



Comparación Entre Algoritmo Directo Y Reverso Para El Cribado De Sífilis En El Laboratorio Central

“Dra. Francisca Cledi Luna De Bolsi”, Resistencia – Chaco.

Tourn, E.¹; Grinberg, A.E.².

¹*Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura Universidad Nacional del Nordeste*

²*LABORATORIO CENTRAL “Dra. Francisca Cledi Luna de Bolsi”, Resistencia – Chaco. Bioquímico Área Serología*

Resumen

La sífilis sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo; la precisión de las pruebas de diagnóstico es fundamental para el éxito de su control. Dentro de los principales elementos para la eliminación de la sífilis congénita está la detección sistemática y oportuna. Dado que existen pruebas diagnósticas con nuevas propuestas de algoritmos diagnósticos para la detección y tratamiento oportunos de la sífilis, así como los escenarios en los cuales estos algoritmos pueden ser aplicados para de esta forma establecer las líneas de abordaje a través de una orientación regional que permita establecer las estrategias diagnósticas más adecuadas a su entorno y que permita la captación de casos, el diagnóstico y tratamiento oportuno no solamente del grupo de mujeres embarazadas sino también otros grupos de riesgo y así disminuir la diseminación de la enfermedad. Actualmente, hay dos enfoques para el diagnóstico serológico de la sífilis: el algoritmo tradicional y el algoritmo reverso.

Objetivo: Comparar los resultados según costo/beneficio e interpretación de la aplicación del algoritmo directo y reverso en el cribado de sífilis en los pacientes ambulatorios registrados en el Laboratorio Central “Dra. Francisca Cledi Luna de Bolsi” Resistencia Chaco, en el período de marzo a

diciembre 2020.

Materiales y Métodos: Se realizó un estudio observacional descriptivo analizando 821 sueros reactivos en el cribado sobre un total de 6439 solicitudes médicas de serología para sífilis y sus antecedentes en la base de datos utilizada por el laboratorio. Se realizó los ensayos ARCHITECT Syphilis TP, V.D.R.L. y TPPA utilizados para cada algoritmo y se calculó el índice de correlación de Cohen o índice kappa (κ) entre ellos.

Resultados: De 6439 solicitudes de serología para sífilis en el periodo estudiado, se trabajó a partir de 821 sueros reactivos por ARCHITECT Syphilis TP, siendo el mayor porcentaje en el sexo femenino 76,9% (n=631) de las cuales las embarazadas representaron 38,5% (n=243) distribuidas entre 11 y 15 años y 41 a 45 años, 650 fueron reactivos y 171 no reactivos con V.D.R.L., éstos últimos resultaron reactivos por TPPA. Mediante la utilización del algoritmo directo o tradicional se obtuvieron 650 serodiagnósticos positivos, y por algoritmo reverso 821 y el índice de concordancia entre ellos fue de 0,869 con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%). Por medio del algoritmo directo o tradicional se obtuvieron 130 sueros no reactivos sin antecedentes, de los cuales 48 pertenecen a mujeres embarazadas y por algoritmo reverso se obtuvieron 581 sueros reactivos de pacientes sin antecedentes de infección por sífilis.

Se evaluó el costo requerido para aplicar cada algoritmo al total de sueros estudiados (n=821), sin considerar a las utilizadas inicialmente (n=6439) cuyo valor se incrementaría 3,5 veces por algoritmo reverso.

Conclusiones: El algoritmo reverso captó 130 pacientes seropositivos de los cuales 49 eran embarazadas que no podrían haberse diagnosticado en forma temprana mediante el algoritmo tradicional, lo cual implica potencial infección congénita con costo elevado a largo plazo para el sistema de salud.

Palabras clave: *Treponema pallidum*, Diagnóstico, Costo beneficio

Introducción

La sífilis, enfermedad infectocontagiosa causada por la espiroqueta *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*, es una enfermedad venérea de presentación variada y compleja. Puede ser transmitida por medio de unas pocas vías: contacto sexual, introducción directa en el aparato vascular por medio de agujas compartidas y transfusiones infectadas o transferencia transplacentaria de espiroquetas. Tiene un periodo de incubación aproximado de 2 a 3 semanas y con un rango entre 10 y 90 días (Koneman E W, 2001).

La sífilis sigue siendo un problema de salud pública en todo el mundo; la precisión de las pruebas de diagnóstico es fundamental para el éxito de su control. Dentro de los principales elementos para la eliminación de la sífilis congénita está la detección sistemática y oportuna. Dado que existen pruebas diagnósticas con nuevas propuestas de algoritmos diagnósticos para la detección y tratamiento oportunos de la Sífilis, así como los escenarios en los cuales estos algoritmos pueden ser aplicados para de esta forma establecer las líneas de abordaje a través de una orientación regional que permita establecer las estrategias diagnósticas más adecuadas a su entorno y que permita la captación de casos, el diagnóstico y tratamiento oportuno no solamente del grupo de mujeres embarazadas sino también otros grupos de riesgo y así disminuir la diseminación de la enfermedad.

La enfermedad clínica se dividió en una serie de estadios clínicos sintomáticos secuenciales, separados por períodos de infección latente: período de incubación, primario, secundario, tardío o terciario y sífilis congénita cuando la transmisión es vertical (Koneman E W, 2001).

Una de las metas fijadas por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Organización Panamericana de la Salud (OPS) para América Latina y el Caribe fueron la reducción de la incidencia de sífilis congénita a 0,5 casos o menos (incluidos mortinatos) por 1.000 nacidos vivos. Para lograrlo es esencial realizar las pruebas para detectar la infección a todas las mujeres al comienzo del embarazo y tratar sin demora a las mujeres infectadas. Los principales elementos de la secuencia en cadena para la

eliminación de la sífilis congénita son: prevención de la infección de sífilis en la población general, detección sistemática y oportuna de la sífilis y tratamiento de las embarazadas; tratamiento inmediato de las embarazadas seropositivas para la sífilis y de aquellos con los que mantienen contactos sexuales.

En el diagnóstico clínico es necesario el uso de adecuados métodos de laboratorio y la interpretación de los resultados en base a la historia clínica del paciente y el examen físico. *Treponema pallidum* no puede ser cultivado *in vitro* por lo que se han desarrollado varias técnicas diagnósticas, directas e indirectas, no existiendo aún un único ensayo para el diagnóstico.

Los métodos directos, incluyen microscopía de campo oscuro en muestras de fluidos o frotis de lesiones, análisis con anticuerpos fluorescentes en muestras de lesiones o secciones de tejidos y reacción de polimerasa en cadena (PCR). Estas pruebas proveen un diagnóstico de certeza, independientemente que la serología pueda ser negativa si las lesiones son muy recientes, pero un resultado negativo no descarta la sífilis, debido a que la presencia de *T. pallidum* en lesiones puede afectarse por varias causas.

El diagnóstico indirecto se basa en técnicas inmunológicas para la detección de anticuerpos, no existiendo aún un método Gold Standard universalmente aceptado. Consisten en la detección de anticuerpos generados en el organismo como respuesta a la infección, obtenidos a partir de una muestra de sangre del paciente, y que aportan un diagnóstico de presunción de sífilis. Existen dos tipos:

Pruebas no treponémicas (PNT): Miden anticuerpos anti-fosfolípidicos totales formados por el hospedero en respuesta a los lípidos de las superficies celulares de los treponemas (reaginas sifilíticas) y utilizan como antígenos una mezcla de cardiolipinas, lecitina y colesterol; por lo que no son anticuerpos específicos de sífilis, entre éstos encontramos los ensayos serológicos basados en la reacción de Wassermann, como la reacción de reagina plasmática rápida (RPR), Laboratorio de Investigación de Enfermedades Venéreas (V.D.R.L.) y V.D.R.L. modificado o reagina sérica sin calentar (USR). Según la Sociedad Argentina de Urología, el antígeno más utilizado es el de la USR, aunque es comúnmente llamado VDRL y es la única prueba validada, hasta el presente, para ser utilizada en LCR. Los títulos

tienden a aumentar progresivamente desde el inicio de la infección, alcanzan los títulos más elevados en las formas secundaria y latente temprana, y disminuyen lentamente con el tiempo, incluso sin tratamiento, aunque este descenso suele ser mayor y más rápido en los pacientes que lo reciben.

Pruebas treponémicas (PT): Detectan anticuerpos específicos frente al treponema, se emplean: absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-Abs) y ensayos de microhemaglutinación y aglutinación de partículas para *T. pallidum* (MHA-TP; TPPA) (Ratnam, 2005).

Tradicionalmente se utiliza el algoritmo directo, el cual inicia con métodos no treponémicos en el cribado y los treponémicos como confirmatorios (**Figura 1**).

Los enzimoimmunoanálisis (EIA) y los inmunoanálisis quimioluminiscentes (CLIA) totalmente automatizados, proporcionan trazabilidad de las muestras y objetividad del resultado constituyendo la base para establecer el algoritmo reverso, en el cual las muestras son analizadas con un ensayo treponémico seguido de un análisis de los sueros reactivos con un ensayo no treponémico (**Figura 2**).

Para la correcta interpretación de los resultados es preciso conocer si hay antecedentes personales de sífilis tratada en el paciente. En caso de que no existiera ningún episodio de infección anteriormente tratada, cualquier resultado reactivo en estas pruebas debe considerarse positivo para infección por sífilis y, por lo tanto, evaluada y tratada en función del estadio en que se encuentre.

La base de datos utilizada fue cobas[®] infinity IT solutions v.1.2.43.3000, una aplicación web que permite la integración del flujo de datos del laboratorio desde el ingreso del paciente hasta la emisión del informe final, en el cual quedan registrados todos los antecedentes de todas las determinaciones que brinda el laboratorio.



Figura 1. Algoritmo directo o tradicional. Center of Disease Control and Prevention. CDC

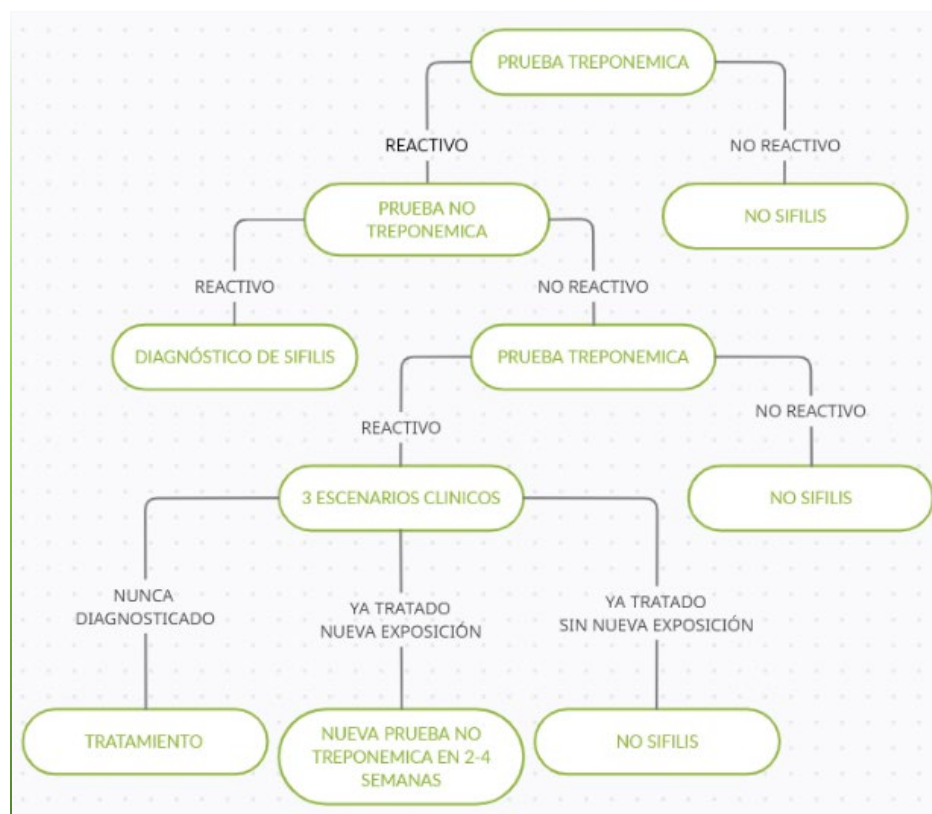


Figura 2. Algoritmo reverso o inverso. Center of Disease Control and Prevention. CDC

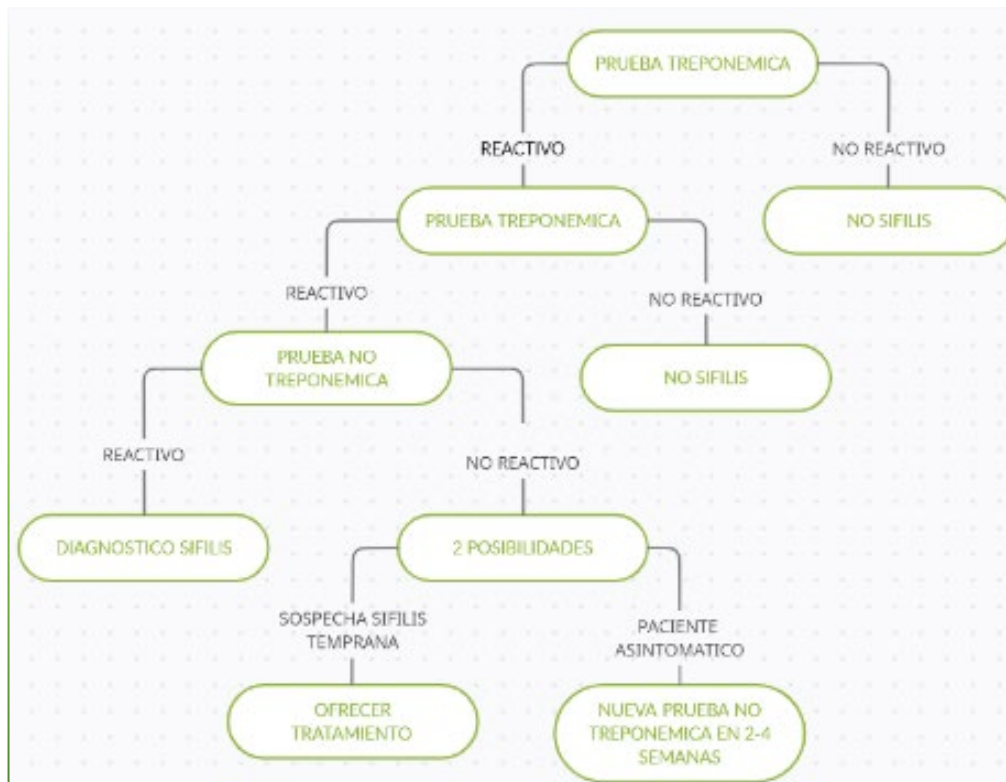


Figura 3. Algoritmo reverso según European Center of Disease Prevention and Control. ECDC

La OPS y el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) continúan recomendando el algoritmo tradicional con cribado no treponémico; sin embargo, el CDC estableció recomendaciones para los laboratorios que utilicen el algoritmo reverso tales como una evaluación de los factores de riesgo sexual y el historial médico del paciente, especialmente el historial de tratamiento previo para la sífilis. Como así también un examen físico para evaluar si hay evidencia de sífilis, especialmente enfermedad primaria.

El cribado reverso con ensayos treponémicos consecutivos es recomendado por el Centro para el Control y Prevención de Enfermedades Europeo (ECDC) (**Figura 3**). Éste se prescindirá en este estudio debido a que el porcentaje global de concordancia y el valor de κ entre los algoritmos inversos del CDC y ECDC fueron del 99,9% y 0,996, respectivamente (Man-Li Tong, 2014).

Finalmente, conociendo que durante los últimos años, en Argentina se ha observado una tasa de

sífilis de 51,1 c/100.000 habitantes y una tasa de sífilis congénita de 1,5 c/1.000 nacidos vivos y particularmente en la provincia de Chaco de 40,6 c/100.000 habitantes y sífilis congénita de 1,0 c/1.000 nacidos vivos (Boletín sobre el VIH, sida e ITS, 2019), es importante establecer las estrategias diagnósticas más adecuadas al entorno, que permitan mayor captación de casos y tratamiento oportuno.

Materiales Y Métodos

Desde marzo a diciembre de 2020 en el Laboratorio Central “Dra. Francisca Cledi Luna de Bolsi” Resistencia, Chaco se recibió 6.439 solicitudes para estudio de serología para sífilis en pacientes ambulatorios con la hipótesis de probable infección activa, seguimiento terapéutico y control durante el embarazo. Se realizó un estudio de corte transversal, observacional.

Requerimientos pre-analíticos: Las muestras de sangre procesadas habitualmente en el Laboratorio Central provinieron de centros de salud periféricos del Gran Resistencia (Resistencia, Comandante Fontana, Puerto Barranqueras y Puerto Vilelas) e interior provincial.

La obtención de las muestras de sangre de los pacientes ambulatorios se realizó aplicando los protocolos de prevención y bioseguridad en el contexto de pandemia. Se practicó venopunción en horario matutino de 06:00hs a 10:00hs. en ayuno de ocho horas. Los datos filiatorios se registraron en la base de datos cobas[®] infinity IT solutions 1.2.43.3000 la cual le asignó un número de protocolo único de seguimiento. Las muestras de sangre se mantuvieron en tubos con gel separador a temperatura ambiente durante 30 minutos para obtener la retracción del coágulo y se centrifugaron durante 15 minutos a 3.000 rpm para la separación del suero.

Cribado treponémico: Se realizó con el ensayo ARCHITECT Syphilis TP (Abbott, Alemania) ©, el cual es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa de anticuerpos frente a *T. pallidum* empleando antígenos recombinantes (TpN15, TpN17 y TpN47). El ensayo compara la señal de la muestra y el punto de corte (S/CO) interpretando los valores S/CO ≥ 1 como reactivos.

Los sueros reactivos fueron posteriormente analizados con la PNT V.D.R.L. modificado (Wiener Lab., Argentina); también llamado reagina sérica sin calentar (USR); las reagentes sífilíticas presentes en individuos infectados se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reagina, ésta se unirá al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio óptico. Se utilizó este método empleando un *pool* de sueros reactivos de título 2 USR (Reagina Sérica sin calentar) y un *pool* de sueros no reactivos, como controles positivo y negativo, respectivamente.

Los sueros de los pacientes que resultaron no reactivos por PNT, fueron analizados con la técnica TPPA según indica el algoritmo reverso (**Figura 2**). Ésta es una prueba de aglutinación de partículas de gelatina recubiertas con *T. pallidum* patógeno purificado (cepa de Nichols). Éstas partículas de gelatina recubiertas se aglutinan en presencia de anticuerpos contra *T. pallidum* en suero o plasma humano.

El algoritmo directo se analizó a partir de los resultados de las PNT obtenidos y luego confirmados por la prueba treponémica TPPA según indica el algoritmo (**Figura 1**).

Control de calidad: Para el ensayo ARCHITECT Syphilis TP se procesó según recomendaciones del fabricante, una muestra única de control reactivo y no reactivo cada día de su uso y para cada lote de reactivos. El control de calidad externo se realizó trimestralmente con el Programa de Evaluación Externa de Calidad (PEEC) de la Fundación Bioquímica Argentina (FBA) obteniendo resultados aceptables en el período evaluado.

Análisis de resultados: Se utilizó la base de datos cobas[®] infinity it solutions 1.2.43.3000 del laboratorio que integra resultados actuales y antecedentes. Todos los datos fueron procesados protegiendo la identidad de los pacientes.

Para el análisis, interpretación y procesamiento de los resultados se volcó los datos a una planilla de cálculo de Microsoft Excel v.2016.

Como parámetro estadístico se calculó mediante una calculadora online el índice κ de concordancia

de Cohen a fin de evaluar las concordancias y discrepancias entre los algoritmos directo y reverso con un IC 95%. La fuerza de concordancia de los resultados según sus valores de κ se clasificaron como pobre ($\kappa < 0.20$); débil ($0.21 < \kappa < 0.40$); moderada ($0.41 < \kappa < 0.60$); buena ($0.61 < \kappa < 0.80$) y muy buena ($0.81 < \kappa < 1.00$) (<https://www.bioestadistica.uma.es/analisis/>).

Resultados

Del total de 6.439 solicitudes recibidas, predominó el sexo femenino 83,8% (n=5394) distribuidos de 0 a 71 años y más (**Tabla 1**).

Tabla 1

*Distribución etárea de la población de estudio
según sexo*

Edad	Femenino	Masculino	Total
0 a 5	15	16	31
6 a 10	22	12	34
11 a 15	90	41	131
16 a 20	801	139	940
21 a 25	1389	189	1578
26 a 30	1344	141	1485
31 a 35	746	106	852
36 a 40	441	98	539
41 a 45	253	86	339
46 a 50	100	40	140
51 a 55	87	50	137
56 a 60	59	72	131
61 a 65	33	38	71
66 a 70	7	10	17
71 y mas	7	7	14
Total	5394	1045	6439

Del total estudiado, se obtuvieron 821 sueros reactivos por el método quimioluminiscente de cribado, siendo el mayor porcentaje en el sexo femenino 76,9% (n=631) de las cuales las embarazadas representaron 38,5% (n=243) distribuidas entre 11 y 15 años y 41 a 45 años (**Tabla 2**).

Tabla 2

Distribución etaria y sexo de los casos reactivos por quimioluminiscencia

Edad	Femenino			Masculino	Total
	No Emb.	Emb.	Total		
0 a 5	2	0	2	0	2
6 a 10	0	0	0	0	0
11 a 15	5	7	12	3	15
16 a 20	69	54	123	29	152
21 a 25	114	86	200	46	246
26 a 30	79	58	137	32	169
31 a 35	42	24	66	19	85
36 a 40	25	12	37	10	47
41 a 45	19	2	21	19	40
46 a 50	11	0	11	7	18
51 a 55	11	0	11	9	20
56 a 60	2	0	2	6	8
61 a 65	9	0	9	8	17
66 a 70	0	0	0	1	1
71 y mas	0	0	0	1	1
Total	388	243	631	190	821

Ref.: No Emb.: No embarazada, Emb.: Embarazada

La media de edad de la población resultó 26 años, con el 97,9% (n=804) de adultos, considerando menores de edad a los menores de 16 años (2,1%).

En la **Figura 4** se observa el esquema comparativo de los algoritmos tradicional y reverso de los 821 sueros estudiados.

Mediante la utilización del algoritmo directo o tradicional se obtuvieron 650 serodiagnósticos positivos de los 821 sueros analizados inicialmente por VDRL y confirmados con TPPA.

Por algoritmo reverso, de los 821 sueros reactivos por ARCHITECT Syphilis TP se obtuvieron por VDRL 650 sueros reactivos y 171 no reactivos, éstos se analizaron con una segunda PT (TPPA) dando 171 sueros reactivos.

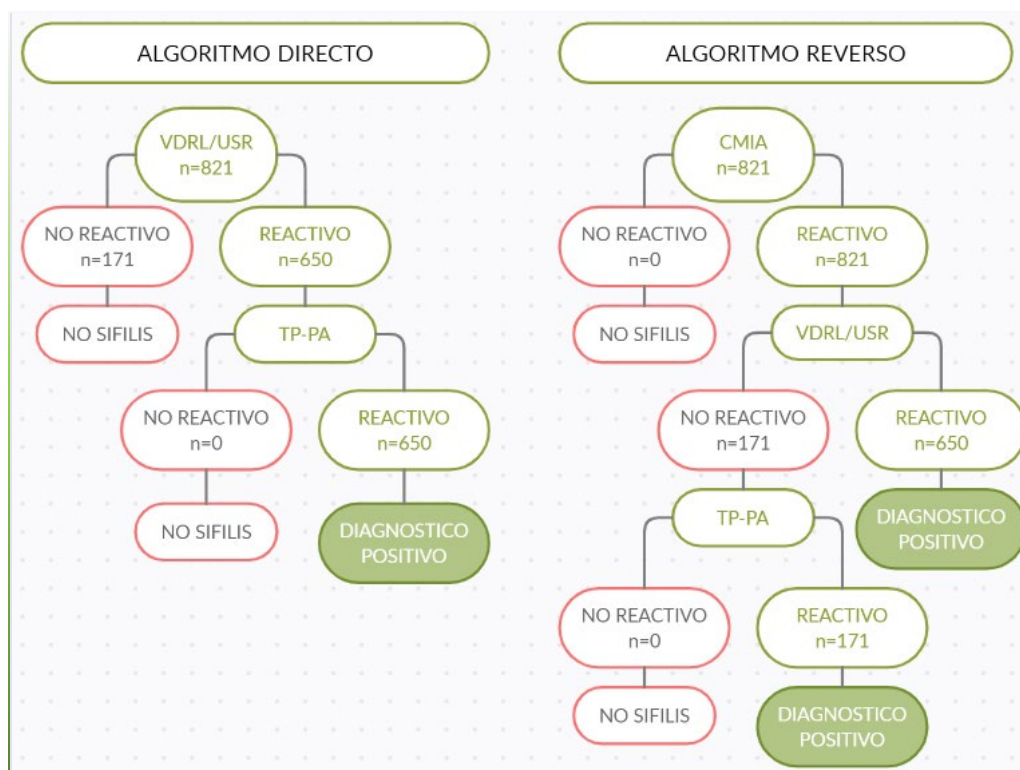


Figura 4. Esquema comparativo de los algoritmos

Del total de pacientes reactivos por algoritmo reverso, 29,2% (n=240) presentaron antecedentes de diagnóstico serológico (**Tabla 3**). El 86,2% (n=207) correspondió al sexo femenino, de las cuales 30,4 % (n=63) eran embarazadas, los restantes del total no presentaban antecedentes (n=581).

Tabla 3

Distribución de pacientes según antecedentes y resultados

Resultados	Femenino						Masculino		Total		Total general
	Emb.		No emb.		Total						
	c/ant.	s/ant.	c/ant	s/ant	c/ant	s/ant	c/ant	s/ant	c/ant	s/ant	
PT+/PNT+	56	132	114	193	170	325	29	126	199	451	650
PT+/PNT-	7	48	30	51	37	99	4	31	41	130	171
Total	63	180	144	244	207	424	33	157	240	581	821

Ref.: **Emb.**: embarazada; **No emb.**: no embarazada; **c/ant.**: con antecedentes; **s/ant.**: sin antecedentes; **PT**: prueba treponémica; **PNT**: prueba no treponémica

Del total de sueros reactivos (n=650) por V.D.R.L. (PNT+), 451 no presentaron antecedentes, de los cuales 72,1% (n=325) eran del sexo femenino y de éstas 40,6% (n=132) eran embarazadas.

De los sueros no reactivos (n=171) por V.D.R.L.(PNT-) 130 no presentaron antecedentes, y de éstas, 76,1% (n=99) eran del sexo femenino y 48,5% (n=48) eran pacientes embarazadas.

Tomando a cada algoritmo como un evaluador individual se calculó el parámetro estadístico índice κ , con un IC 95% mediante calculadora online. Se presenta la distribución de las concordancias y discrepancias observadas en la **Tabla 4**.

Tabla 4

Distribución de concordancias y discrepancias entre los resultados de ambos algoritmos

		DIRECTO		Marginal
		POSITIVOS	NEGATIVOS	
REVERSO	POSITIVOS	650	171	821
	NEGATIVOS	0	5618	5618
	Marginal	650	5789	6439

RESULTADOS DE LOS CALCULOS ESTADÍSTICOS

Acuerdo observado	0,970
Acuerdo esperado	0,797
Índice κ	0,869
Error estándar	0,010
IC 95%	(0,850 - 0,888)
Fuerza de concordancia	Muy buena

Se han observado $97,3\% = p_1$ coincidencias.

El acuerdo esperado $79,7\% = p_e$ determinado por las coincidencias al azar suponiendo que ambos

observadores puntúen independientemente uno del otro.

Una cantidad observada p_1 superior al acuerdo esperado (p_e) indicaría concordancia, y una inferior, discrepancia. Como en este caso $p_1 > p_e$, encontramos más concordancia de la que se espera por azar.

El Índice κ se mide como la razón entre las concordancias observadas y esperables al azar, y la máxima concordancia posible (100%) y la esperada al azar, es decir:

$$\kappa = \frac{p_1 - p_e}{1 - p_e} = \frac{0,973 - 0,797}{1 - 0,797} = 0,869$$

La fuerza de concordancia se clasificó como “muy buena” según la escala utilizada.

En relación a los costos de las determinaciones utilizadas en ambos algoritmos, se observa su valor por unidad y por determinación en la **Tabla 5**.

Tabla 5

Costos por unidad y por determinación

REACTIVOS	POR UNIDAD (\$AR)	POR DETERMINACIÓN (\$AR)
VDRL modificado X 250 determinaciones (Wiener Lab., Argentina)	1.750,00	7,00
TPPA X 100 determinaciones (SERODIA®-TP-PA)	35.000,00	350,00
CMIA X 100 determinaciones ARCHITECT Syphilis TP (Abbott, Alemania)	18.000,00	180,00
©		

Ref.; VDRL: Laboratorio de Investigación de Enfermedades Venéreas; TPPA: aglutinación de partículas

Treponema pallidum; CMIA: inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas; \$AR: peso argentino.

Fuente: Ministerio de Salud Pública de la Provincia de Chaco. Enero 2021

En la **Tabla 6** se observa el análisis de costos requeridos por cada algoritmo teniendo en cuenta los resultados obtenidos y las determinaciones adicionales (titulaciones, diluciones).

Tabla 6

Comparación de costos entre ambos algoritmos

ALGORITMO	RESULTADOS	POR PACIENTE (\$AR)	Nº DETERMINACIONES n=821	TOTAL (\$AR)	TOTAL POR ALGORITMO (\$AR)
DIRECTO	VDRL* NR	14	171	2.394	275.394
	VDRL* R + titulación** / TPPA	420	650	273.000	
REVERSO	CMIA NR	180	0	0	255.524
	CMIA R / VDRL R + titulación**	250	650	162.500	
	CMIA R / VDRL* NR / TPPA	544	171	93.024	

Ref.; VDRL: determinación en suero puro y dilución 1/5 (\$AR14); **titulación: se consideró 8 determinaciones para título*

hasta 128 (\$AR56); NR: no reactivo; R: reactivo; \$AR: peso argentino

En esta tabla se evaluó el costo requerido para aplicar cada algoritmo al total de sueros estudiados (n=821), sin considerar a las utilizadas inicialmente (n=6439) cuyo valor se incrementaría 3,5 veces por algoritmo reverso.

Discusión De Resultados

Durante la última década, se han desarrollado nuevos ensayos serológicos treponémicos usando antígenos específicos (nativos y recombinantes) y nuevos formatos. Éstos incluyen métodos rápidos basados en inmunocromatografía, inmunoensayos enzimáticos y quimioluminiscentes, asegurando trazabilidad de las muestras y objetividad en el resultado.

Es interesante destacar que el embarazo es una de las causas de reacciones biológicas falsamente positivas con las PNT. Buscar falsos positivos en PNT no es el objetivo de este estudio.

En este estudio, del total de pacientes (n=6.439) predominaron las mujeres 83,8% (n=5.394) y se trabajó a partir de 821 muestras reactivas por CMIA, método actualmente aplicado por el laboratorio como cribado inicial. En esta población se observó que, del total de muestras analizadas, la mayor consulta correspondió al sexo femenino 76,9% (n=631) de las cuales 38,5% (n=243) eran embarazadas, distribuidas entre 11 y 15 años y 41 a 45 años.

El análisis global de los datos obtenidos, muestra que, de los 821 pacientes, el algoritmo tradicional

arrojó 650 serodiagnósticos positivos, y el algoritmo reverso 821. Analizado de esta manera, vemos cómo el algoritmo directo descarta 171 pacientes, estando en este último grupo 56 embarazadas como se presentó en la **Tabla 3**.

De este modo, se estaría sobreestimando el algoritmo reverso y subestimando al algoritmo tradicional, debido a que, mediante la terapéutica aplicada, la respuesta inmunológica de las PNT disminuye hasta ser indetectable o puede mantenerse positiva en títulos bajos toda la vida. En cambio, las PT permanecen siempre positivas (SADI - Primer consenso de ETS; 2011). Contemplando esta situación se desestimaron en la comparación de los algoritmos a los pacientes con antecedentes clínicos (n=581).

Por medio del algoritmo directo o tradicional se obtuvieron 130 sueros no reactivos sin antecedentes, de los cuales 48 correspondieron a gestantes que constituyen un grupo de riesgo para sífilis congénita, debido a que la ausencia de tratamiento en el embarazo conduce a resultados adversos como la muerte fetal tardía, prematuridad y muerte neonatal (Neira Varillas, M.R., 2019).

Si se obtiene una PNT negativa y el paciente está asintomático, no precisa la realización de una segunda prueba. Sin embargo, en fases tempranas, las PNT pueden resultar falsamente negativas, por lo que en pacientes con alta sospecha se deben repetir las PNT a las 2-4 semanas.

Los anticuerpos anti treponema se producen primero que los no treponémicos por lo que se pueden perder algunos casos de sífilis primaria con este algoritmo (Man-Li Tong, 2014).

Este algoritmo detecta infección activa, con clínica sospechosa o ausencia de síntomas. La PNT reactiva independientemente del título, confirmada con alguna de las pruebas treponémicas, da un resultado con un valor predictivo de la prueba positiva (VPPP) alto (OPS, 2015). Su ventaja radica en ser económico y accesible a laboratorios de baja complejidad.

Como desventaja, se pueden perder casos de infección primaria, antigua o pasada. Se requiere de operador capacitado y con equipo de laboratorio adecuado; tiene subjetividad en la lectura por ser

operario dependiente.

Por otro lado, entre las causas de falsos negativos, se destaca el fenómeno prozona cuando los niveles elevados de anticuerpos interfieren en la unión del complejo antígeno-anticuerpo, impidiendo la visualización de la aglutinación, observable en menos del 2% de los pacientes sobre todo en la sífilis secundaria donde los niveles de anticuerpos son más altos, por lo que se recomienda repetir la prueba con suero diluido 1:5 con solución fisiológica (Arenas M.,2020).

Entre las causas de falsos positivos se mencionan situaciones como hepatitis, influenza, brucelosis, lepra, malaria, asma, tuberculosis, cáncer, herpes, varicela-zoster, mononucleosis, citomegalovirus, diabetes y enfermedades autoinmunes (lupus, artritis reumatoide, tiroiditis autoinmune). El embarazo es una de estas situaciones. Se estima que las PNT pueden mostrar falsos positivos en menos de un 1% de los casos, habitualmente con carácter transitorio y con títulos bajos (Arenas M.,2020).

Por el algoritmo reverso, se obtuvieron 581 serodiagnósticos de pacientes sin antecedentes y ningún falso positivo por el método quimioluminiscente de mayor sensibilidad y especificidad, observado hasta un 0,13% por Martínez-Methol, M. S., 2019 con señales S/CO comprendidas entre 1,01 y 3,45. Éstos pueden estar provocados por enfermedades autoinmunes o conectivopatías, e infecciones como lepra, mononucleosis infecciosa o borreliosis, así como en usuarios de drogas endovenosas (Fuertes A., 2018).

Este algoritmo, detecta infección primaria activa o pasada que podría perderse con el algoritmo directo, en cambio ante una sospecha clínica epidemiológica se deberá repetir a las seis semanas (Arenas M.,2020).

La eficacia terapéutica y pronóstico del paciente se evalúa a partir de la comparación de los resultados de las PNT post tratamiento, con las nuevas pruebas en caso de sospecha de reinfección o fallo terapéutico. La interpretación de los resultados se basa en que los títulos pueden negativizar y en otros pueden mantenerse reactivos a títulos bajos de por vida, es probable que estemos frente a una cicatriz inmunológica y con menos frecuencia, un error de laboratorio (Iván, R., & Carrasco, Á., 2018).

Cuanto más temprana sea la etapa de detección e inicio del tratamiento, es más factible la negativización de las PNT. En la sífilis secundaria con tratamiento completo, la V.D.R.L. suele tornarse no reactiva al cabo de 12 a 15 meses de finalizado el tratamiento (SADI - Primer consenso de ETS; 2011).

En general, los títulos de anticuerpos se correlacionan con la etapa de enfermedad activa por lo que este algoritmo depende de las PNT para informar en forma cuantitativa; el aumento de dos títulos es necesario para que sea clínicamente significativo (falla de tratamiento o reinfección si existe el antecedente de un tratamiento completo previo).

Tiene ventajas operativas, como la automatización que mejora la trazabilidad de las muestras, simplifica el procedimiento manual, elimina la subjetividad de la lectura y el fenómeno de prozona.

Como desventaja, Martínez-Methol, M. S., 2019, destacó un incremento de 20 veces sólo en el costo de reactivo para el cribado mediante el algoritmo reverso (CMIA) respecto del tradicional (V.D.R.L.), el cual se acrecienta incluyendo la prueba treponémica confirmatoria (TPPA) para resolver resultados discordantes. En el trabajo realizado en el Laboratorio Central “Dra. Francisca Cledi Luna de Bolsi” Resistencia, Chaco es de 10 veces como lo detallado en la **Tabla 5**.

Este algoritmo detectó 130 pacientes seropositivos que no podrían haberse diagnosticado en forma temprana mediante el algoritmo tradicional, siendo 49 embarazadas parte de este grupo.

Al calcular el índice κ con un IC 95% (0,850-0,888), se obtuvo un valor del 0,869 entre ambos algoritmos. La fuerza de concordancia se clasificó como “muy buena” según la escala utilizada. Estos resultados refuerzan la fiabilidad de ambos procedimientos, estimando el grado de variabilidad, considerando que no se incluyeron los posibles falsos positivos por algoritmo directo lo cual disminuiría en forma mínima este porcentaje.

En relación a costo/beneficio hay que considerar el número de determinaciones que incluye cada reactivo como lo detallado en la **Tabla 5**. Hay que tener presente que un paciente puede requerir más de una determinación como en la PNT por la realización de la dilución 1:5 y la titulación de los sueros

reactivos.

Por esta razón, al momento de evaluar el costo de cada algoritmo deberían considerarse las reacciones falsas positivas de la PNT, ya que demanda realizar otra prueba. En la **Tabla 6**, sobre el total de 821 pacientes, la lectura inicial impresiona como de menor costo el algoritmo reverso. Si se tiene en cuenta el tamizaje inicial (n=6439), este costo es 3,5 veces mayor que el directo.

Realizando la valoración comparativa entre el costo convencional inicial del tratamiento de la sífilis primaria y las fases secundarias y terciarias, éstos se incrementarían a largo plazo por gasto en estudios complementarios, terapéutica, internación y asistencia social. Los falsos negativos del algoritmo directo en una paciente embarazada, son un inminente recién nacido con secuelas congénitas incrementando los gastos al sistema de salud difíciles de estimar.

Por esta razón la inversión en metodologías de alta sensibilidad y especificidad se reflejarán en beneficio a largo plazo. En países europeos el algoritmo utilizado incluye dos PT consecutivas para confirmar infección y frente a un resultado positivo o reactivo se aplica una PNT para conocer el título basal, utilizado para el monitoreo de la eficacia terapéutica (ECDC, 2020).

Si este algoritmo se aplicara de rutina en un laboratorio de salud pública de Argentina en general y de la provincia del Chaco en particular, el costo sería aproximadamente 2,7 veces mayor a lo expuesto en el presente trabajo.

Ninguna estrategia para el diagnóstico de sífilis provee el diagnóstico perfecto, por lo que la elección del algoritmo debe establecerse de acuerdo la necesidad de contar con un diagnóstico y tratamiento oportunos orientados a promover desde la salud pública la detección en poblaciones vulnerables como mujeres embarazadas, para evitar reducir la transmisión congénita.

Conclusión

Al realizar este estudio se captaron 49 embarazadas seropositivas por algoritmo reverso que no podrían haberse diagnosticado en forma temprana mediante el algoritmo tradicional, esto implica potencial infección congénita con costo elevado a largo plazo para el sistema de salud.

Queda demostrado que es un algoritmo oneroso para los laboratorios de rutina provinciales limitándose a la población de mayor riesgo y a aquellos laboratorios medianos a grandes que cuenten con la infraestructura adecuada y personal capacitado para asegurar la eficacia de este algoritmo y la correcta interpretación de los resultados.

Agradecimientos: A la Dirección del Laboratorio Central Chaco, Bioq. Marcela Tourn por proporcionar el acceso a la tecnología y reactivos para llevar a cabo el estudio, especialmente al Bioq. Ezequiel Grinberg del Área de Serología por la dirección y acompañamiento en este estudio. A los Bioquímicos Juan Ramón Ramírez y Carina Villalba, también a Emilia Sánchez y Jessica Skunca, quienes se desempeñan como técnicas en el Área Serología y a todos los integrantes del área de Admisión y Extracciones de la institución.

Referencias

- Arenas, M. G. (2020). *Las pruebas serológicas para el diagnóstico de la sífilis* (Vol. 16, pp. 464–469).
- Boletín sobre el VIH, sida e ITS en la Argentina N°36, AÑO XXII – Diciembre 2019
- Centers for Disease Control and Prevention (CDC) (2011). *Discordant results from reverse sequence syphilis screening--five laboratories*, United States, 2006-2010. MMWR. Morbidity and mortality weekly report, 60(5), 133–137.
- Consenso de sífilis – ministerio de salud y desarrollo social, 2019
- Consulta regional sobre algoritmos para el diagnóstico de la sífilis en américa latina y el caribe, 2014
- Fuertes A. (2018). *Diagnóstico serológico de la sífilis*. Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. [Internet.] Disponible en: <https://www.seimc.org/contenidos/ccs/revisioneste>

maticas/serologia/sifilis2.pdf)

Griemberg, (2000). *Sífilis y embarazo: control prenatal, seroprevalencia y falsos biológicos positivos*, (Buenos Aires); 60: 343-347.

<https://www.bioestadistica.uma.es/analisis/>

Iván, R., & Carrasco, Á. (2018). *Interpretation of diagnostic tests for syphilis in pregnant women*. Scielo, 64(3), 345–352.

Koneman E W, Allen S D, Janda W M (2001). *Diagnóstico Microbiológico*, 6th ed. Editorial Médica Panamericana.

Larsen S A, Steiner B M, Rudolph A H (1995). *Laboratory diagnosis and interpretation of test for syphilis*. Clin. Microbiol. Rev. 8:1-21. PMID: 7704889.

Ley Nº 27.548 de la República Argentina (2020) - *Programa de protección al personal de salud ante la pandemia de coronavirus COVID-19*.

M Janier, V Hegyi, N Dupin, M Unemo, GS Tiplica, M Potočnik, P French, R Patel. (2014). *European Guideline on the Management of Syphilis*.

M.García-Legaz Martínez (2020). *Utilidad de las nuevas pruebas treponémicas automatizadas en el diagnóstico de la sífilis precoz*. Volume 111, issue 2, pages 135-142

Man-Li Tong, Li-Rong Lin, Li-Li Liu, et al (2014). *Analysis of 3 Algorithms for Syphilis Serodiagnosis and Implications for Clinical Management*. Clinical Infectious Diseases;58(8):1116–24.

Martínez-Methol, M. S., Ventimiglia, F. D., Aristimuño, A. M., de la Colina, A. N., Bruno, J. J., & D'Agostino, L. E. (2019). *Implementación del algoritmo reverso para el cribado de sífilis en un laboratorio clínico*. Revista Chilena de Infectología, 36(4), 525–530. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182019000400525>

Neira Varillas, M. R., & Donaires Toscano, L. F. (2019). *Sífilis materna y complicaciones durante el embarazo*. Anales De La Facultad De Medicina, 80(1), 68-72.

<https://doi.org/10.15381/anales.v80i1.15875>

Organización mundial de la salud (2015). *Manual de bioseguridad en el laboratorio*. Ginebra, 3era edición.

Ratnam S. (2005). *The laboratory of diagnosis of syphilis*. Can J Infect Dis Med Microbiol; 16 (1): 45-51. PMID: 18159528.

T.Toledo-Pastrana (2020). *Sífilis precoz: nuevas aproximaciones diagnósticas para un escenario cambiante*. Volume 111, issue 2, pages 87-88.