control y otra en la región de test.</li> <li>➤ Una banda de color en la región de control.</li> <li>➤ No se observa banda de color o solo se observa una en la región de test.</li> </ul>	

**Fuente:** Elkhoury AJ, Gutiérrez AG, Bahsas RC, 2023.

## Objetivos

### Objetivo General:

Comparar el desempeño de las técnicas Reagina Plasmática Rápida, *Venereal Disease Research Laboratory* e Inmunocromatografía para el diagnóstico de sífilis en estudiantes universitarios del área de la salud de la Universidad de Los Andes, en el período comprendido entre abril y mayo de 2023.

### Objetivos Específicos:

- Detectar la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica Reagina Plasmática Rápida, en muestras de suero de estudiantes universitarios del área de la salud.
- Identificar la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica *Venereal Disease Research Laboratory*, en muestras de suero de estudiantes universitarios del área de la salud.
- Diagnosticar la presencia de anticuerpos anti-treponémicos mediante la técnica Inmunocromatografía, en muestras de suero de estudiantes universitarios del área de la salud.
- Contrastar el rendimiento de las técnicas RPR, VDRL e IC en correspondencia con los parámetros de validez y seguridad; sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo, para el diagnóstico de sífilis en estudiantes universitarios del área de la salud.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Tipo de Investigación**

La presente investigación fue de tipo analítica y comparativa pues se analizó y contrastó el desempeño de tres formatos de pruebas para la detección de sífilis.

### **Diseño de Investigación**

En este estudio el diseño se categorizó como de campo, contemporáneo, transversal y multivariable. De campo dado que las muestras se recolectaron en su ambiente natural. Asimismo, fue contemporáneo y transversal porque se obtuvieron en el presente con una única medición. Finalmente, fue multivariable considerando que se hizo el contraste de los parámetros de validez y seguridad de cada prueba.

### **Población y Muestra**

#### **Unidad de Investigación**

La unidad de investigación estuvo constituida por estudiantes universitarios de tres escuelas del área de la salud; Escuela de Bioanálisis, Escuela de Farmacia y Escuela de Medicina, todas pertenecientes a la Universidad de Los Andes.

#### **Selección del Tamaño Muestral**

Para el desarrollo de la presente investigación, la muestra se obtuvo por muestreo probabilístico y específicamente estuvo representada por 28 estudiantes de cada una de las escuelas mencionadas, para un total de 84 estudiantes. Se incluyeron en el estudio a todas aquellas personas que

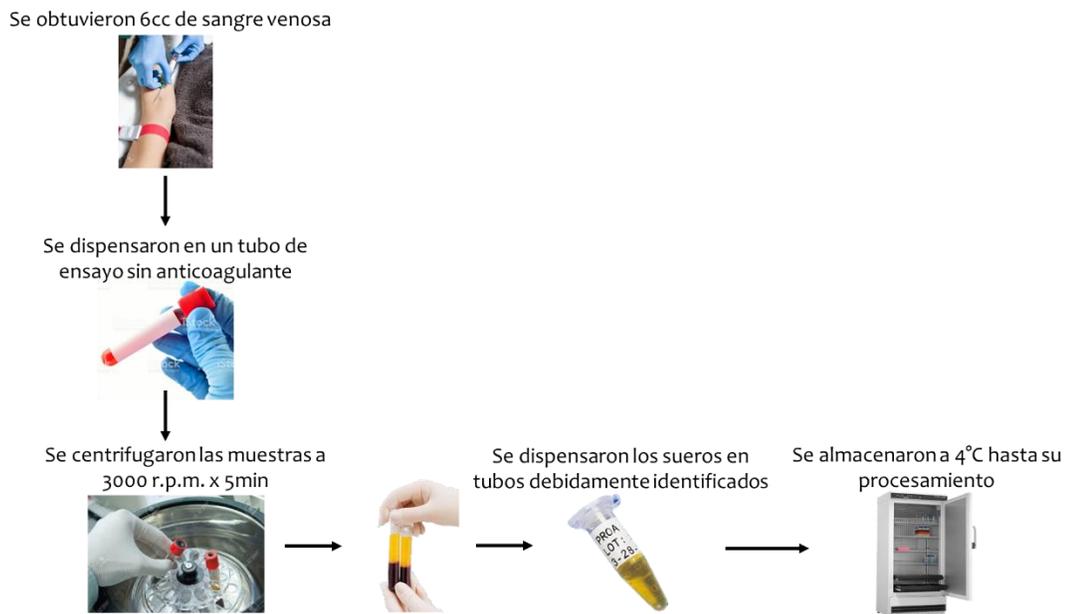
mostraron disposición a participar en el mismo, sin criterios particulares de inclusión o exclusión.

## **Procedimiento Metodológico**

### **Recolección de la muestra**

De conformidad con las normas de la Comisión Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Los Andes, a cada participante se le explicó de forma verbal la finalidad de la investigación y en qué consistiría su participación, del mismo modo se les proporcionó un consentimiento informado (Ver Anexo 1), posteriormente se llenó una Ficha de Recolección de Datos (Ver Anexo 2), para recopilar información sobre aspectos sociodemográficos de los participantes. Seguidamente, se procedió a la obtención de las muestras de suero, las cuales fueron procesadas y analizadas en el Laboratorio de Investigación Parasitológica “Dr. Jesús Moreno R.” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, en el período comprendido entre Abril y Mayo de 2023.

De cada participante se obtuvo una muestra de 6 cc de sangre venosa a partir de una vía periférica, la cual fue dispensada en un tubo de ensayo sin anticoagulante. Todos los tubos fueron centrifugados a 3000 r.p.m. durante 5 minutos y a temperatura ambiente. Seguidamente, el suero fue dispensado en tubos debidamente identificados, que se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento (Figura N°1).



**Figura N°1. Procedimiento para la recolección de la muestra.**

**Detección de la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica RPR:**

De acuerdo con las indicaciones del proveedor; Rodelg Laboratorios (Ver Anexo 3), se dispensaron 50  $\mu$ L de cada una de las muestras sobre los círculos de la tarjeta de reacción, garantizando la distribución uniforme de toda la muestra. Consecutivamente, se adicionó en el centro de cada círculo una gota del reactivo provisto por el kit comercial. Dicho reactivo se constituía por una suspensión de antígenos de Cardiolipina, Colesterol y Lecitina, adsorbidos sobre partículas de carbón y especialmente tratados en buffer fosfato con Cloruro de Colina. Luego, se procedió a hacer rotar horizontalmente la tarjeta de reacción empleando para ello un agitador rotatorio a 100 r.p.m. durante 8 minutos. Una vez transcurrido este tiempo, se observó la presencia o ausencia de aglutinación (Figura N°2). Es importante acotar que los controles Positivos y Negativos fueron procesados de la misma manera que cada muestra problema. Finalmente, los resultados se interpretaron de la siguiente manera:

- **Reactivo:** Presencia de aglutinación macroscópica en forma de grumos negros sobre el fondo claro. Esto es indicativo de que existen anticuerpos reagínicos o anti-lipoidales en la muestra. Dicha interpretación es equivalente a un resultado positivo.
- **No Reactivo:** Aspecto gris homogéneo que indica ausencia de anticuerpos reagínicos o anti-lipoidales en la muestra. Dicha interpretación es equivalente a un resultado negativo.



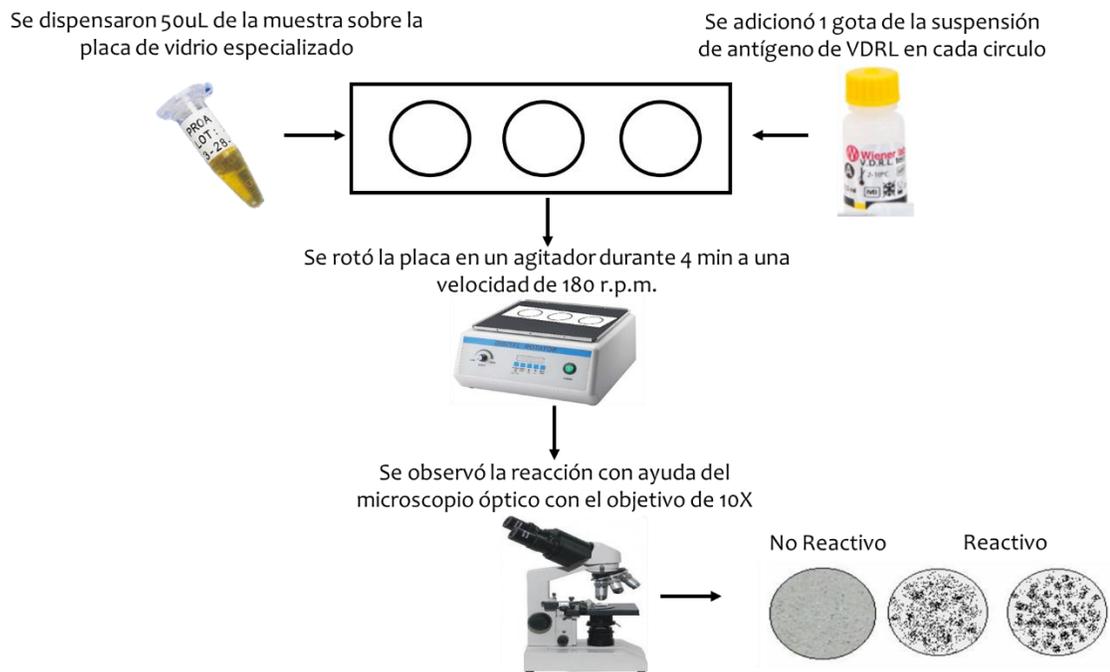
**Figura N°2. Esquema de la detección de anticuerpos reagínicos mediante la técnica RPR.**

### Identificación de la presencia de anticuerpos reagínicos mediante la técnica VDRL:

Para esta técnica se llevaron a cabo los pasos establecidos por el proveedor; Wiener (Ver Anexo 4), los cuales se presentan a continuación: Se depositaron 50 µL de cada muestra de suero a ensayar sobre círculos distintos de una placa de vidrio especializado para este tipo de prueba. Seguidamente,

se adicionaron 20  $\mu$ L de la suspensión de antígeno VDRL incluida en el kit comercial. Esta suspensión contenía una mezcla de Cardiolipina, Colesterol y Lecitina. Cabe destacar que durante la realización del ensayo, los controles Positivos y Negativos fueron tratados igual que las muestras problema. Luego, se procedió a mezclar con la asistencia de un agitador rotatorio durante 4 minutos, a una velocidad de rotación de 180 r.p.m. Por último, se observó cada muestra en el microscopio óptico con el objetivo de 10X, con la intención de determinar la presencia o ausencia de aglutinación inmediatamente después de la agitación (Figura N°3). La interpretación de los resultados se realizó de la siguiente manera:

- **Reactivo:** Si se observaban agregados grandes o medianos. Esta interpretación es equivalente a un resultado positivo.
- **No Reactivo:** En caso de no observarse ningún agregado. Esta interpretación es equivalente a un resultado negativo.

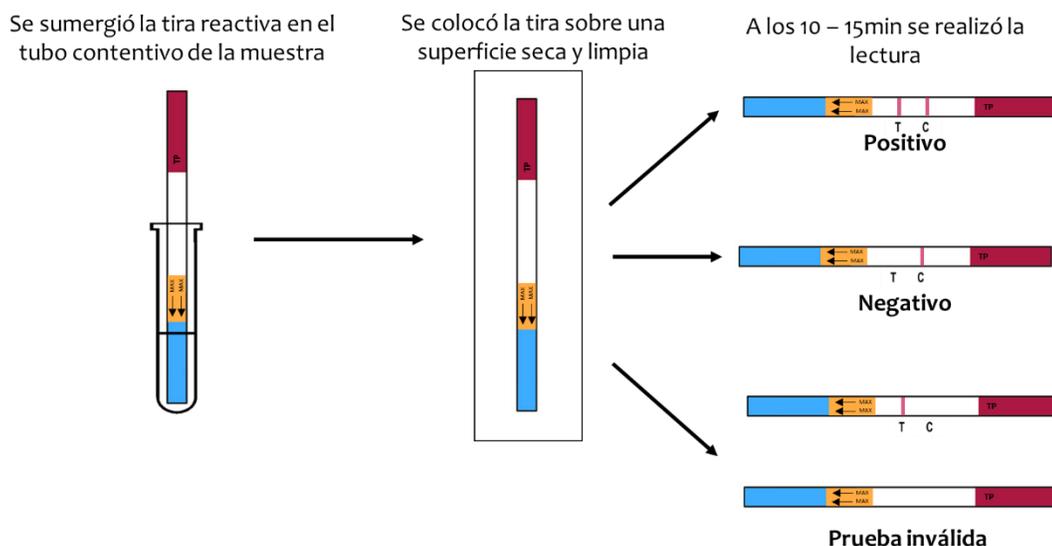


**Figura N°3. Esquema de la identificación de anticuerpos reagínicos mediante la técnica VDRL.**

### **Diagnóstico de la presencia de anticuerpos anti-treponémicos mediante la técnica IC:**

Tal y como se describe en las instrucciones del proveedor; Egens (Ver Anexo 5), se sumergió la tira reactiva en la muestra de suero durante 8 a 10 segundos, con el extremo que tiene marcada una flecha apuntando hacia la muestra, sin exceder la línea máxima. Posteriormente, se colocó la tira sobre una superficie limpia, seca y no absorbente. Se esperó hasta que aparecieran las bandas de color para validar la prueba con la línea en la región de control; la lectura se realizó dentro de los primeros 10 - 15 minutos sin superar los 20 minutos (Figura N°4). La interpretación de los resultados dependió de la presencia de las bandas de color en las distintas regiones de la tira reactiva, y se llevó a cabo de la siguiente manera:

- **Positivo:** Si se visualizaban dos bandas de color, una en la región de control y la otra en la región del test; lo cual indica que la muestra del paciente contiene cantidades detectables de anticuerpos anti-treponémicos.
- **Negativo:** Si se visualizaba solo una banda de color en la región de control; esto indica que no hay una cantidad detectable de anticuerpos anti-treponémicos en la muestra del paciente.
- **Inválido:** Si no se visualizaban bandas de color o solo aparecía una banda coloreada en la región del test, por lo cual se descartaba la prueba.



**Figura N°4. Esquema del diagnóstico de anticuerpos anti-treponémicos mediante la técnica IC.**

### Diseño de Análisis

Para esta investigación se aplicó el análisis estadístico descriptivo, a las variables categóricas se le calcularon distribuciones de frecuencias y porcentajes simples, para las variables cuantitativas continuas se realizaron medidas de tendencia central y variabilidad (media aritmética y desviación) presentadas en diagramas de caja y bigotes. Para el análisis estadístico inferencial, los datos de las pruebas se organizaron en tablas de doble entrada y se determinaron las probabilidades de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo. Para evaluar la concordancia entre los valores de las pruebas, se calculó el índice de Kappa de Cohen y el estadístico  $\chi^2$  de Pearson.

Los datos obtenidos fueron procesados de forma computarizada mediante el software de SPSS (Statistical Package for Social Sciences) para Windows versión 22 y Excel Microsoft Office para Windows versión 2019.

## RESULTADOS

El presente estudio estuvo constituido por una cohorte de 84 estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes que mostraron disposición por participar en la investigación. Posterior a la recopilación de datos y la recolección y procesamiento de muestras, la información obtenida fue tabulada y analizada estadísticamente, obteniendo lo siguiente:

En la muestra de estudiantes representada en la Tabla N°5, se puede observar que la mayoría son del sexo femenino (60,7%), con una distribución de la edad que va desde los 18 a los 33 años, con un promedio de 23,49 años y una baja dispersión de 3,247 años alrededor del promedio.

**Tabla N° 5. Sexo y edad en años de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

<b>Sexo</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Femenino	51	60,7
Masculino	33	39,3
Total	84	100,0

<b>Edad (Años)</b>	<b>Estadístico</b>
Media	23,49
Desviación típica	3,247
Mínimo	18
Máximo	33

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.

Por su parte, en la Tabla N° 6 para la variable de procedencia, la muestra presenta una frecuencia mayor para la categoría del Estado Mérida (48,8%), seguida del Estado Trujillo (15,5%) y el Estado Táchira (10,7%).

**Tabla N° 6. Procedencia de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

<b>Procedencia</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Mérida	41	48,8
Trujillo	13	15,5
Táchira	9	10,7
Barinas	8	9,5
Distrito Capital	2	2,4
Zulia	3	3,6
Bolívar	2	2,4
Portuguesa	1	1,2
Apure	1	1,2
Miranda	1	1,2
Amazonas	1	1,2
Falcón	1	1,2
Lara	1	1,2
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.

En la Tabla N°7 se evidencia que los estudiantes provienen en el mismo porcentaje de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina con un valor para cada escuela de 33,3% y en su mayoría está cursando el primer semestre o año con una frecuencia del 33,3% seguido del noveno semestre con un valor de 20,2%.

**Tabla N°7. Carrera y semestre o año que cursan los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023.**

<b>Escuela</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Bioanálisis	28	33,3
Farmacia	28	33,3
Medicina	28	33,3
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>100,0</b>
<b>Semestre o Año</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>Porcentaje</b>
Primero	28	33,3
Segundo	7	8,3
Tercero	5	6,0
Cuarto	6	7,1
Quinto	7	8,3
Sexto	5	6,0
Séptimo	5	6,0
Octavo	3	3,6
Noveno	17	20,2
No indica	1	1,2
<b>Total</b>	<b>84</b>	<b>100,0</b>

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.

Es importante resaltar que las variables reflejadas en las Tablas N°5, 6 y 7 se analizaron solo para fines de conocer los datos sociodemográficos de la muestra de estudio, pero no intervinieron ni se relacionaron de ninguna manera con la comparación del desempeño de las tres técnicas empleadas en esta investigación.

En la Tabla N°8 se ve reflejado el rendimiento de los tests no treponémicos en cuanto a los parámetros de validez y seguridad. Tanto la especificidad como el valor predictivo negativo para ambas pruebas fue del 100%. Considerando que en la muestra estudiada no se obtuvo un resultado positivo, es decir, no se detectaron anticuerpos reagínicos por ninguna de las pruebas contrastadas, no aplicó la determinación de la sensibilidad y del valor predictivo positivo.

**Tabla N°8. Desempeño de los NTTs (RPR y VDRL) en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

		VDRL			S	E	VPP	VPN
		Positivo	Negativo	Total				
RPR	Positivo	0	0	0	N/A	100	N/A	100
	Negativo	0	84	84				
<b>Total</b>		<b>0</b>	<b>84</b>	<b>84</b>				

**Nota:** S = Sensibilidad, E = Especificidad, VPP = Valor Predictivo Positivo, VPN = Valor Predictivo Negativo.

**Fuente:** Datos Inéditos, 2023.

En las Tablas N°9, 10 y 11 se describen además de los parámetros de validez y seguridad, los estadísticos; Índice de Kappa de Cohen y  $\chi^2$  de Pearson, los cuales se aplicaron con la finalidad de establecer el grado de acuerdo entre los dos tests no treponémicos (Tabla N°9), el VDRL y la Inmunocromatografía (Tabla N°10) y la RPR y la Inmunocromatografía (Tabla N°11). Es importante acotar que los mencionados estadísticos ameritaron la inclusión entre los resultados de la determinación que se le realizó a un paciente con serología positiva conocida, cuyo resultado fue positivo también con las tres pruebas empleadas en la investigación.

**Tabla N°9. Desempeño de los NTTs (RPR y VDRL) y concordancia de los mismos en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

		VDRL			S	E	VPP	VPN
		Positivo	Negativo	Total				
RPR	Positivo	1	0	1	100	100	100	100
	Negativo	0	84	84				
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>84</b>	<b>85</b>				

**Nota:** Significancia estadística según el Índice de Kappa de Cohen con un valor de 1,00 ( $p < 0,000$ ).

**Fuente:** Datos Inéditos, 2023.

**Tabla N°10. Desempeño del VDRL y concordancia con la Inmunocromatografía en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

		Inmunocromatografía			S	E	VPP	VPN
		Positivo	Negativo	Total				
VDRL	Positivo	1	0	1	100	100	100	100
	Negativo	0	84	84				
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>84</b>	<b>85</b>				

**Nota:** Significancia estadística según el Índice de Kappa de Cohen con un valor de 1,00 ( $p < 0,000$ ).

**Fuente:** Datos Inéditos, 2023.

**Tabla N°11. Desempeño de la RPR y concordancia con la Inmunocromatografía en estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

		Inmunocromatografía			S	E	VPP	VPN
		Positivo	Negativo	Total				
RPR	Positivo	1	0	1	100	100	100	100
	Negativo	0	84	84				
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>84</b>	<b>85</b>				

**Nota:** Significancia estadística según el Índice de Kappa de Cohen con un valor de 1,00 ( $p < 0,000$ ).

**Fuente:** Datos Inéditos, 2023.

Como se muestra en las Tablas N° 9, 10 y 11, para todas las pruebas la especificidad y el VPN fue del 100% respectivamente, con VDRL y RPR como ensayos de detección y la Inmunocromatografía como prueba de confirmación. Esto indica que todas las pruebas contrastadas poseen un 100% de probabilidad de obtener un resultado negativo, dada la ausencia de la enfermedad en la muestra en estudio. En cuanto al grado de acuerdo se determinó que hay significancia estadística ( $p < 0,000$ ) para un valor del índice de Kappa de Cohen de 1,00, indicando una concordancia “casi perfecta” entre las pruebas en estudio. En este sentido, no hubo diferencias en los rendimientos de todos los tests sujetos a comparación en la presente investigación.

## DISCUSIÓN

El diagnóstico de sífilis es llevado a cabo a través de técnicas treponémicas y no treponémicas, las primeras detectan los anticuerpos anti-treponémicos, mientras que las últimas ponen en evidencia la presencia de anticuerpos reagínicos (menos específicos), los cuales se forman contra los productos de la destrucción celular (cardiolipina, colesterol y lecitina)<sup>8,9</sup>. Dado que la sífilis es una Infección de Transmisión Sexual (ITS) de importancia a nivel mundial, se hace necesaria la aplicación de pruebas con alto rendimiento que puedan proporcionar resultados rápidos y confiables<sup>63</sup>.

En el presente estudio, se comparó el desempeño de las pruebas RPR, VDRL e IC, las cuales mostraron el mismo rendimiento al obtener una especificidad y un VPN del 100% para las tres pruebas. Dado que no se encontraron pacientes con sífilis activa, no se pudo determinar la sensibilidad ni el VPP de las mismas. Aunado a esto, el valor del índice de Kappa obtenido fue igual a 1,00, lo que describe una concordancia cualitativa casi perfecta entre las pruebas. Estas cifras permiten inferir que cualquiera de las tres pruebas pudiera usarse indistintamente para el cribado de sífilis en los laboratorios clínicos.

Un estudio publicado por Tuddenham en el año 2020, describió que los antígenos utilizados en la RPR parecen tener mayor sensibilidad que los del VDRL para detectar los anticuerpos reagínicos, sin importar la fase de la infección. Del mismo modo, la RPR reporta mejores valores en cuanto a la especificidad<sup>64</sup>. En conformidad a lo anteriormente expuesto, Solaimalai y cols., en el año 2020, reportaron valores de sensibilidad y especificidad para el VDRL de 71,6% y 89,5% y para la RPR de 73% y 90,5% respectivamente; además, describieron altas tasas de falsos positivos y falsos negativos para dichas pruebas. En este último aspecto, los investigadores refieren en contraposición al estudio anterior, que los falsos negativos pueden ser ocasionados por la fase en la que se encuentra la infección<sup>20</sup>.

Sin embargo, un estudio realizado por Versiani y cols., en el año 2019, reportó una especificidad del 100% tanto para el VDRL como para la RPR en LCR, lo que sugiere que, aunque la naturaleza de las muestras sea distinta a la usada en el presente estudio, ambas pruebas se comportan de la misma manera<sup>25</sup>. De igual forma, un estudio llevado a cabo por Satyaputra y cols., en el año 2021, demostró que las pruebas de inmunocromatografía que son utilizadas en los Centros de Atención presentan una especificidad entre el 93 y el 98%<sup>38</sup>. Ambas investigaciones muestran similitud con los valores obtenidos en esta investigación.

Por su parte, un estudio llevado a cabo por Goel y cols., en el año 2005, describió una correlación del 97% de los resultados negativos entre el VDRL y la IC<sup>65</sup>. Similar a lo reportado por Kashyap y cols., en el 2015, cuando al evaluar la IC como prueba para el cribado de sífilis antenatal en los Centros de Atención, la compararon con el VDRL obteniendo una especificidad y VPN para la IC de 100% y 99,45% respectivamente, así como un grado de concordancia del 99% entre ambas pruebas<sup>66</sup>. En este sentido, ambos estudios respaldan los hallazgos de la presente investigación.

Por otro lado, una investigación realizada en el año 2020 por Terzi y cols., la cual se basó en el estudio del rendimiento de cuatro tests serológicos para el diagnóstico de sífilis, incluyendo la IC y la RPR, arrojó para estas pruebas una especificidad del 99,5% y 98,8% respectivamente y un valor predictivo negativo del 100% en ambas pruebas. Los resultados anteriormente expuestos, sustentan los obtenidos en la presente investigación<sup>19</sup>.

En concordancia con lo anterior, en un estudio publicado en el año 2022 por Sato y cols., se compararon distintos tests treponémicos y no treponémicos para el diagnóstico de sífilis. Resaltó en esta investigación la comparación de 5 kits de RPR que incluían formatos manuales (test de tarjeta) y automatizados. Los investigadores encontraron una especificidad y sensibilidad en general para los kits de RPR de 81-96% y 95-100% respectivamente, así como un coeficiente de correlación de 0,849-0,934. El

mayor grado de discordancia lo presentaron los kits automatizados, debido a la falta de estandarización de los mismos. Además, consideraron como estándar de las pruebas no treponémicas al test de tarjeta. Los investigadores mencionaron que los falsos positivos, se reportaron en personas con enfermedades autoinmunes y en mujeres embarazadas<sup>67</sup>.

Hallazgos similares fueron expuestos por Tiwari y cols., en el año 2017, quienes evidenciaron rangos considerablemente aceptables al evaluar la especificidad y sensibilidad de la RPR y la IC para la detección de donantes de sangre sanos, obteniendo valores de especificidad de 90,8% para la IC y 95% para la RPR; aun cuando la especificidad de la IC fue menor que la de la RPR, esta presentó una mayor sensibilidad en la detección de donantes de sangre sanos<sup>22</sup>.

Por su parte, Montoya y cols., en el año 2006, compararon la IC con la RPR en el cribado de sífilis antenatal, las pruebas fueron realizadas en establecimientos de salud y en laboratorios de referencia. Los autores encontraron que la IC tiene un alto grado de concordancia con el *gold standard* que en este caso fue TPHA. No obstante, reportaron un bajo rendimiento de la RPR en cuanto a los parámetros de validez y seguridad, especialmente las realizadas en los establecimientos de salud. El bajo rendimiento de la RPR descrito por los autores, fue atribuido a que en los establecimientos de salud los procedimientos de laboratorio pudieron ser llevados a cabo de manera incorrecta, como es el uso de sangre completa, rotación deficiente en cuanto al tiempo y la técnica, así como el mal almacenamiento de los reactivos<sup>68</sup>. Lo anteriormente difiere de lo obtenido en la presente investigación considerando que en este caso el rendimiento de ambas pruebas fue el mismo.

Otro estudio realizado en donantes de sangre por Acharya y cols., en el 2019, reportó cifras de especificidad y VPN de 90,08% y 75,69% respectivamente para la IC. Cabe destacar que, los investigadores compararon esta técnica con otra prueba treponémica (TPHA) y utilizaron como *gold standard* a la FTA-Abs<sup>69</sup>. Por el contrario, los autores Oyinloye y

cols., en el año 2022 realizaron una investigación para evaluar la prevalencia de sífilis durante el embarazo, y obtuvieron valores de especificidad del 100% y VPN de 98,73% para la IC, lo cual difiere del estudio anterior y describe a esta prueba como idónea para su uso en centros de salud, respaldando los resultados obtenidos en esta investigación<sup>70</sup>.

Entre las pruebas no treponémicas descritas en el presente estudio, el VDRL es el principalmente utilizado de forma rutinaria en los laboratorios clínicos del país para el cribado de sífilis, esto motivado a que es relativamente de fácil aplicación y de bajo costo. Sin embargo, esta prueba necesita de personal altamente calificado para la interpretación de la lectura, ya que la misma es subjetiva y pudiera conllevar a que los analistas difieran para un mismo resultado, dando lugar a falsos positivos o falsos negativos<sup>15</sup>.

Otra opción disponible en el mercado dentro de los tests no treponémicos es la RPR, sin embargo, en Venezuela esta prueba es poco conocida y raramente empleada, aun cuando presenta amplios beneficios como su fácil ejecución y bajo costo. Aunado a esto, no se necesita visualizar su reacción a través del microscopio ya que contiene partículas de carbón marcado que facilitan la visualización macroscópica de la reacción, presentando dos categorías bien definidas de lectura: reactivo y no reactivo, no obstante, sigue siendo una prueba cuya interpretación depende de la experiencia del analista<sup>14</sup>.

Ahora bien, dentro de las pruebas treponémicas disponibles se encuentra la IC, la cual detecta anticuerpos producidos específicamente contra la bacteria *T. pallidum*. Son múltiples las ventajas que posee esta prueba, como la detección de sífilis en etapas en las que no se presentan manifestaciones clínicas. Otro beneficio, es que no se necesita el uso del microscopio, ni de un rotador y existen kits de IC en los cuales se admite el uso de sangre total, omitiendo así el uso de la centrífuga, esto hace posible la realización de esta prueba en laboratorios con recursos limitados. Además, su lectura es más

simple dado que solo amerita la visualización de la presencia o ausencia de la banda de color en la región del test, siempre y cuando la prueba sea válida<sup>16,17</sup>.

Uno de los usos más comunes e importantes de la IC es como prueba en los Centros de Atención para el cribado de sífilis, por la rapidez de sus resultados, que permite en la primera visita establecer un tratamiento inmediato. Esta ventaja coloca a la IC por encima de las pruebas no treponémicas debido a que un resultado positivo en estas pruebas, necesita obligatoriamente ser confirmado mediante pruebas treponémicas. A pesar de lo expuesto anteriormente, las pruebas no treponémicas son las que se utilizan para el seguimiento del tratamiento, ya que a través del aumento o disminución de los títulos se puede evaluar la respuesta al mismo<sup>38</sup>.

A pesar de que algunos autores han descrito una alta tasa de falsos positivos y falsos negativos para las pruebas no treponémicas, ese comportamiento no fue el observado en la presente investigación. Es necesario resaltar que los falsos positivos pueden presentarse en pacientes con enfermedades autoinmunes, con síndrome antifosfolípido, hiperlipidemia, mujeres embarazadas, personas adictas a las drogas, entre otras patologías. De igual forma, se pudiera disminuir su sensibilidad en las etapas primaria, latente y terciaria, así como en pacientes que han recibido tratamiento, dando lugar a los falsos negativos<sup>19,57</sup>.

Finalmente, tomando en cuenta lo anteriormente descrito, y a pesar de que en la muestra estudiada los parámetros de validez y seguridad de las tres pruebas no presentaron diferencias, la elección del test a emplear para el diagnóstico de sífilis pudiera basarse en las ventajas y desventajas que presenta cada técnica.

En el caso de las pruebas no treponémicas evaluadas en la presente investigación, resalta que son de bajo costo, relativamente sencillas, rápidas de realizar, y tienen alta especificidad, sin embargo, son más los beneficios aportados por la IC, ya que la lectura es fácil, rápida (10-15 minutos) y libre de subjetividad, tiene un costo apropiado, necesita de menos insumos de

laboratorio y puede llevarse a cabo fuera del mismo. Aunado a esto, tratándose de una prueba treponémica permite hacer el cribado y diagnóstico de sífilis de forma simultánea<sup>38</sup>.

## CONCLUSIONES

- El desempeño de las pruebas VDRL, RPR e IC utilizadas para el diagnóstico de sífilis en cuanto a los parámetros de validez y seguridad; Especificidad y Valor Predictivo Negativo, fue excelente.
- La concordancia entre las pruebas VDRL, RPR e IC utilizadas para el diagnóstico de sífilis fue casi perfecta.
- El VDRL y la RPR son la mejor alternativa para evaluar la actividad de la infección y hacer seguimiento del tratamiento indicado para la misma.
- El VDRL y la RPR pueden dar resultados falsos negativos en las fases primaria y latente de la infección.
- EL VDRL y la RPR pueden dar resultados falsos positivos en pacientes con enfermedades autoinmunes, mujeres embarazadas, hiperlipidemias, entre otros.
- La lectura del VDRL y la RPR amerita de una mayor experiencia por parte del personal de laboratorio ya que su interpretación es subjetiva.
- La IC es una alternativa confiable que puede utilizarse en los Centros de Atención para el diagnóstico de sífilis.
- La IC permite hacer el diagnóstico temprano de sífilis y poder establecer tratamiento oportuno.
- La IC fue la técnica más fácil y rápida de realizar, tiene un costo apropiado y amerita de menos equipos de laboratorio.

## **RECOMENDACIONES**

- Comparar las técnicas VDRL, RPR e IC empleando para ello un mayor número de muestras.
- Comparar las técnicas VDRL, RPR e IC en distintas poblaciones, incluyendo poblaciones de riesgo.
- Implementar el uso de la IC y la RPR como alternativas diagnósticas para el cribado de sífilis en los laboratorios clínicos del país.
- Orientar al personal de salud sobre la IC y la RPR como alternativas diagnósticas para el cribado de sífilis.
- Realizar más investigaciones en esta misma línea, que comparen estas y otras pruebas para el diagnóstico de sífilis.

## REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

1. Montiel M, Arias J, Chávez M, Herrera O, Atencio M, Coronel K, et al. Seroprevalencia de Sífilis en donantes del banco de sangre del Hospital Universitario de Maracaibo. Período 2012-2014. *Kasmera* 2016; 44(2): 88-96.
2. Newman L, Rowley J, Vander S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS ONE*. 2015; 10(12): 1-17.
3. Carrada T. El diagnóstico de laboratorio de la sífilis. *Rev Mex Patol Clin*. 2003; 50(2): 82-96.
4. Seña AC, White BL, Frederick P. Novel *Treponema pallidum* Serologic Tests: A Paradigm Shift in Syphilis Screening for the 21st Century. *CID*. 2010; 51: 700-708.
5. Sanguinetti-Díaz C. Pruebas de laboratorio en el diagnóstico de la sífilis. *Dermatol Peru*. 2000; 10: 1-9.
6. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. *Treponema*, *Borrelia* y *Leptospira*. En: Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA (eds). *Microbiología médica*. 7° ed. Barcelona: Elsevier España, S.L; 2014. p. 350-364.
7. Quattordio LE, Milani PL, Milani HL. Diagnóstico serológico de sífilis. Correlación de resultados según técnicas disponibles en el laboratorio. *Acta Bioquím Clín Latinoam*. 2004; 38(3): 301-306.
8. Morshed MG, Singh AE. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. *Clin Vaccine Immunol*. 2015; 22(2): 137-147.
9. Peeling RW, Mabey D, Kamb ML, Chen XS, Radolf JD, Benzaken AS. Syphilis. *Nat Rev Dis Primers*. 2017; 3: 1-21.
10. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Técnicas de laboratorio usadas con frecuencia en inmunología. En: Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S (eds.) *Inmunología celular y molecular*. 8° ed. Barcelona: Elsevier España, S.L; 2015. p. 505-518.

11. Hernández DF, Cabiedes J. Técnicas inmunológicas que apoyan el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. *Reumatol Clin*. 2010; 6(3): 173-177.
12. Pita S, Pértegas S. Pruebas diagnósticas: sensibilidad y especificidad. *Cad Aten Primaria*. 2003; 10: 120-124.
13. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 2: predictive values. *BMJ*. 1994; 309: 102.
14. Portnoy J, Brewer JH, Harris AD. Rapid plasma reagin card test for syphilis and other treponematoses. *Public Health Rep*. 1962; 77(8): 645-652.
15. Nayak S, Acharjya B. VDRL Test and its Interpretation. *Indian J Dermatol* 2012; 57(1): 3-8.
16. Verma A, Sachan D, Katharia R. *Evaluation of Various Techniques for Sero-Diagnosis of Syphilis in Blood Donors*. *IJISRT*. 2019; 4: 930-934.
17. Goza M, Kulwicki B, Akers J, Klepser M. Syphilis Screening: A Review of the Syphilis Health Check Rapid Immunochromatographic Test. *JPT*. 2017; 33(2): 53-59.
18. Santhi T, Jhansi S, Lavanya G, Raju TV, Guru P. Evaluation of MICRO-TPHA, VDRL and RPR tests in the serodiagnosis of syphilis. *J Evolution Med Dent Sci*. 2016; 5(31): 1606-1608.
19. Terzi H, Aydemir O, Karakece E, Hatipoglu H, Olmez M, Koroglu M, et al. Investigation of the rapid immunochromatographic test performance in the diagnosis of syphilis; comparison of four serological methods. *J Lab Med*. 2020; 44(4): 221-2216.
20. Solaimalai D, Rathore S, Beck M, Regi A, Yesudhasan B, Veeraraghavan B, et al. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) versus Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) and rapid plasma regain test (RPR) for screening of syphilis in pregnant women. *FIGO*. 2020; 150: 103-107.
21. Wang KD, Xu DJ, Su JR. Preferable procedure for the screening of syphilis in clinical laboratories in China. *Infectious Diseases*. 2015; 48(1): 26-31.

22. Tiwari AK, Acharya DP, Dara RC, Arora D, Aggarwal G, Rawat GS. Evaluation of nonspecific treponemal test rapid plasma reagin in comparison with specific treponemal test immunochromatographic assay for screening healthy blood donors. *Glog J Transfus Med AATM*. 2017; 2: 29-33.
23. Hernández R, Fernández C, Baptista M. *Metodología de la investigación*. 4 ed. México: Editorial McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A.; 2006. p. 45.
24. Hurtado J. *Metodología de la Investigación Holística*. 3ª ed. Caracas. Fundación Sypal; 2000. p. 132-136.
25. Versiani I, Cabral-Castro M, Puccioni-Sohler M. A comparison of nontreponemal tests in cerebrospinal fluid for neurosyphilis diagnosis: equivalent detection of specific antibodies. *Arq Neuropsiquiatr*. 2019; 77(2): 91-95.
26. Zhamungui EF, Herrera EC, Landázuri CR, Vinueza PA. Análisis de técnicas treponémicas y no treponémicas en el tamizaje serológico de sífilis. *Rev Cubana Hematol Hemoter*. 2017; 33(3): 1-11.
27. Patwardhan VV, Bhattar S, Bhalla P, Rawat D. Seroprevalence of syphilis by VDRL test and biological false positive reactions in different patient population in India. *Indian J Sex Transm Dis*. 2016; 37: 1-4.
28. Sing AE, Romanowski B. Syphilis: Review with emphasis on clinical, epidemiologic and some biologic features. *Clin Microbiol Rev*. 1999; 12(2): 187-209.
29. Macedo E. A hundred years ago, the discover of *Treponema pallidum*. *An Brass Dermatol*. 2005; 80(5): 547-548.
30. Harris A, Rosenberg AA, Riedel LM. A microfloculation test for syphilis using Cardioliipin Antigen, preliminary report. *Jour Ven Dis Inf*. 1946; 27(7): 169-174.
31. Andryukov B. Six decades of lateral flow immunoassay: from determining metabolic markers to diagnosing COVID-19 (Review). *AIMS Microbiology*. 2020; 6(3): 280-304.

32. O'Farrell B. Evolution in Lateral Flow–Based Immunoassay Systems. En: Wong RC, Tse HY (eds.). *Lateral Flow Immunoassay*. 1ra ed. Totowa, NJ: Humana Press; 2009. p. 1–33.
33. Kindt TJ, Goldsby RA, Osborne BA (eds). *Inmunología de Kuby*. 6a ed. Editorial Mc Graw Hill; 2007. p. 145-164.
34. Rubio F, García B, Romero R. Introducción al inmunoanálisis. En: Rubio F, García B, Romero R (eds.) *Técnicas de Inmunodiagnóstico*. 1º ed. Madrid: Paraninfo, S.A.; 2016. p. 99-103.
35. Altman DG, Bland JM. Diagnostic tests 1: sensitivity and specificity. *BMJ*. 1994; 308: 1552.
36. Cadavid D. *Spirochetal infections*. En: Roos KL, Tunkel AR (eds.) *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier; 2010. p. 186.
37. Kennedy EJ, Creighton ET. Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) Slide Test. En: Larsen SA, Pope V, Johnson RE, Kennedy EJ (eds.) *Manual of Tests for Syphilis*. 1998. p. 157-178.
38. Satyaputra F, Hendry S, Braddick M, Sivabalan P, Norton R. The Laboratory Diagnosis of Syphilis. *J Clin Microbiol*. 2021; 59(10): 1-11.
39. Schoch CL, et al. NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. Database (Oxford). 2020.
40. Giacani L, Lukehart S, Centurion-Lara A. Syphilis En: Barrett A, Stanberry L (eds). *Vaccines for Biodefense and Emerging and Neglected Disease*. 1a ed. Editorial Elsevier; 2009. p. 1193-1212.
41. Ryan KI, Ray CG (eds). *Sherris Microbiología Médica*. 5a ed. Editorial McGraw Hill; 2011. p. 1-793.
42. Eickhoff CA, Decker CF. Syphilis. *Dis Mon*. 2016; 8: 280-286.
43. Hook EW. Syphilis. *Lancet*. 2017; 389: 1550-1557.
44. Stamm LV. Syphilis: Re-emergence of an old foe. *Microbia cell*. 2016; 3(9): 363-370.
45. Kitayama K, Segura ER, Lake JE, Perez-Brumer AG, Oldenburg CE, et al. Syphilis in the Americas: a protocol for a systematic review of syphilis

- prevalence and incidence in four high-risk groups, 1980-2016. *Syst Rev.* 2017; 6(195): 1-7.
46. Spiteri G, Unemo M, Mardh O, Amato-Gauci A. The resurgence of syphilis in high-income countries in the 2000s: a focus on Europe. *Epidemiol Infect.* 2019; 147: 1-8.
47. Tripathy D, Gupta S, Vasudevan B. Resurgence of syphilis, the great imitator. *MJAFI.* 2022; 78: 131-135.
48. Ghanem K, Ram S, Rice P. The Modern Epidemic of Syphilis. *NEJM.* 2020; 382(9): 845-854.
49. Organización Mundial de la Salud. Infecciones de transmisión sexual [Internet]. 2021 [Citada: Mayo, 2023] Disponible en: <https://n9.cl/irfbj>.
50. Radolf JD, Deka RK, Anand A, Smajs D, Norgard M, Yang F. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen. *Nature.* 2016; 14: 744-759.
51. Cruz AR, Ramírez LG, Zuluaga AV, Pillay A, Abreu C, Valencia C, et al. Immune evasion and recognition of the syphilis spirochete in blood and skin of secondary syphilis patients: two immunologically distinct compartments. *PLoS.* 2012; 6(7): 1-18.
52. LaFond RE, Lukehart SA. Biological Basis for Syphilis. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19(1): 29-49.
53. Salazar JC, Hazlett KR, Radolf JD. The immune response to infection with *Treponema pallidum*, the stealth pathogen. *Microbes and Infec.* 2002; 4: 1133-1140.
54. Paz LE. *Treponema pallidum*: Estructura y Antigenicidad. *UCEBOL.* 2010; p. 1-3.
55. Liu H, Chen CY, Steiner B. New Tests for Syphilis: Rational Design of a PCR Method for Detection of *Treponema pallidum* in Clinical Specimens using Unique Regions of the DNA Polymerase I Gene. *J Clin Microbiol.* 2001, 39(5): 1941-1946.

56. Luo Y, Xie Y, Xiao Y. Laboratory Diagnostic Tools for Syphilis: Current Status and Future Prospects. *Front Cell Infect Microbiol.* 2021; 10: 1-12.
57. Ortiz D, Shukla M, Loeffelholz M. The Traditional or Reverse Algorithm for Diagnosis of Syphilis: Pros and Cons. *CID Journal.* 2020; 71(1): 43-51.
58. Park I, Fakile Y, Chow J, Gustafson K, Jost H, Schapiri J, et al. Performance of treponemal test for the diagnosis of syphilis. *Clin Infect Dis.* 2019; 68(6): 913-918.
59. Roitt I, Delves P, Martin S, Burton D (eds). *Inmunología.* 12a ed. Editorial Médica Panamericana; 2014. p. 1- 559.
60. Angel G. Angel M (eds). *Interpretación clínica del laboratorio.* 7° ed. Colombia: Editorial Medica LTDA; 2006. p. 1-670.
61. Coskun O. Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul.* 2016; 3(2): 156-160.
62. Dzantiev BB, Byzova NA, Urusov AE, Zherdev AV. Immunochromatographic methods in food analysis. *Trends Analyt Chem.* 2013.
63. Adamson et al. Point-of-care Testing for Sexually Transmitted Infections A Review of Recent Developments. *Arch Pathol Lab Med.* 2020; 144(11): 1344-1351.
64. Tuddenham S, Katz S, Ghanem K. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. *IDSA.* 2020; 71(1): S21- S42.
65. Goel N. Rapid Immunochromatographic Test for Syphilis. *IJMM.* 2015; 23(2):141-143.
66. Kashyap B, Sagar T, Kair I. Utility of immunochromatographic assay as a rapid point of care test for screening of antenatal syphilis. *Indian J Sex Transm Dis.* 2015; 36(2): 162-165.
67. Sato I, Nakamachi Y, Ohji G, Yano Y, Saegusa J. *Comparison of 17 serological treponemal and nontreponemal assays for syphilis: A retrospective cohort study.* *Pract Lab Med.* 2022; 32: 1-10.

68. Montoya P, Lukehart S, Brentlinger P, Blanco A, Floriano F, Sairosse J, et al. Comparison of the diagnostic accuracy of a rapid immunochromatographic test and the rapid plasma regain test for antenatal syphilis screening in Mozambique. *Bull World Health Organ.* 2006; 84(2): 97-104.
69. Acharya D, Tiwari A, Aggarwal G, Arora D, Dara R, Bhardwaj G, et al. Comparison of Conventional Immunochromatographic Assay with New Automated-*Treponema pallidum* Hemagglutination Assay for Screening of Syphilis in Blood Donors. *Glob J Transfus Med.* 2019; 4(2): 191-197.
70. Oyinloye O, Adeniyi A, Awoyinka B, Oyekale O, Adewara O, et al. Prevalence of Syphilis in Pregnancy using a Rapid Treponemal Specific Test in a Low Resource Setting. *Microbiol Infect Dis.* 2022; 6(4): 1-7.

## **ANEXOS**

## Anexo 1. Consentimiento Informado.



### CONSENTIMIENTO INFORMADO

**Título de la Investigación:** Diagnóstico de Sífilis a través de las técnicas Reagina Plasmática Rápida (RPR), *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) e Inmunocromatografía (IC) en estudiantes universitarios del área de la salud.

**Autoras:** Br. Angélica Elkhoury y Br. Aniesca Gutiérrez.

**Tutora:** Prof<sup>a</sup>. Rima Bahsas. Licenciada en Bioanálisis.

**Contacto:** angelicajosekhoury16@gmail.com / 0412-6699671

aniesca07@gmail.com / 0414-9717630

### **INFORMACIÓN REFERENTE A LA INVESTIGACIÓN:**

La Sífilis es una infección causada por la bacteria *Treponema pallidum* y por su alta prevalencia a nivel mundial se ha convertido en un grave problema de salud pública. Entre las alternativas diagnósticas de esta infección se incluyen los tests serológicos Treponémicos como la Inmunocromatografía y No Treponémicos como el VDRL y la RPR. El objetivo de esta investigación será comparar el desempeño de las técnicas mencionadas, en términos de Sensibilidad y Especificidad, para el diagnóstico de sífilis en estudiantes universitarios.

Si usted accede a participar en este estudio, se le tomará una muestra de sangre que será analizada para identificar su estado serológico con respecto a la Sífilis, a través de las tres técnicas. Su participación es completamente voluntaria. La información que se obtenga de las pruebas será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación. Su muestra será codificada usando un número de identificación y no podrá ser asociada con su nombre o cédula, por lo tanto, la identidad de las muestras será anónima.

Si tiene alguna duda sobre este estudio, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en el mismo.

**Beneficios de participar:** Las personas que así lo deseen obtendrán información certera de su estado serológico frente a esta infección de manera gratuita y confidencial.

---

### **FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO:**

Yo \_\_\_\_\_, titular de la Cédula de Identidad \_\_\_\_\_ he sido invitado(a) a participar en la investigación del diagnóstico de Sífilis a través de las técnicas RPR, VDRL e IC. Entiendo que se me tomará una muestra de sangre, la cual será analizada por las técnicas antes mencionadas.

Reconozco que la información que se obtenga es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio sin mi consentimiento.

He leído o me ha sido leída y explicada la información proporcionada, he tenido la oportunidad de preguntar sobre la investigación y me han sido respondidas satisfactoriamente las preguntas realizadas. Por lo tanto; **consiento voluntariamente participar en la investigación.**

\_\_\_\_\_  
Firma del Participante

\_\_\_\_\_  
Fecha

\_\_\_\_\_  
Firma de las Investigadoras

## Anexo 2. Ficha de Recolección de Datos.

<b>N° de Muestra:</b>	<b>Código de los Tubos</b>		<b>Edad:</b>	<b>Sexo:</b>
	Sangre Completa		<b>Procedencia:</b>	
			<b>Escuela/Facultad:</b>	
	Suero		<b>Semestre/Año que cursa:</b>	

## Anexo 3. Inserto de la Técnica RPR.

### Características funcionales

El reactivo RPR Rodelg fue evaluado por el proveedor de la siguiente manera:

Comparativo con reactivo RPR estándar y con reactivo VDRL control, se analizaron un total de 505 muestras de suero utilizando la técnica cualitativa, obteniéndose un 99% de concordancia entre el test RPR estándar y el RPR Rodelg, un 97,8% entre la técnica de VDRL y el RPR Rodelg y un 97,6% entre el test RPR estándar y la técnica de VDRL.

La sensibilidad de los 3 test no treponémicos, basada en la historia clínica de los individuos (52 casos confirmados de sífilis tratada y no tratada), fue de un 92,3% para ambos test de RPR y de un 88,5% para la técnica de VDRL. La especificidad de los 3 test no treponémicos, basada en 453 muestras de suero de individuos que presumiblemente no tenían sífilis, fue de un 99,3% para el RPR Rodelg, de un 99,6% para el test RPR estándar. Y de un 96,9% para la técnica de VDRL.

En el mismo estudio se analizaron 174 pares de sueros/plasma. La concordancia de los resultados obtenidos entre los sueros y plasmas fue de un 99,4% para el RPR Rodelg y de un 98,9% para el test RPR estándar. La sensibilidad y especificidad de ambos test de RPR con las muestras de plasma, fue de un 100% y de un 99,4% respectivamente.

Estos datos demuestran claramente que el RPR Rodelg tiene una adecuada sensibilidad y especificidad en relación con el diagnóstico clínico.

### Bibliografía

1. A manual of Tests for Syphilis. American Public Health Association. 9th edition, 1998
2. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. CDC/NIH manual, 4th edition, 1999.
3. Dorward BB and Myers AR. Comparison of rapid plasma reagin card test and venereal disease research laboratory test in the detection of biological false positive reactions insystemic lupus erythematosus. Brit J Vener Dis 50: 435-436, 1974.
4. Fischer GS, Kleger Band Colavita MT: Reactivity of Dade rapid plasma reagin card test low-titer sera. J Clin Microbiol 19: 435, 1984.
5. Paris-Hamelin A, Vaisman A et Fustec-Ibarboure S. Sérodiagnostique de la syphilis avec l'antigène "VDRL-Charbon". Feuilles de Biologie 15: 39-42, 1974
6. Perryman MW, Larsen SA, Hambie EA, Pettic DE, Mullalyrl and Wittington W. Evaluation of a new rapid plasma reagin card test as a screening test for syphilis. L Clin Microbiol 16:286-290, 1982
7. Portnoy J, Garson W and Smith CA. Rapid plasma reagin test for syphilis. public Health Rep. 72:761-766, 1957
8. Portnoy J, Modifications of the rapid plasma reagin (RPR) card test for syphilis, for use in large scale testing. Amer J Clin Phatol 40:473-479, 1963
9. Reed EL The rapid plasma reagin (Circle) card test for syphilis as a routine screening procedure. Public Health Lab 23:96-103, 1965
10. Reed EL. The combined use of the RPR card and FTA-Abs tests in the serodiagnosis of syphilis. Public Health Lab 26:123-134, 1968
11. Tiedermann JH and Mullins J. The RPR card test as a diagnostic aid in a venereal disease clinic. Public Health Lab 24: 12-15, 1966.
12. Walker AN. Rapid plasma reagin (RPR) card test: A screening method for treponemal disease. Brit J Venes Dis 47: 259-262, 1971.

IMPORTADO Y FABRICADO POR:

**RODELG**  
LABORATORIOS

Calle 49 No. 52 - 34 Tel.: 3177570 - 3177776 - 3187181  
rodelg\_laboratorios@hotmail.com [www.rodelg.com](http://www.rodelg.com)  
Barranquilla - Colombia

**RODELG**  
LABORATORIOS

**RPR**

Uso para Laboratorio Clínico y Bancos de sangre

**Test rápido para la detección cualitativa y cuantitativa de sífilis en suero o plasma**

### Sumario

El RPR Rodelg es un test no treponémico para el diagnóstico rápido de la sífilis. El antígeno RPR es una modificación del antígeno VDRL, que contiene algunos aditivos para eliminar la necesidad de inactivar el suero por calor, para aumentar la estabilidad de la suspensión y para facilitar la lectura visual de la reacción.

### Principio

El antígeno RPR es una suspensión cardioliopínica que contiene micropartículas de carbón. Este antígeno detecta a un anticuerpo, denominado "reagina", que se encuentra en el suero de los enfermos de sífilis. Cuando la muestra contiene reaginas, estas reaccionarán con el antígeno formando agregados que coagularán con las micropartículas de carbón formando grumos de color negro, de distinto tamaño dependiendo del título de la muestra. En caso negativo, la mezcla de reacción permanecerá inalterada, presentando un color gris homogéneo.

### Componentes

- Antígeno RPR:  
Cardiolipina 0.003%, Lecitina 0.020-0.22%, Colesterol 0.09%, EDTA 0.0125 M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.01M, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.01M, metolato sódico 0.1%, Cloruro de Colina 10% p/v, micropartículas de carbón 0.01% y agua destilada.
- Control Positivo:  
Suero animal o artificial con un título de reagina y conservante.
- Control Negativo:  
Suero artificial y conservante.

### Precauciones

RPR Rodelg es solo para utilización IN VITRO.

El control positivo contiene azida sódica como conservante. Las azidas pueden reaccionar con tuberías y desagües metálicos dando lugar a compuestos altamente explosivos. Al tirar los restos de reactivos, deje correr agua suficiente. Depositar todos los materiales usados en recipientes para material biocontaminante.

### Conservación

El antígeno y controles (deben almacenarse entre (2-8)°C. No congelar. Para transporte puede manejarse temperatura ambiente hasta 37°C (máximo 5 días) sin afectar su funcionalidad.

El antígeno una vez transferido al frasco de plástico y mantenido entre 2 y 8°C, es estable durante 3 meses siempre que antes no hubiese alcanzado la caducidad.

### Presentaciones disponibles

**COD. 106031011 Kit 50 test.**

Kit de antígeno por 50 pruebas, 1 control positivo, 1 control negativo, 1 inserto, 1 frasco dosificador, 1 lamina plástica reutilizable, 1 aguja dosificadora, 25 palillos

**COD. 106031131 Kit 150 test.**

Kit de antígeno por 150 pruebas, 1 control positivo, 1 control negativo, 1 inserto, 1 frasco dosificador, 2 laminas plásticas reutilizables, 1 aguja dosificadora, 50 palillos

**COD. 106031141 Kit 500 test.**

Kit de antígeno por 500 pruebas, 1 control positivo, 1 control negativo, 1 inserto, 1 frasco dosificador, 6 laminas plásticas reutilizables, 1 aguja dosificadora, 250 palillos

**COD. 106087291 Kit Controles.**

1 Control positivo, control negativo, 1 inserto.

### Material necesario no incluido

Agitador rotatorio que circunscriba un círculo de 2 cm, de diámetro en el plano horizontal (100 rpm), cronometro, solución salina (0,9% Na Cl, sólo para técnica cuantitativa), pipetas automáticas (sólo para técnicas cuantitativa), suero humano normal para diluir las muestras que den resultado positivo a la dilución 1:16 y lámpara de luz incandescente

### Recolección de la muestra

**SUERO:**

Usar suero fresco. Si la prueba no puede realizarse en el mismo día, el suero puede ser conservado durante 5 días entre 2 y 8 °C Si es por un periodo de tiempo más largo el suero debe ser congelado (-20°C).

**PLASMA:**

Recoger sangre en un tubo que contenga anticoagulante (EDTA). Otros anticoagulantes deben ser comprobados antes de utilizarse. Debe realizarse la prueba antes de transcurridas 48 horas de la extracción.

## PROCEDIMIENTO

### Preparación del antígeno:

- Agitar el frasco del antígeno para resuspenderlo. Debe evitarse una agitación violenta.
- Adaptar la aguja dosificadora al frasco dispensador y succionar la cantidad del antígeno que se considere necesaria.
- Cada vez que se rellene el frasco dispensador, anotar sobre éste el número de lote, fecha de caducidad y fecha en que se transvasa el antígeno.

### Control de calidad:

- Antes de realizar una serie de determinaciones es aconsejable controlar el antígeno RPR con los controles incluidos en el kit, siguiendo los pasos descritos para el TEST CUALITATIVO.
- El control positivo debe producir una clara agregación de las micropartículas de carbón. Si no se obtiene el resultado esperado, no utilice el kit.

### TEST CUALITATIVO

1. Dejar que los reactivos alcancen la temperatura ambiente (23-29°C).
2. Con la ayuda de un dosificador, depositar una gota de la muestra (o una gota de control) sobre uno de los círculos de la lamina. En caso de utilizar pipetas automáticas dosificar 50ul.
3. Con el palillo de mezclado extender la gota sobre toda la superficie del círculo y desechar el palillo.
4. Agitar el frasco dispensador del antígeno y manteniéndolo en posición vertical, dosificar algunas gotas de antígeno dentro del tapón del frasco dispensador hasta asegurarse de que la aguja esta libre de aire y que la gota obtenida es correcta. Dosificar entonces una gota de antígeno sobre cada uno de los círculos en que se hallen las muestras. No mezclar. Recuperar el antígeno de rapón.
5. Agitar la lamina por espacio de 8 minutos en un agitador rotatorio a 100 rpm.
6. Tomar la lamina y iadee tigramente para diferenciar mejor las muestras débilmente reactivas de las no reactivas, proceder a su lectura bajo luz intensa.
7. Una vez finalizada la prueba, limpiar la aguja con agua destilada, cerrar bien los frascos y mantenerlos entre 2 y 8 °C

### Interpretación de los resultados

**Positivo:** Agregados negros de carbón más o menos visibles sobre fondo ligeramente transparente.

**Negativo:** Suspensión gris homogénea o sólo ligera rugosidad

Algunas muestras pueden mostrar cierta rugosidad puntiforme sobre el borde exterior del círculo, manteniéndose homogéneo el centro del mismo. Una ligera agitación manual, ladeando ligeramente el portaobjetos, puede ayudar a distinguir dichas reacciones no específicas de las débilmente positivas.

### RPR test cualitativo en MICROPLACA (fondo plano)

Muestra 50ul.  
Antígeno 1 gota (17ul.)

-20 minutos d agitación

Leer macroscópicamente bajo una lámpara incandescente de luz intensa sobre una superficie blanca.

- En un agitador mecánico rotatorio que circunscriba un círculo de 2,0 - 2,5 cm. de diámetro en el plano horizontal. La velocidad de rotación recomendada es de 200± 50rpm

## TEST CUANTITATIVO

1. Dosificar 50 ul de solución salina en cada uno de los círculos 2 a 5 del portaobjetos.
2. Dosificar con una pipeta automática 50 ul de muestra en el círculo y 50 ul directamente sobre la gota de solución salina en el círculo 2
3. Con la misma pipeta aspirar y expulsar varias la muestra y la solución salina contenidas en el círculo 2 hasta lograr una buena mezcla.
4. Tomar 50 ul de la mezcla realizada en el círculo 2 y transferirlos al círculo 3.
5. Realizar las mismas operaciones descritas anteriormente para lograr la mezcla correcta de los reactivos hasta el círculo 5 y desechar entonces 50 ul.

Círculo	1	2	3	4	5
Salina ul	—	50	50	50	50
Muestra ul	50	50	—	—	—
Mezclar y transferir ul		↓ 50	↓ 50	↓ 50	↓ 50
Dilución	1:1	1:2	1:4	1:8	1:16

6. Comprobar cada dilución como está descrito en el apartado TEST CUALITATIVO.

### Interpretación de los resultados.

El título de la muestra de la dilución más alta que aun muestre un resultado claramente positivo.

Si la última dilución comprobada da un resultado positivo, la serie de diluciones debe prolongarse. Preparar una dilución 1:50 de un suero humano normal diluido en solución salina para utilizar como diluyente.

### Limitaciones del procedimiento.

Pueden obtenerse resultados falsos positivos principalmente en muestras de personas que abusan de las drogas, en enfermedades tales como la lepra, malaria, toxoplasmosis, mononucleosis infecciosa, lupus eritematoso, neumonía vírica y en el embarazo. Otras enfermedades treponémicas también pueden dar reacciones positivas.

Reacciones negativas en casos clínicamente evidentes de sífilis, pueden ocasionalmente verse en sífilis primarias tempranas, sífilis secundarias y en algunos casos de sífilis tardias.

No utilizar con líquido cefalorraquídeo.

### Valores previstos

El diagnóstico de sífilis no debe realizarse sin soporte de la historia clínica del paciente. Las muestras positivas deben titularse utilizando el test cuantitativo. Así mismo y como confirmación del diagnóstico, es aconsejable analizar las muestras positivas con técnicas específicas anti-treponémicas (syphagen TPHA y bioelisa syphilis).

Un resultado positivo puede indicar una infección pasada o presente pero, también puede ser un resultado falso positivo.

## Anexo 4. Inserto de la Técnica VDRL.



# V.D.R.L. test

Suspensión antigénica estabilizada para realizar la prueba VDRL modificada (USR) de detección de sífilis

### SIGNIFICACION CLINICA

La sífilis es una enfermedad venérea causada por el *Treponema pallidum*, que invade las mucosas intactas o la piel en áreas de abrasiones. El contacto sexual es la forma más común de transmisión.

La detección y tratamiento de la enfermedad en sus estadios tempranos es fundamental a fin de evitar complicaciones graves como sífilis cardiovascular, neurosífilis y sífilis congénita. El diagnóstico de esta enfermedad sufre la carencia de un método para cultivar el microorganismo en medios de laboratorio y la dificultad para detectarlo en estadios de la enfermedad en los que no se observan lesiones epidérmicas. Sin embargo, desde el comienzo de la infección aparecen en el suero del individuo infectado ciertas sustancias denominadas "reaginas", que reaccionan con antígenos de cardiopina, lecitina y colesterol. Estas reaginas junto a los signos clínicos son por lo tanto los procedimientos más rápidos y útiles disponibles para diagnóstico de sífilis.

### FUNDAMENTOS DEL METODO

Las "reaginas", presentes en individuos infectados por *T. pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiopínico purificado y estabilizado. 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 técnica USR (Unheated Serum Reagin) en la que no es necesario inactivar la muestra.

### REACTIVOS PROVISTOS

**A. Reactivo A:** suspensión acuosa de antígeno de cardiopina y lecitina purificados, en buffer fosfatos con cloruro de colina y EDTA de acuerdo a las indicaciones de la O.M.S.

**Control Positivo:** dilución de suero inactivado, reactivo.

**Control Negativo:** dilución de suero inactivado, no reactivo.

### REACTIVOS NO PROVISTOS

- Solución fisiológica (para la prueba semicuantitativa).
- Solución de cloruro de sodio 10 g/dl (para la técnica en líquido cefalorraquídeo).

### ESTABILIDAD E INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

**Reactivos Provistos:** estables en refrigerador (2-10°C) hasta la fecha de vencimiento indicada en la caja. No congelar.

### INSTRUCCIONES PARA SU USO

**Reactivo A:** listo para usar. Agitar antes de realizar la prueba.

**Control Positivo:** listo para usar.

**Control Negativo:** listo para usar.

### PRECAUCIONES

Los reactivos son para uso diagnóstico "in vitro".

Todas las muestras de pacientes deben manipularse como si fueran capaces de transmitir infección.

Los sueros controles han sido examinados para antígeno de superficie de hepatitis B (HBsAg), virus de la hepatitis C (HCV) y virus de inmunodeficiencia humana (HIV), encontrándose no reactivos. Sin embargo, deben ser empleados como si se tratara de material infectivo.

Utilizar los reactivos guardando las precauciones habituales de trabajo en el laboratorio de química clínica.

Todos los reactivos y las muestras deben descartarse de acuerdo a la normativa local vigente.

### MATERIAL REQUERIDO

#### 1- Provisto

- 1 gotero

#### 2- No Provisto

- Agitador rotativo ajustable a 180 rpm.
- Placa de vidrio transparente con sectores de 14 mm de diámetro cada uno.
- Micropipetas para medir los volúmenes indicados.
- Microscopio

### MUESTRA

Suero, plasma o líquido cefalorraquídeo (LCR)

**a) Recolección:** obtener de la manera usual. No inactivar.

**b) Aditivos:** no se requieren para suero o LCR. Si la prueba se realiza con plasma, éste puede obtenerse empleando heparina, EDTA u oxalato de sodio como anticoagulantes.

**c) Sustancias interferentes conocidas:** hemólisis o hiperlipemia pueden ocasionar resultados erróneos.

**d) Estabilidad e instrucciones de almacenamiento:** en caso de no procesarse de inmediato los sueros pueden conservarse hasta una semana en refrigerador (2-10°C). El plasma puede emplearse hasta 24 horas luego de la extracción.

### PROCEDIMIENTO

Tanto los reactivos como la muestra deben estar a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.

#### I- PRUEBA CUALITATIVA EN SUERO O PLASMA

En cada uno de los sectores marcados de la placa colocar:

<b>Muestra o Controles</b>	50 ul
Con gotero provisto colocar:	
<b>Reactivo A</b>	1 gota
Agitar horizontalmente la placa a 180 rpm durante 4 minutos. Observar inmediatamente en microscopio con poco aumento (60 a 100 X).	
II- PRUEBA SEMICUANTITATIVA EN SUERO O PLASMA Preparar diluciones de la muestra 1:2, 1:4, 1:8, 1:16 y 1:32 con solución fisiológica y realizar para cada dilución la prueba como se describe en I.	
III- PRUEBA CUALITATIVA PARA LCR Diluir el Reactivo A 1:2 con solución de cloruro de sodio 10 g/dl. Emplear dentro de las 2 horas de preparación. En cada sector delimitado de la placa colocar:	
<b>Muestra o Controles</b>	50 ul
Con aguja calibre 6 agregar:	
<b>Reactivo A diluido</b>	1 gota (10 ul)
Mezclar bien y agitar horizontalmente la placa durante 8 minutos a 180 rpm. Leer los resultados en microscopio con poco aumento (60 a 100 X).	

un dato auxiliar de diagnóstico que debe corroborarse con la historia clínica del paciente.

#### PERFORMANCE

Sobre 2140 muestras de un servicio hospitalario, ensayadas usando **V.D.R.L. test** e inmunofluorescencia como método de referencia, se observó una concordancia superior al 96%.

#### PRESENTACION

- 300 determinaciones (1 x 6,6 ml) (Cód. 1853153).
- 200 determinaciones (1 x 4,5 ml) (Cód. 1853155).

#### BIBLIOGRAFIA

- Zinsser Microbiología, Joklik W., Willett H. y Amos D., 17ª edición Editorial Médica Panamericana, 1983.
- Manual of Tests for Syphilis, cap. 8 - American Public Health Association, Washington, D.C 20005, 1990.
- Podestá, D.; Svetaz, M.J.; Ricomi, R.; Capriotti, G.; Rojkin, L.; Lorenzo, L.; "Evaluación de tres reactivos para detección de sífilis" - VIII Congreso Argentino de Bioquímica, 54º Triduo Bioquímico Científico Anual 1990 - Revista A.B.A. 54/3, 1990.

#### INTERPRETACION DE LOS RESULTADOS

**Reactivo:** presencia de floculación.

**No reactivo:** ausencia completa de floculación.

**Prueba semicuantitativa:** el título estará dado por la inversa de la última dilución que se observe reactiva. Leer atentamente las LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO.

#### METODO DE CONTROL DE CALIDAD

Para controlar la calidad del sistema procesar los Controles provistos o un Control Positivo (suero seguramente reactivo) y un Control Negativo (suero seguramente no reactivo) utilizándolos de la misma forma que las muestras.

#### LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Resultados falsamente positivos pueden ser observados en individuos con cuadros patológicos diversos como hepatitis, influenza, brucelosis, lepra, malaria, asma, tuberculosis, cáncer, diabetes y enfermedades autoinmunes. Estos casos no son muy comunes y generalmente presentan reacciones con títulos bajos y una historia clínica que no coincide con las características de sífilis.

Es imprescindible por estos motivos ante toda prueba cualitativa reactiva realizar la prueba semicuantitativa.

Resultados falsamente negativos pueden observarse cuando se presenta el fenómeno de prozona. Por este motivo se recomienda repetir la prueba en suero diluido 1:5 con solución fisiológica para verificar el resultado. Si en estas condiciones se observa floculación la muestra es reactiva.

A pesar de las ventajas de este método, sus resultados al igual que los de cualquier prueba serológica, sólo constituyen

## Anexo 5. Inserto de la Técnica IC.

### One Step strip Style ANTI-TP Rapid Screen Test

#### Introducción

One Step ANTI-TP Rapid Screen Test es un inmunoensayo cromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos anti TP en suero humano. En la banda de prueba se utilizan dos antígenos recombinantes purificados de TP como materiales de captura y conjugados de oro. Si el anticuerpo Anti-TP está presente en la muestra en concentración superior a la marcada, se formará un complejo. Este complejo luego es capturado por los antígenos inmovilizados en la Zona de Prueba de la membrana, produciendo una banda visible de color rosa-rosa en la membrana. La intensidad del color dependerá de la concentración de los anticuerpos anti-TP presentes en la muestra. Esta prueba de un solo paso es muy sensible y sólo tarda unos 15 minutos. Los resultados de la prueba se leen visualmente sin ningún instrumento.

#### Recolección de muestras

Para el suero, recolecte la sangre en un tubo sin anticoagulante. Si la muestra no puede analizarse el mismo día de la recolección, guárdela en un refrigerador o congelador. Llevar las muestras a temperatura ambiente antes de realizar la prueba.

#### Procedimiento de la prueba

1. Para comenzar la prueba, abra la bolsa sellada rasgándola a lo largo de la muesca. Saque la prueba de la bolsa.
2. Sumerja la tira en la muestra con el extremo de la flecha apuntando hacia la muestra. No sumerja más allá de la línea MAX (máximo). Saque la tira después de 8-10 segundos y colóquela plana sobre una superficie limpia, seca y no absorbente.



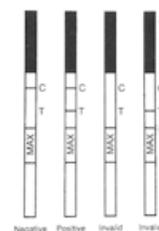
3. Espere a que aparezcan las bandas de color. Lea los resultados en 10-15 minutos. No leer los resultados después de 20 minutos.

#### Interpretación de los resultados

**Negativo:** Sólo aparece una banda de color en la región de control. No aparece ninguna banda en la región de prueba. Esto indica que no hay anticuerpos anti-TP detectables en el suero.

**Positivo:** Aparecen bandas de color distintas en el control y en la región de prueba. Tanto la línea de prueba como la de control indican que la muestra contiene una cantidad detectable de anticuerpos anti-TP.

**Inválido:** No aparece ninguna banda visible o sólo aparece una banda de color en la región de prueba, esto es una indicación de un posible error en la realización de la prueba. La prueba debe repetirse utilizando un nuevo dispositivo.



#### Precaución

1. Debe utilizar muestras frescas y evitar la congelación repetitiva, el resultado no será válido.
2. Utilizarla antes de la fecha de vencimiento.
3. El paquete del kit no debe abrirse hasta que alcance la temperatura ambiente si se saca del refrigerador.
4. No se puede utilizar suero viejo. Si el suero es espeso, sólo puede utilizarse después de separarlo.

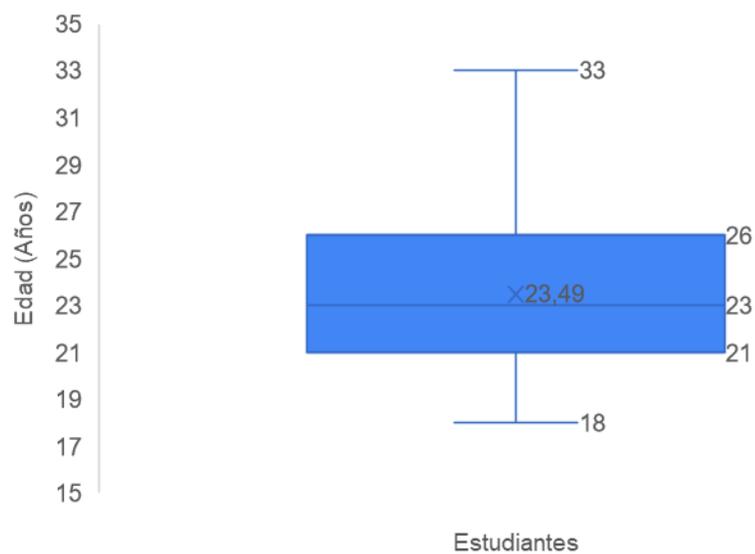
#### Limitaciones

1. La prueba es sólo para uso diagnóstico in vitro.
2. El test es de detección cualitativa por filtro, no puede ser usado como test final para donante de sangre.

#### Almacenamiento y estabilidad

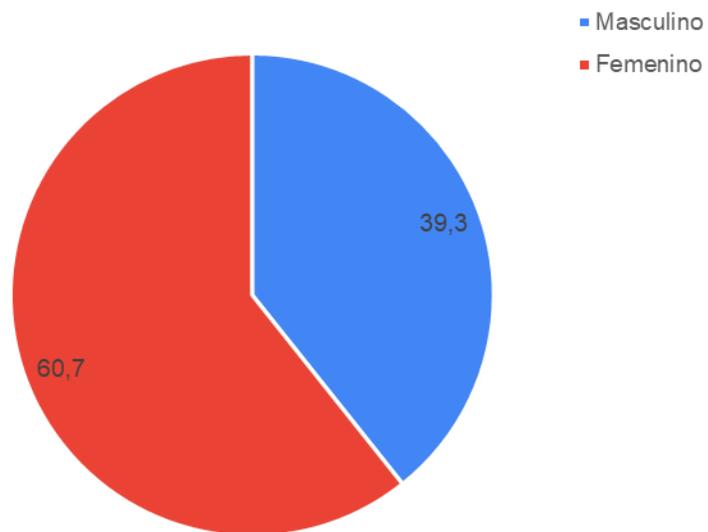
El kit de prueba puede almacenarse a temperatura ambiente (2 a 30°C) en la bolsa sellada hasta la fecha de caducidad. El kit de prueba debe mantenerse alejado de la luz solar directa, la humedad y el calor.

**Anexo 6. Datos Sociodemográficos representados en gráficos:**



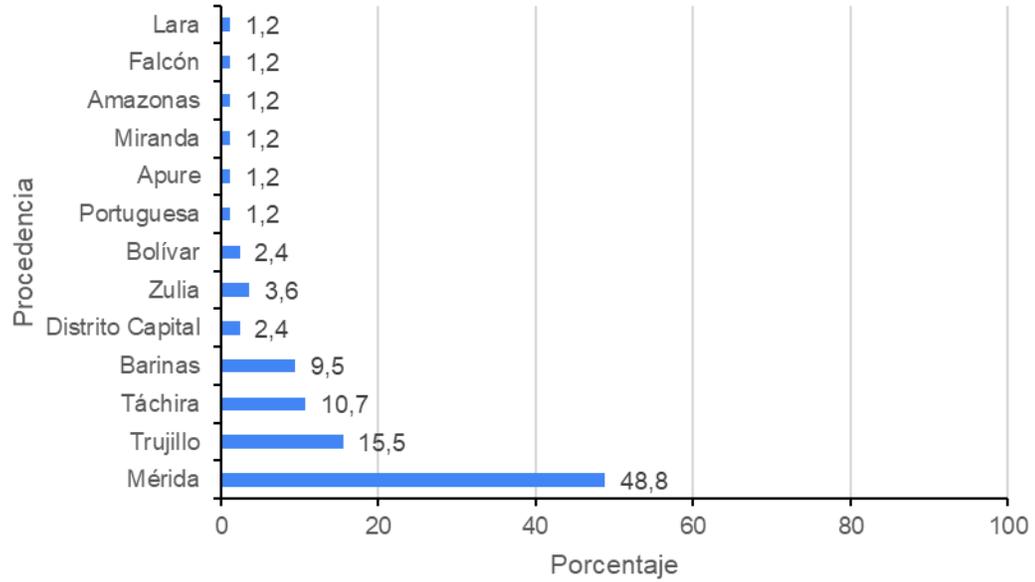
**Gráfico N°1. Edad en años de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina en el año 2023.**

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.



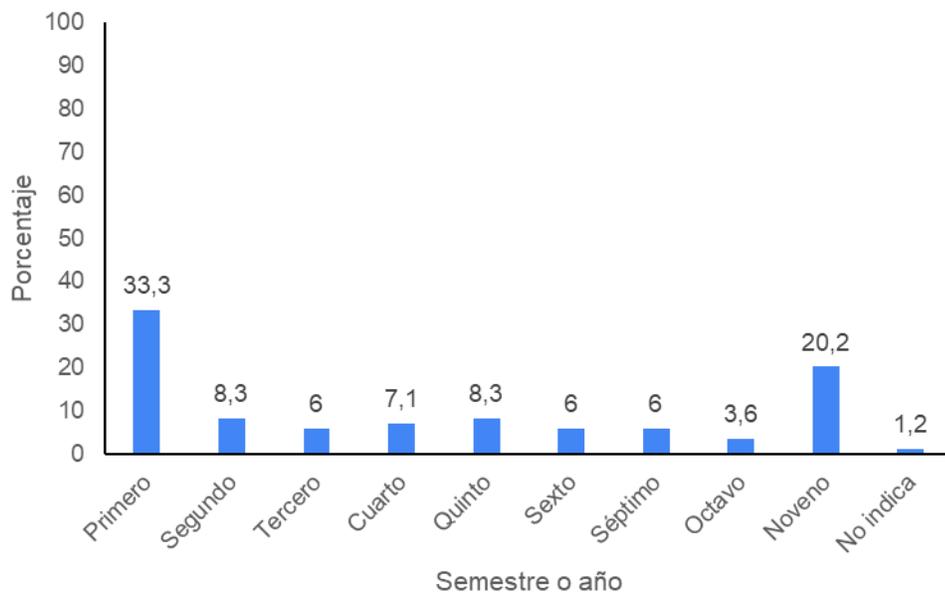
**Gráfico N°2. Sexo en porcentaje de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.



**Gráfico N°3. Procedencia en porcentaje de los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.



**Gráfico N°4. Semestre o año en porcentaje que cursan los estudiantes de las Escuelas de Bioanálisis, Farmacia y Medicina de la Universidad de Los Andes en el año 2023**

**Fuente:** Ficha de Recolección de Datos, 2023.