

Artículos originales

(<http://www.siicsalud.com/main/expinv.htm>)

Las normas de divulgación biomédica acotan las posibilidades de comunicación de los investigadores o los someten a rígidos esquemas editoriales que, en oportunidades, limitan la redacción y, en consecuencia, la posterior comprensión de los lectores. SIIC propone escribir sin ataduras a renombrados médicos del mundo. Las estrictas supervisiones científicas y literarias a que son sometidos los Artículos originales aseguran documentación de calidad, en temas de importancia estratégica.

1 - Prevalencia y Factores de Riesgo para Hepatitis C en Donantes de Sangre: Impacto y Resultados



Laura Ladrón de Guevara
Columnista Experto
Sociedad Iberoamericana de Información Científica

Función que desempeña: Médico adscrito, Servicio de Gastroenterología, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", Instituto de Servicios y Seguridad Social de Trabajadores del Estado (ISSSTE), México DF, México

Otro trabajo de su autoría: Ladrón de Guevara L, Gómez N, Vázquez-Cantarell M, García Méndez S, Di Silvio M. Prevalencia y factores de riesgo para hepatitis C en donantes de sangre. *Revista Mexicana de Gastroenterología* 67(1) 7-12, 2002.

Se considera que existen en el mundo 170 millones de personas infectadas por el virus de la hepatitis C (HVC) lo que hace de esta hepatitis viral un problema mundial de salud.¹ El descubrimiento de este virus de ARN, en 1989, culminó con un período de investigación extenuante dirigida a detectar el agente causante del 80% de las hepatitis no A-no B, y responsable de una gran proporción de insuficiencia hepática terminal por cirrosis, por hepatocarcinoma o por ambas enfermedades.^{1,2} El rápido desarrollo de técnicas de detección, principalmente inmunológicas, ha permitido la realización de pruebas para HVC en donantes de sangre, disminuyendo de forma drástica en años recientes el riesgo de adquisición por transfusión: se calcula que el riesgo es de 1 en 103 000 unidades transfundidas.³ A pesar de una reducción tan importante por esta vía de transmisión, existen casos en los que no se registra antecedente de transfusiones, los que se han denominado "adquiridos en comunidad" o "esporádicos".⁴ Aunque por un tiempo se aceptó una tasa de infección de población general del 3%, los últimos estudios epidemiológicos mostraron una variación considerable de la frecuencia en términos de geografía y grupos de edad afectados, la cual se explica por los diferentes factores de riesgo identificados que contribuyen a la transmisión de la infección por HVC.

Los donantes de sangre son una población que se puede estudiar con relativa facilidad, por lo que se han llevado a cabo múltiples investigaciones de grupos de donantes en diferentes países.⁵⁻⁷ En México existen algunos estudios⁸⁻¹¹ con respecto a los índices de la infección por HVC y se consideró que hay una prevalencia en donantes de sangre entre 0.2% y 0.5%.

Sin embargo, en nuestra población no se han analizado los factores de riesgo asociados con esta infección. Esta falta de conocimiento en salud pública fue lo que impulsó el desarrollo de un trabajo inicial en que se estudió la prevalencia y los factores de riesgo asociados en una población de donantes de sangre.¹² Se empleó un diseño de investigación de casos y controles anidado en una cohorte de donantes estudiada de enero de 1996 a agosto de 2000. Los casos se definieron como la seropositividad a anti-HVC y se seleccionaron dos controles por cada caso, pareados en género y edad, que hubieran donado sangre en una fecha no mayor de 2 días antes o 2 días después de la detección del caso. Para calcular los factores de riesgo se estableció un tamaño de muestra de 186 casos (372 controles) basado en una prevalencia de enfermedad del 3% para obtener una *odds ratio* (OR) de 3 con un poder del 80% e intervalos de confianza del 95% (IC 95%).

Los casos fueron notificados de su condición serológica por personal de Banco de Sangre. Para un segundo interrogatorio sobre factores de riesgo asociados con la infección por HVC se eligió el método de entrevista telefónica, participándoles a los sujetos positivos que a toda la información proporcionada se le daría un trato absolutamente confidencial y que el propósito del estudio era conocer acerca de los factores de riesgo asociados con esta infección. Los controles también fueron entrevistados vía telefónica y de la misma forma se les garantizó que toda la información se manejaría de manera confidencial. Durante la entrevista telefónica se aplicó un cuestionario cerrado basado en los siguientes factores de riesgo: número potencial de exposiciones parenterales a sangre o productos sanguíneos, uso nasal de cocaína, actividad sexual de alto riesgo, exposición a hepatitis y grado de escolaridad. Investigamos 14 factores de riesgo asociados con seropositividad, los cuales se presentan en la tabla 1.

Sólo se encontraron factores de riesgo en el 36.16% de los donantes seropositivos a anti-HVC. Durante la segunda entrevista, el 30% de los donantes seropositivos declararon uno o más factores de riesgo que previamente habían negado, principalmente los relacionados con la conducta sexual —como relación con prostitutas o múltiples parejas sexuales—, acupuntura, cirugías menores o dentales. En ningún control hubo cambios con respecto a su entrevista inicial. Podemos observar que, de los resultados del análisis univariado, los donantes positivos a anti-HVC tienen una asociación significativa al factor de riesgo de antecedente de relaciones sexuales con prostitutas

Participaron en la investigación: Nicolás Gómez Peña Alfaro (Servicio de Gastroenterología, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE), Mariana Vázquez Cantarell, Sergio García Méndez Porfirio Zúñiga-Mejía, Albino Rendón Tellez (Banco de Sangre, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE), Mauricio Di Silvio (Subdirección de Enseñanza e Investigación, Centro Médico Nacional "20 de Noviembre", ISSSTE), México DF, México.

Tabla 1: Factores de riesgo asociados con seropositividad a VHC por análisis univariado. (OR: odds ratio, VHC: virus de la hepatitis C)

Factor de riesgo	OR anti-VHC	Intervalo de confianza al 95%
Transfusión	6.00	2.62-13.72
Cirugía previa	1.60	0.92-2.77
Antecedente de sangrado digestivo	1.01	0.995-1.02
Hemodiálisis	0	-
Vacunación vs. Hepatitis B	0	-
Acupuntura /tatuaje	3.02	1.13-8.14
Cirugía dental	8.89	1.01-86.89
Contacto hepatitis	3.01	1.17-7.70
Uso drogas intravenosas	1.01	0.99-1.02
Uso cocaína nasal	8.89	1.01-86.89
Relación sexual con adicto drogas IV	1.01	0.99-1.02
Relaciones sexuales con prostitutas	7.48	1.43-38.92
> 5 parejas sexuales	1.25	0.32-4.91
Ex donante	0.486	0.34-0.68

(OR = 7.48; IC 95%, 1.43-38.92), seguido, en orden decreciente, por transfusión (OR = 6.0; IC 95%, 2.62-13.72), uso nasal de cocaína (OR = 8.89; IC 95%, 1.01-86.89), cirugía dental (OR = 8.89; IC 95%, 1.01-86.89) y contacto con personas infectadas con hepatitis (OR = 3.01; IC 95%, 1.17-7.70). Los demás factores de riesgo no tuvieron asociación significativa. Los resultados del análisis multivariado se muestran en la tabla 2 y determinan que sólo los antecedentes de transfusión, cirugía dental y relaciones sexuales con prostitutas tuvieron asociación independiente para la seropositividad a anti-HVC.¹²

A pesar de que no se ha reconocido en México, en otros países los factores relacionados con conductas sexuales de riesgo mostraron asociación con la seropositividad anti-HVC.^{1,5-7,13} En este estudio sólo un factor de riesgo de conducta sexual tuvo significación estadística (OR = 3.7; IC 95%, 1.09-36.11). El fenómeno de la transmisión sexual de la hepatitis C es aún tema de controversia. Algunos estudios muestran que el contacto sexual con personas infectadas por virus de hepatitis C no contribuye a la infección, mientras que otros sugieren que este medio de transmisión es importante, además de ser un marcador de conductas peligrosas, al igual que compartir objetos de uso personal con potencial de transmisión (como rasuradoras) con personas infectadas por HVC.

Nuestros resultados sugieren que en México, al igual que en otros países, la transmisión sexual puede ser un factor de riesgo, especialmente asociado con conductas sexuales riesgosas. La acupuntura y el tatuaje se mostraron como factores de riesgo significativos para anti-HVC en el análisis univariado, pero en el análisis multivariado la asociación no conservó su importancia. Aunque ésta es la investigación más extensa en tiempo, con mayor cantidad de casos y con metodología adecuada para la búsqueda de factores de riesgo que se ha realizado en México, los hallazgos no se han difundido. Desconocemos la causa de esta política, pero sospechamos que uno de los pretextos es el tabú que sobre la conducta sexual que se mantiene en la sociedad mexicana. A tres años de haber concluido este trabajo, decidimos evaluar el impacto de los resultados. En nuestro estudio original informamos que la prevalencia cruda total para hepatitis C era de 0.84%.

Tabla 2: Factores de riesgo asociados con seropositividad a VHC en el análisis multivariado final. (VHC: virus de la hepatitis C, OR: odds ratio, IC 95%: intervalo de confianza 95%)

Factor de riesgo	OR	IC 95%
Transfusión	13.44	2.11 – 11.83
Cirugía	0.39	0.66 – 2.19
Acupuntura/Tatuaje	2.16	0.76 – 6.58
Cirugía dental	3.89	1.16 – 95.99
Contacto con hepatitis	1.13	0.65 – 4.22
Relaciones sexuales con prostitutas	3.70	1.09 – 36.14

Tabla 3: Donaciones totales y seropositividad anti-vhc en el Banco de Sangre del Centro Médico Nacional "20 de Noviembre" ISSSTE. Ciudad de México, México.

Año	Total de donaciones	Casos anti-VHC positivos
1996	8,921	121
1997	11,324	103
1998	9,544	67
1999	7,772	42
2000	12,320	43
2001	12,003	24
2002	11,835	42

Esta cifra es muy semejante a la que difunde el Centro Nacional de la Transfusión Sanguínea, que es de 0.79%.¹⁴ Al analizar la cantidad de casos anti-HVC positivos anuales por 1 000 donaciones de sangre, observamos que se registra una disminución en los casos detectados cada año (tabla 3).¹⁵

El descenso más importante en el número de casos positivos se detectó en 1997, año en que la disminución fue del 33% con respecto al año anterior. Esto pudo obedecer a que en ese año se cambió la prueba de detección de ELISA de primera generación (monoantígeno) por la de tercera generación (multiantígeno), ya que es sabido que las pruebas de primera generación tienen una frecuencia más alta de falsos positivos que las pruebas de segunda y tercera generaciones.^{16,17} Desde entonces se ha usado el mismo tipo de prueba. El descenso constante en la tasa de detección se conservó hasta 2002, cuando aumenta con respecto al año previo. Al estudiar las causas de rechazo de donantes existe una diferencia significativa entre las causas de eliminación de potenciales donantes antes y después del estudio de factores de riesgo ($p < 0.001$). En 1995, la principal causa de rechazo fue hematocrito bajo en 53% de los rechazados, mientras que en 2003 la primera causa de rechazo es la actividad sexual de alto riesgo. ¿Hubo un impacto en la selección de donantes? Creemos que sí, y que además es un impacto positivo. El conocimiento de las causas relacionadas con la seropositividad anti-HVC posibilita mejor selección de los donantes, cuyas consecuencias son (a) menor tasa de detección de seropositividad en donantes, por ende, (b) menor riesgo de nuevos casos de transmisión para virus de la hepatitis C por vía de la transfusión sanguínea y (c) ahorro de recursos en nuestra institución.

Laura Ladrón de Guevara

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2004

© **Atención al Lector:** Las referencias bibliográficas de los artículos originales, información complementaria y otros detalles o consultas pueden solicitarse a SIIC <atencionlector@siicsalud.com> o ingresando en <www.siicsalud.com>.

2 - Detección Selectiva de la Infección por HIV durante el Embarazo



Dr. Richard M. Grimes
Columnista Experto
Sociedad Iberoamericana de Información Científica

Función que desempeña: Associate Professor of Management and Policy Sciences, School of Public Health at the University of Texas Houston Health Science Center, Houston, Texas, EE.UU.

Otro trabajo de su autoría: Grimes RM, Lal L, Lewis ST: Frequency of medical history items, drug interactions and lifestyle characteristics that may interfere with antiretroviral medications, *HIV Clinical Trials* 3:161-167, 2002.

Introducción

Se acepta que el estudio serológico para la detección de infección por HIV durante el embarazo puede asociarse con beneficios potenciales, tanto para la madre como para el feto. Entre las ventajas hay que mencionar la posibilidad de iniciar el tratamiento en forma precoz, lo cual es de gran beneficio. De hecho, existe evidencia sustancial de que el tratamiento apropiado precoz de la infección por HIV mejora la evolución de los pacientes con terapia antirretroviral.

Por lo tanto, la detección de la infección por HIV en la gestación permite que la madre pueda ser tratada más tempranamente y que reciba el tratamiento antiHIV que reduce la morbilidad y aumenta la sobrevida.¹ Además, la identificación prematura de la infección también permite que la mujer reciba la terapia profiláctica para infecciones oportunistas asociadas con la infección por HIV. Está establecido que la medida prolonga y mejora la calidad de la vida.²

Conocer el estado de infección por HIV de una mujer embarazada también tiene un beneficio para el niño. La transmisión del HIV de madre a hijo es aproximadamente del 40% en las mujeres que amamantan. Se considera que la eliminación de esta forma de alimentación reduce el índice en alrededor de un 14%.³ También es sabido que es mucho menos probable que las mujeres tratadas con antirretrovirales durante la gestación transmitan el virus a la descendencia. El estudio clásico (llamado protocolo 076) mostró que las madres e hijos que reciben monoterapia con zidovudina (AZT) tienen reducción del riesgo de transmisión del orden del 25.6% al 8.3%. Las mujeres del estudio recibieron AZT oral antes de la semana 34 de gestación y en forma intravenosa durante el trabajo del parto. Asimismo, los hijos recibieron AZT en jarabe desde inmediatamente después del nacimiento y durante las seis semanas posteriores.⁴ También hay evidencia de que la práctica obstétrica puede reducir el riesgo de transmisión materno-fetal del HIV. Landesman y colaboradores mostraron que la ruptura prematura de membranas se

asocia con mayor probabilidad de transmisión del HIV.⁵

Además, un metaanálisis del riesgo de transmisión mostró que el uso de AZT junto con la cesárea programada y la no alimentación a pecho pueden reducir el riesgo de transmisión a un escaso 2%.⁶

Debido a que el conocimiento del estado de infección por HIV en mujeres gestantes tiene enormes consecuencias para la madre y para el niño, muchos programas gubernamentales recomiendan el estudio serológico como parte de la atención prenatal. El estado de Texas, en los Estados Unidos, promulgó una ley para que el profesional ofrezca a la mujer la posibilidad de estudio serológico en la primera visita y en el momento del parto. La conducta se asocia con el beneficio de poder comenzar con la terapia antirretroviral antes del nacimiento, de evitar la ruptura prematura de membranas y de planificar la cesárea, con la finalidad de reducir el riesgo de transmisión materno-fetal. Asimismo, brinda la posibilidad de comenzar el tratamiento antiviral en la madre lo antes posible y permite al profesional aconsejar sobre las formas más seguras de alimentación del recién nacido. El requisito de repetir el estudio serológico en el momento del parto asume la posibilidad de que un determinado número de mujeres seroconvierte durante la gestación. Nuevamente, la información en este momento es útil para desalentar la lactancia materna.

Primera pesquisa de infección materna

Sin embargo, el índice de seroconversión durante el embarazo no era conocido. Por ende, los autores realizaron un estudio en 97 mujeres que tuvieron serología positiva en el momento del parto, durante 1996 y 1997, en dos hospitales académicos del *University of Texas Houston Health Science Center*. Se revisaron las historias clínicas de las mujeres para saber si habían tenido un resultado positivo en la etapa de atención prenatal, con lo cual podrían determinar la seroconversión durante la gestación. No encontraron resultados compatibles con seroconversión durante el embarazo; 30 de las 97 mujeres sabían que estaban infectadas antes de la concepción por lo que el primer estudio y la repetición en el momento del parto no proporcionaron información útil. La ausencia de seroconversión sugirió, además, que la reevaluación posterior sería de poco valor.

No obstante, 21 de las 67 mujeres que desconocían su estado de infección antes del embarazo no recibieron atención prenatal (n = 11) o recibieron el primer control después de la semana 34 de gestación (n = 10). Esta edad gestacional es importante porque el protocolo 076 acerca del uso de AZT en embarazo fue realizado en pacientes que recibieron el antiviral antes de la semana 34 de gestación. Por lo tanto, para ese entonces se consideraba crucial la valoración antes de esa fecha de gestación. Sobre esa base, en 10 de las 67 (15%) mujeres con diagnóstico reciente, la detección de la infección se realizó demasiado tarde como para recibir el beneficio máximo de la terapia antirretroviral. Sin embargo, el diagnóstico en ese

Participaron en la investigación: Nancy L. Eriksen MD y Andrew W. Helfgott.

© **Atención al Lector:** Las referencias bibliográficas de los artículos originales, información complementaria y otros detalles o consultas pueden solicitarse a SIIC <atencionlector@siicsalud.com> o ingresando en <www.siicsalud.com>.

momento aun permitió evitar el riesgo relacionado con la ruptura prematura de membranas y con la lactancia y programar la cesárea. En un 16% adicional ($n = 11$) de la cohorte, el diagnóstico de infección por HIV se efectuó demasiado tarde como para que las medidas terapéuticas redujeran el riesgo de infección fetal a partir del tratamiento antiviral, la ruptura prematura de membranas y la cesárea electiva. Sin embargo, todavía hubo tiempo de evitar la lactancia. Así, la detección del estado de infección por HIV al inicio del cuidado prenatal y nuevamente en el momento del parto tiene algún beneficio en relación con la reducción potencial de transmisión perinatal del HIV. El estudio reveló la importancia de efectuar el estudio serológico en el momento del parto en mujeres que no habían recibido cuidados prenatales.

Además, quedó demostrada la importancia de aconsejar y educar a las mujeres que tienen riesgo de infección por HIV a que soliciten atención prenatal en forma precoz. Los esfuerzos deberían formar parte de cualquier programa integral destinado a reducir la transmisión del HIV de madre a hijo durante el período perinatal.⁷

Estudios de seguimiento

Desde la terminación del estudio en 1997, varias investigaciones demostraron el valor de conocer el estado de infección por HIV en la madre, aun en forma tardía durante la gestación.

Un trabajo realizado en Tailandia reveló que el índice de transmisión viral de la madre al feto era del 8.3% cuando la madre HIV positiva iniciaba el tratamiento con AZT en la semana 35 de la gestación y cuando los hijos recibían la droga durante tres días después del nacimiento.⁸

Los hallazgos se confirmaron en un estudio que comparó mujeres que iniciaron el tratamiento antiviral entre las semanas 36 a 38 de la gestación y aquellas que recibieron placebo.

El índice de transmisión en este último grupo fue del 27.5% versus un 18% en el grupo activo.⁹ Un trabajo similar, de Uganda, mostró que la administración de nevirapina o de AZT a la madre, durante el trabajo de parto, y a sus hijos después del nacimiento, podía reducir el índice de transmisión del HIV a un 8.2% (en el grupo tratado con nevirapina) y a un 10.4% en el grupo que recibió AZT. En el primer grupo (nevirapina), las madres recibieron una única dosis oral al inicio del trabajo de parto y los hijos recibieron una única dosis dentro de los tres primeros días de vida. Las madres tratadas con AZT recibieron una combinación oral e intravenosa del medicamento y los infantes fueron tratados con dos dosis diarias durante 7 días después del nacimiento.¹⁰ Wade y colaboradores realizaron un estudio retrospectivo acerca del efecto de la administración de AZT a la madre en el momento del parto, y al niño después del nacimiento, sobre la transmisión de la infección. Encontraron que el protocolo 076 completo no era necesario para lograr una reducción sustancial del índice de transmisión de madre a hijo. Cuando las mujeres recibieron el protocolo 076 completo, el índice de contagio fue del 6.3%.

Sin embargo, si la madre sólo recibía AZT durante el parto, el índice de transmisión era del 10%. En caso de

que el niño comenzara a recibir AZT dentro de las 48 horas posteriores al nacimiento, el índice de infección era del 9.3% mientras que se elevaba a un 18.4% cuando el tratamiento se iniciaba al tercer día del parto o en forma más tardía. En ausencia de profilaxis con AZT, el índice de transmisión fue del 26.6%.¹¹

Todos los trabajos mostraron la importancia de descubrir la infección en la madre durante el embarazo avanzado. Además, revelaron la importancia de reconsiderar el valor de determinar la seroconversión durante la gestación. Los profesionales del Centro Inmunológico de Mujeres (NLE), en uno de los dos hospitales del estudio original, continuaron controlando la población de mujeres embarazadas asistidas en la clínica con el objetivo de detectar seroconversión antes del estudio prenatal y en el momento del parto. Durante enero de 1997 y febrero de 2002, 180 mujeres de las cuales pudieron revisarse las historias clínicas fueron positivas en el momento del parto. Entre ellas, tres que habían sido seronegativas en el primer control prenatal fueron positivas en esa instancia. El seguimiento confirmó el beneficio de repetir la serología, que no se había constatado en el estudio original. La posibilidad de seroconversión durante el período de atención prenatal quedó confirmada.

Recomendaciones para la obtención de máximos beneficios

El rastreo de infección por HIV en el momento del parto duplica los costos de la determinación perinatal. Durante el parto, la determinación representa un gasto de apenas 16 dólares, incluidos los honorarios del técnico.¹² Debido a que en otros países el costo del parto es aun menor, también es posible que el gasto total sea incluso más bajo.

Si bien no es un gasto trivial, el segundo estudio serológico parece asociarse con un beneficio real para un número pequeño de mujeres y sus hijos. El rastreo en el momento del nacimiento parece de valor particular para niños de madres que no reciben o que reciben escasa atención prenatal. Además, el estudio de seguimiento sugiere que puede existir cierto beneficio del rastreo en el momento del parto porque existe la posibilidad pequeña pero real de seroconversión durante el período de atención prenatal. De esta manera, al obviar un segundo estudio, un número de niños nacidos de madres HIV positivas están en riesgo de contagio del virus a través de la alimentación a pecho. Además, en caso de que la seropositividad de la madre no se reconozca en el momento del parto, se anula la posibilidad de falta de infección del recién nacido a partir del tratamiento de la madre y del niño con AZT. El beneficio de conocer el estado de infección de la madre en el momento del parto también es ventajoso para ella, ya que puede comenzar a recibir terapia antirretroviral y profilaxis para las infecciones oportunistas en forma más temprana. La información puede ser útil también para asesorar a las mujeres en relación con la prevención de futuros embarazos o con la posibilidad de recibir cuidados prenatales tempranos en caso de una nueva gestación.

Sin embargo, para lograr el máximo beneficio del estudio serológico en el momento del nacimiento, debe

estar garantizada la posibilidad de implementar todas las medidas correspondientes que surgen de la identificación del estado positivo, entre ellas la disponibilidad de AZT para ser administrado a la madre y al hijo. El sistema de rastreo debe estar disponible y el resultado debe ser rápidamente comunicado al profesional, de manera tal que el tratamiento con AZT pueda iniciarse con la mujer aun en trabajo de parto, con lo cual todavía hay tiempo de programar la cesárea y evitar la ruptura prematura de membranas.

Aun cuando el laboratorio no esté en condiciones de dar los resultados en forma tan rápida, disponer de ellos es ventajoso porque permite adoptar las medidas correspondientes para iniciar el tratamiento en el niño antes de las 48 horas posteriores al parto. Sin embargo, ningún procedimiento es de utilidad si no hay AZT disponible para administración intravenosa o en forma de jarabe. Por lo tanto, el rastreo serológico debe formar parte de un sistema organizado de cooperación entre el laboratorio, la farmacia y el equipo de obstetricia.

También hay que mencionar que en una proporción significativa de mujeres en quienes el estado de infección por HIV se descubre en el momento del parto (aquellas con escasa o nula atención prenatal), el diagnóstico es demasiado tardío como para obtener los

máximos beneficios para el niño. El diagnóstico pudo haberse efectuado demasiado tarde como para obtener los beneficios de la terapia antirretroviral, para evitar la ruptura prematura de membranas y para programar la cesárea. Para la mayoría de estas mujeres, la evitación de la lactancia y el tratamiento del recién nacido son las únicas intervenciones posibles destinadas a reducir el riesgo de transmisión materno-fetal. Esto pone de manifiesto la enorme importancia de la educación de todas las mujeres embarazadas en relación con el valor del control prenatal temprano, especialmente para aquellas en riesgo de infección por el HIV. Asimismo, pone de relieve la necesidad de que las clínicas prenatales brinden la mayor posibilidad de atención, en relación con las horas de trabajo, el personal disponible y la localización. Cada mujer que no tiene posibilidad de acceso a un servicio de atención prenatal, ya sea por ignorancia o porque éste no está a su alcance, representa una fuente de contagio del HIV a su descendencia. Proporcionar la posibilidad de rastreo y tratamiento no es suficiente: los centros específicos deben asegurar el medio prenatal adecuado para que puedan obtenerse los máximos beneficios posibles.

Dr. Richard M. Grimes

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2004

3 - Evaluación de un Ensayo Inmunoenzimático Recombinante como Prueba Confirmatoria en el Diagnóstico de la Sífilis



Islay Rodríguez González
Columnista Experto de Sociedad Iberoamericana de Información Científica

Función que desempeña: Licenciado en Microbiología, Master en Bacteriología-Micología, Investigador, Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kourí», Ciudad de La Habana, Cuba

Otro trabajo de su autoría: Obregón AM, Fernández C, Rodríguez I, Rodríguez J, Fernández N, Enrique G. Importancia de la confirmación microbiológica en un brote de leptospirosis humana en la ciudad de Villa Clara. Revista Cubana de Medicina Tropical 55(2):96-99, 2003

La sífilis es una de las infecciones de transmisión sexual (ITS) más frecuentes en el mundo; actualmente se observa un resurgimiento en muchos países desarrollados y en vías de desarrollo mediante la transmisión heterosexual.¹

Para el diagnóstico de la sífilis se requieren métodos directos e indirectos. Los métodos directos, como el examen directo en campo oscuro (EDCO), permiten demostrar la presencia de *Treponema pallidum*

subespecie *pallidum* en muestras de lesiones sifilíticas durante las etapas tempranas; mientras que los métodos indirectos permiten la detección de anticuerpos séricos inespecíficos (pruebas no treponémicas) o anticuerpos específicos (pruebas treponémicas). Dentro del grupo de las pruebas no treponémicas las más usadas son el *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) y la detección rápida de reagentes plasmáticos (RPR); y como pruebas treponémicas la hemaglutinación de *T. pallidum* (HATP), los ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) y la absorción de anticuerpos fluorescentes (FTA-ABS). La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda la combinación de ambas pruebas serológicas para establecer el diagnóstico definitivo de esta entidad.²

Los ensayos ELISA se introducen en el diagnóstico de la sífilis por la necesidad de contar con pruebas rápidas, específicas y automatizadas que permitan su pesquisa y confirmación. Diversos ELISA han sido diseñados y evaluados con estos objetivos.³⁻⁵ El uso de antígenos de *T. pallidum* obtenidos por vía recombinante, en lugar de mezclas de antígenos treponémicos pobremente definidas obtenidas de testículos de conejo, ha sido una estrategia potencial para aumentar las especificidades de estas pruebas.^{6,7}

La primera proteína de *T. pallidum* estudiada y utilizada con este objetivo fue la proteína de

Participaron en la investigación: Elvio Luis Alvarez Maturell, Licenciado en Biología, Master en Bacteriología-Micología, Centro Provincial de Higiene, Epidemiología y Microbiología de Ciego de Avila; Carmen Fernández Molina, Doctora en Medicina Veterinaria, Master en Microbiología, Instituto de Medicina Tropical «Pedro Kourí»

membrana externa TmpA, cuyo gen fue secuenciado desde 1985, valorándose desde entonces el uso potencial de ELISA con este antígeno expresado en *Escherichia coli*.⁸ Su estructura antigénica también ha sido estudiada a través de péptidos sintéticos sobrelapantes.⁹

Varios autores han comunicado la utilización de ensayos ELISA con TmpA derivada de ADN recombinante en el diagnóstico y confirmación serológica de la sífilis, y los resultados obtenidos eran buenos.¹⁰⁻¹³ También se ha informado el uso de esta prueba en la evaluación de la terapéutica antibiótica a dicha enfermedad, a diferencia del resto de las pruebas treponémicas, en las que los niveles de anticuerpos después del tratamiento se mantienen detectables por largos periodos e incluso de por vida.¹⁰

En el presente trabajo se muestran los resultados obtenidos al evaluar un sistema ELISA anti-TmpA recombinante en el diagnóstico y confirmación de sífilis.

Materiales y métodos

Se diseñó un estudio experimental, donde la selección de los pacientes se realizó a nivel del sistema de atención primaria de salud durante un período de 3 meses. Fueron recolectadas muestras de sueros de 76 pacientes con sífilis sin tratar (38 con sífilis primaria, 10 con sífilis secundaria y 28 en estado de latencia temprano), utilizando para su diagnóstico la combinación del VDRL (*Imefa, Cuba*) y/o la RPR (*Imefa, Cuba*) como métodos de pesquisa, y EDCO en lesiones genitales y la HATP (*OXOID, Diagnosis Reagents, Reino Unido*) como métodos confirmatorios. Se incluyeron además dos muestras de pacientes con sífilis congénita y otras provenientes de personas supuestamente sanas (164 donantes de sangre, 29 embarazadas y 9 ancianos) y de pacientes con patologías que pudieran dar reacciones falsas positivas en las pruebas serológicas para sífilis (8 leptospirosis humana, 7 mononucleosis infecciosa, 9 hepatitis, 11 diabetes mellitus, 13 artritis reumatoidea, 11 lepra, 9 tuberculosis, 12 HIV/sida, 4 lupus eritematoso sistémico y 3 fiebre reumática).

El panel de 367 sueros fue codificado utilizando un sorteo al azar para evitar efectos subjetivos en las observaciones posteriores.

A todas estas muestras les fue aplicado el sistema ELISA anti-TmpA (*BioSCREEN[®], Heber Biotec S.A., Cuba*), que consiste en un ensayo inmunoenzimático tipo sándwich indirecto, en el cual los pocillos están recubiertos con el antígeno TmpA recombinante con un 90% de pureza, obtenido en *E. coli*. Todas las pruebas serológicas fueron desarrolladas según las instrucciones descritas en cada estuche diagnóstico.

Los parámetros cualitativos (sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo) del sistema ELISA fueron calculados con un intervalo de confianza de 95%, así como la sensibilidad del método en cada uno de los estadios clínicos estudiados de la enfermedad.

La precisión (intraensayo e interensayo) de la prueba fue determinada utilizando 8 sueros, 6 de ellos pertenecientes a pacientes con sífilis en los diferentes estadios clínicos y con diferentes reactividades

serológicas por VDRL/RPR y HATP, y 2 de donantes de sangre negativos a estas pruebas.

Resultados y discusión

Los ensayos serológicos han sido los procedimientos fundamentales para la pesquisa y diagnóstico de la sífilis, los cuales son adquiridos generalmente en forma de estuches comerciales.² Recientemente se han descrito y evaluado nuevos sistemas de diagnóstico potencialmente útiles para esta actividad.^{2,14}

El sistema ELISA anti-TmpA de *T. pallidum* utilizado en este trabajo es presentado en forma de un paquete diagnóstico. Al evaluarlo con el panel de sueros recolectados se encontró una sensibilidad general para él de 91.02% y una especificidad de 96.19% (tabla 1).

Los valores obtenidos son aceptables para un método de diagnóstico serológico y comparables con los de otros ensayos ELISA, en los que ha sido usada también la proteína TmpA obtenida por vía recombinante como antígeno.^{10,11}

Las muestras de sueros con niveles de anticuerpos a otras enfermedades infecciosas o autoinmunes, así como de donantes de sangre, embarazadas y ancianos, fueron estudiadas para investigar la posibilidad de reacciones cruzadas no específicas con sífilis al hacer uso de las pruebas no treponémicas, debido a la activación policlonal de la respuesta de anticuerpos. Se detectaron 15 falsos positivos entre las muestras de los pacientes con leptospirosis humana, hepatitis, tuberculosis, diabetes mellitus, fiebre reumática, embarazadas, ancianos y donantes de sangre. Todos ellos tenían resultados reactivos en las pruebas serológicas no treponémicas en diluciones inferiores a 1:8, lo que se corresponde con lo consignado en la bibliografía.^{2,15,16}

Al analizar los resultados de estas mismas muestras de sueros por el ELISA anti-TmpA y compararlos con los del resto de las técnicas serológicas empleadas, se encontró que 7 sueros (2.4%) solo tenían resultado positivo por ELISA, y pertenecían a pacientes con mononucleosis infecciosa, hepatitis y HIV/sida, así como donantes de sangre y un anciano; estos resultados pueden ser considerados como falsos positivos dadas las características del antígeno empleado, el cual fue obtenido por vía recombinante en *E. coli* (enterobacteria de amplia distribución geográfica) y con un nivel de pureza de 90%, por lo que podrían quedar algunos epitopes no específicos.

La ocurrencia de falsos positivos por HATP, como prueba específica, en población saludable se ha informado en menos de 1% de ella. En otros casos los resultados serológicos han sido difíciles de interpretar porque la sífilis puede coexistir con otras infecciones, y por ende no tratarse de reacciones falsas positivas.²

Los valores predictivos para una prueba positiva y una negativa fueron 86.58% y 97.54%, respectivamente (tabla 1). Son aceptables para el ensayo evaluado, lo que es de gran importancia para estudios de factibilidad económica, ya que según esos valores la prueba representa una alternativa útil para la

Tabla 1. Valores de los parámetros cualitativos del sistema ELISA anti-TmpA.

Parámetro	Valor (%)	Rango IC 95% (%)
Sensibilidad	91.02	81.82; 96.01
Especificidad	96.19	93.09; 97.98
Valor predictivo positivo	86.58	76.84; 92.79
Valor predictivo negativo	97.54	94.78; 98.91

Tabla 2. Resultados de la precisión del ensayo ELISA anti-TmpA.

Suero control	Intraensayo (día 1)			Intraensayo (día 2)			Interensayo		
	DO media	DS	CV (%)	DO media	DS	CV (%)	DO media	DS	CV (%)
1	0.455	0.008	1.76	0.492	0.007	1.42	0.473	0.016	3.38
2	0.653	0.045	6.89	0.579	0.033	5.69	0.616	0.040	6.49
3	0.606	0.024	3.96	0.595	0.020	3.36	0.600	0.020	3.33
4	0.576	0.020	3.47	0.647	0.020	3.09	0.611	0.021	3.43
5	0.729	0.056	7.68	0.864	0.017	1.97	0.797	0.040	5.02
6	1.168	0.091	7.79	1.336	0.068	5.09	1.252	0.077	6.15
7	0.110	0.006	5.45	0.113	0.005	4.42	0.111	0.005	4.50
8	0.101	0.003	2.97	0.101	0.003	2.97	0.101	0.003	2.97

DO: densidad óptica; DS: desviación estándar; CV: coeficiente de variación

confirmación serológica de la sífilis.

Los valores de sensibilidad de este sistema ELISA fueron determinados según el estadio clínico de la enfermedad, obteniéndose un valor de 92.10% para sífilis primaria, 100% para sífilis secundaria, 85.75% para sífilis latente reciente y 100% para sífilis congénita.

A pesar de que en este trabajo no fueron incluidos sueros de pacientes con infección latente tardía para la evaluación del sistema, se conoce que entre los principales anticuerpos detectados en esta etapa no se encuentran aquellos contra la proteína TmpA,⁴ quizá pueda ser ésta la causa de que la sensibilidad del ensayo es inferior al detectar la infección latente reciente, pues ya este tipo de anticuerpos ha ido desapareciendo de la sangre de los pacientes.

De forma general, los valores obtenidos se encuentran dentro de los rangos establecidos para sensibilidades de otros métodos treponémicos como FTA-ABS, HATP y FTA-ABS de doble tinción, sobre los cuales se informan en sífilis primaria valores entre 70%-100%, 69%-90% y 69%-90%, respectivamente, para sífilis secundaria 100% y en sífilis latente entre 97%-100% para las tres pruebas. Igualmente ocurre con la especificidad, que en los informes alcanza valores entre 94%-100%. Estos resultados provienen de estudios del Centro para el Control de Enfermedades de Atlanta (CDC).²

En el grupo de pacientes estudiados con sífilis primaria se detectó uno que se encontraba aún en la etapa preserológica, pues teniendo un EDCO positivo a partir de la linfa de la lesión examinada, todas las pruebas serológicas fueron negativas, lo que demuestra que los métodos serológicos carecen de sensibilidad para detectar la sífilis primaria temprana.

También se encontró un paciente con EDCO y VDRL/RPR positivo pero donde la HATP y el ELISA evaluado eran negativos, lo que indicaba que estas pruebas comienzan a detectar anticuerpos específicos más tardíamente que las pruebas no treponémicas; y en otro paciente se pudo observar, incluso, que el ELISA se positivizó después que la HATP.

Ijsselmuiden y col., al evaluar un ELISA utilizando la

proteína TmpA purificada a partir de *E. coli*, encontraron una sensibilidad de 76% para sífilis primaria, 100% para sífilis secundaria y 98% para sífilis latente reciente,¹⁰ discrepando los resultados para sífilis primaria y latente reciente con los obtenidos en este trabajo.

El objetivo de cualquier método de laboratorio es proporcionar resultados confiables y altamente repetibles. En los ensayos ELISA se introducen múltiples pasos y oportunidades de error, y la complejidad de la reacción antígeno-anticuerpo y la reacción enzima-sustrato contribuyen a la variabilidad.

En la tabla 2 se detallan los resultados del estudio de la precisión del ensayo ELISA anti-TmpA con las muestras estudiadas.

Como se puede observar, los coeficientes de variación entre los

resultados de los sueros al realizar los ensayos de precisión fueron inferiores al 10%, lo que demuestra buena repetibilidad y reproducibilidad de las pruebas.

Los resultados obtenidos indican que el ensayo ELISA anti-TmpA recombinante es sensible, específico, preciso, de fácil aplicación como técnica automatizada y útil en la confirmación de gran número de muestras de individuos con serologías no treponémicas reactivas.

Islay Rodríguez González

Copyright © Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC), 2004

Bibliografía

- Dallabeta GA, Laga M, Lamptey RP. El control de las enfermedades de transmisión sexual: un manual para el diseño y la administración de programas. New York: AIDSCAP, Family Health International, 1997: 1-348
- Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995; 8(1): 1-21
- Larsen SA, Hambie EA, Cruce DD. Review of the standard tests for syphilis and evaluation of a new commercial ELISA, the syphilis Bio-EnzaBead test. J Clin Lab Anal 1987; 1: 300-07
- Ebel A, Bachelart L, Alonso JM. Evaluation of a new competitive immunoassay (BioELISA Syphilis) for screening for Treponema pallidum antibodies at various stages of syphilis. J Clin Microbiol 1998; 36(2): 358-61
- Castro R, Prieto ES, Santo I y col. Evaluation of an enzyme immunoassay technique for detection of antibodies against Treponema pallidum. J Clin Microbiol 2003; 41(1): 250-53
- Fujimura K, Ise N, Ueno E y col. Reactivity of recombinant Treponema pallidum (r-Tp) antigens with anti-Tp antibodies in human syphilitic sera evaluated by ELISA. J Clin Lab Anal 1997; 11: 315-22
- Young H, Moyes A, Seagar L y col. Novel recombinant-antigen enzyme immunoassay for serological diagnosis of syphilis. J Clin Microbiol 1998; 36(4): 913-17
- Hansen EB, Pedersen PE, Schouls LM y col. Genetic characterization and partial sequence determination of a Treponema pallidum operon expressing two immunogenic membrane proteins in Escherichia coli. J Bacteriol 1985; 162(3): 1227-37

© Atención al Lector: Las referencias bibliográficas de los artículos originales, información complementaria y otros detalles o consultas pueden solicitarse a SIIC <atencionlector@siicsalud.com> o ingresando en <www.siicsalud.com>.