

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”
LABORATORIO NACIONAL DE ESPIROQUETAS**



**“SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa
rápida de sífilis venérea en diferentes
niveles de atención en salud”**



**Trabajo para optar por el título de Máster en
Bacteriología-Micología**

Dra. Ivet Maylin Domínguez Choy

**La Habana
2014**

**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL “PEDRO KOURÍ”
LABORATORIO NACIONAL DE ESPIROQUETAS**



**“SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa
rápida de sífilis venérea en diferentes
niveles de atención en salud”**

**Trabajo para optar por el título de Máster en
Bacteriología-Micología**

Autora: Dra. Ivet Maylin Domínguez Choy

Tutor: Lic. Islay Rodríguez González, Dr. C

Asesora: Lic. Alicia Reyes Jiménez, MSc

La Habana

2014

➤ *La mejor ayuda es el esfuerzo propio, porque todos pueden triunfar sin nuestra ayuda, excepto nosotros mismos.*

Fernando Fernández

DEDICATORIA

- *A mi padre, por haber sido siempre un ejemplo a seguir, y que fue, es y será: guía y baluarte infalible de mi espíritu profesional. Que me enseñó a comprometerme con mi trabajo para lograr ser cada día una mejor persona, y que edificó en mí: el anhelo de bregar e investigar en cada instante por obtener un excelente bienestar para mis pacientes y colegas.*

AGRADECIMIENTOS

Mi gratitud más sincera al Departamento de Docencia y de Bacteriología-Micología, por contribuir de manera desmedida en mi formación profesional como especialista y máster en ciencias.

A la Lic. María Isabel Chao y la Dra. Nereyda Cantelar de Francisco, quienes me orientaron y aconsejaron durante el proceso docente.

A un amigo como Lázaro por su tolerancia y ayuda incondicional.

A mis compañeros de residencia por ser los protagonistas de momentos inolvidables en especial a mis amigas Elizabeth y Giselle, por el apoyo, cariño y por sobre todas las cosas soportar mis malos momentos.

A mi tutor, Dr. C Islay Rodríguez, por toda su entrega, dedicación y hacer de esta investigación como si fuera suya.

A la Lic. Alicia Reyes porque no dudó ni un instante cuando se le propuso formar parte de esta investigación.

Al colectivo de trabajo del laboratorio de Espiroquetas por la estancia tan agradable que me proporcionaron.

A la Dra. C María Eugenia Toledo, al Dr. Orestes Blanco y a la Ing. Idalmis Sánchez por toda la ayuda ofrecida.

Al colectivo de trabajo del laboratorio de Microbiología del Hospital Gineco-Obstétrico "Eusebio Hernández" en especial a la Dra. Ana Berta y de los policlínicos "Luis Galván" y "Joaquín Albarrán", del municipio de Centro Habana a las Lic. Cecilia Méndez y Madelyn Guillot.

A mi esposo, por su amor, paciencia y que incondicionalmente siempre me ofrece su apoyo y comprensión.

A mi familia por estar siempre a mi lado, en especial a mis padres.

A todos, Muchas gracias.

ABREVIATURAS

Cecmed: Centro Estatal para el Control de la Calidad de los Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos

DFA-TP: Siglas en inglés *Direct Fluorescent Assay for Treponema pallidum*

ELISA: Siglas en inglés *Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay*

FTA-Abs: Siglas en inglés *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*

HSH: Hombres que tienen sexo con hombres

IC: Intervalo de confianza

ITS: Infección de transmisión sexual

K: Índice de Kappa

LCR: Líquido cefalorraquídeo

LNE-IPK: Laboratorio Nacional de Espiroquetas del Instituto “Pedro Kouri”

OMS: Organización Mundial de la Salud

PCR: Siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*

RPR: Siglas en inglés *Rapid Plasma Reagin*

RV-: Razón de verosimilitud negativa

RV+: Razón de verosimilitud positiva

TPHA/MHA-Tp: Siglas en inglés *MicroHemAgglutination test for antibodies to Treponema pallidum*

TP-PA: Prueba de Aglutinación de Partículas contra *Treponema pallidum*

VDRL: Siglas en inglés *Venereal Disease Research Laboratory*

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

RESUMEN

La sífilis es una infección de transmisión sexual que para su control y vigilancia requiere de pruebas de pesquisa confiables y las pruebas rápidas son una excelente alternativa. Con el objetivo de evaluar la prueba rápida SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa de sífilis venérea, se realizó una investigación de servicios y sistemas para la validación de la misma en sangre y suero humano en los diferentes niveles de atención en salud en La Habana, en el periodo de octubre-diciembre de 2012, y paralelamente se realizó la descripción de los costos directos de la aplicación de esta prueba. A las muestras de sueros se les realizó de manera simultánea VDRL y TPHA. El diagnosticador SD BIOLINE Syphilis 3.0 presentó parámetros de desempeño aceptables en muestras de sueros de individuos de los diferentes niveles de atención en salud; la concordancia entre los resultados obtenidos al emplear suero y sangre fue de 100%. Se constató que la prueba es económica, siendo menores los costos directos al emplear sangre. Los resultados obtenidos sugieren el uso de este sistema como pesquisa de sífilis en el sistema cubano de salud pública.

ÍNDICE	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	1
I.1 OBJETIVOS	4
II. MARCO TEÓRICO	5
II.1 Antecedentes históricos de la sífilis.....	5
II.2 Agente causal, ubicación taxonómica y características generales.....	6
II.3 Patogenia	8
II.4 Manifestaciones clínicas	9
II.5 Sífilis congénita	10
II.6 Relación de la sífilis y la infección por el VIH	11
II.7 Tratamiento	11
II.8 Situación actual de la sífilis	12
II.9 Diagnóstico	13
II.9.1 Diagnóstico directo	13
II.9.2 Diagnóstico indirecto.....	15
II.10 Evaluación económica	20
II.11 Los costos	21
III. CONTROL SEMÁNTICO	23
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	24
IV.1 Diseño del estudio	24
IV.2 Marco de la investigación	24
IV.3 Universo de trabajo y muestra	24
IV.4 Recolección de la información	25
IV.5 Recolección de las muestras	25
IV.6 Procedimientos de las pruebas serológicas.....	26
IV.6.1 SD BIOLINE Syphilis 3.0	26
IV.6.2 VDRL.....	27
IV.6.3 TPHA.....	29
IV.8 Análisis estadístico	32

IV.9 Consideraciones éticas de la investigación	33
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
V.1 Validación de la prueba comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa rápida de anticuerpos contra <i>Treponema pallidum</i> en las muestras de suero y sangre de los pacientes objetos de estudio en los diferentes niveles de atención en salud	35
V.2 Descripción de los costos de la aplicación de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la detección de anticuerpos contra <i>T. pallidum</i> en sangre y suero	47
V.3 Consideraciones generales	50
CONCLUSIONES	53
RECOMENDACIONES	54
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	55
ANEXOS	

I. INTRODUCCIÓN

La sífilis es una infección de transmisión sexual (ITS) que, superada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, tiene efectos devastadores para la humanidad ⁽¹⁾. A principios del siglo XX se reconoce como una importante causa de enfermedad neurológica y cardíaca en los Estados Unidos de América, pero la introducción de la terapia con penicilina durante la década de los años '40 disminuye su incidencia de manera espectacular. Sin embargo, a partir de la década de los '80 la notificación de casos aumenta en todo el mundo. Este incremento se atribuye a la infección por el VIH y al cambio en las prácticas sexuales; no obstante, a pesar de que la sífilis puede prevenirse con prontitud y tratarse de manera efectiva, persiste como un importante problema de salud ⁽²⁾.

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) cada año ocurren en el mundo alrededor de 12 millones de casos nuevos de sífilis, transmitida por vía sexual; de ellos, alrededor de 140 000 se notifican en Europa del este, 370 000 en África del norte y del medio este, 240 000 en el este de Asia y el Pacífico, 100 000 casos en Norteamérica y 3 000 000 en Latinoamérica y el Caribe ⁽³⁾.

Durante la década del 2000, Cuba muestra un descenso en la notificación de casos de sífilis; sin embargo, a partir del año 2010, el número de enfermos aumenta y alcanza una tasa de incidencia de 23,48/100 000 habitantes en 2012 ^(4,5).

La sífilis es una infección crónica sistémica, caracterizada por varias etapas bien definidas, separadas por periodos de latencia ⁽⁶⁾. Su agente etiológico, *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*, es una espiroqueta no cultivable ⁽⁷⁾ que necesita para su detección de métodos alternativos al cultivo ^(8,9).

Para establecer su diagnóstico se requiere de pruebas directas e indirectas. Las directas, demuestran el agente causal y las indirectas detectan en el suero anticuerpos inespecíficos y específicos contra este microorganismo ⁽¹⁰⁾. La OMS recomienda para el diagnóstico de la sífilis, la combinación de métodos serológicos no treponémicos como la RPR (siglas en inglés de Rapid Plasma Reagin) y el VDRL (siglas en inglés de Venereal Disease Research Laboratory) y treponémicos como la FTA-Abs (siglas en inglés de Fluorescent Treponemal Antibody Absorption), el ELISA (siglas en inglés de Enzyme-Linked Immune Sorbent Assay) y la TPHA/MHA-Tp (siglas en inglés de MicroHemAgglutination test for antibodies to *T. pallidum*) ^(11,12).

La sensibilidad y especificidad de los métodos serológicos treponémicos varían según el estadio clínico de la enfermedad. Sus limitaciones se deben a la complejidad de las técnicas, y a los equipos requeridos, en especial para la FTA-Abs, que precisa de un microscopio de fluorescencia. Las técnicas TPHA/MHA-Tp, aunque no requieren de este tipo de observación microscópica necesitan de equipos eléctricos adicionales ⁽¹³⁾.

Las pruebas rápidas para la sífilis se ubican entre las pruebas treponémicas y al compararlas con las pruebas estándares, la FTA-Abs y TPHA/MHA-Tp, aunque muestran una sensibilidad y especificidad similares, no alcanzan 100% de especificidad, lo que las colocan en desventajas como pruebas confirmatorias ⁽¹⁴⁾; no obstante, por su fácil ejecución, el no requerimiento de un equipo especial, el poco entrenamiento necesario para su realización, la facilidad para conservar los reactivos, su bajo costo y alta sensibilidad, constituyen una alternativa valiosa como prueba diagnóstica inicial ^(15,16).

Las pruebas rápidas son sencillas, se realizan en el consultorio médico y pueden utilizarse en todos los entornos de la asistencia sanitaria, con el objetivo de administrar un tratamiento inmediato, superando así los problemas de la falta de

acceso a un laboratorio y las bajas tasas del regreso de los pacientes al consultorio ⁽³⁾.

Hasta ahora, en Cuba, no ha sido posible la evaluación ni la incorporación de las pruebas rápidas que permiten una mejor orientación en el diagnóstico de la sífilis en el consultorio y al mismo tiempo propiciarán la aplicación de un tratamiento inmediato. El presente trabajo se propone evaluar la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0, un ensayo inmunocromatográfico en fase sólida para la detección cualitativa de anticuerpos de los isotipos IgG, IgM e IgA contra *T. pallidum*. Esta validación será de gran importancia porque permitirá la disponibilidad de un nuevo diagnosticador específico para la vigilancia de la sífilis en Cuba.

I.1 OBJETIVOS

- 1- Validar la prueba comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa rápida de anticuerpos contra *T. pallidum* en muestras de suero y sangre de pacientes objeto de estudio en los diferentes niveles de atención en salud.
- 2- Describir los costos de la aplicación de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la detección de anticuerpos contra *T. pallidum* en sangre y suero.

II. MARCO TEÓRICO

II.1 Antecedentes históricos de la sífilis

La sífilis debe su nombre al pastor Syphilus del poema escrito por el médico y filósofo Girolamo Fracastoro (1483-1553) titulado "*Syphilis sive morbus gallicus*", publicado en 1530 ⁽¹⁾; también se conoce como *Lúes*, que significa epidemia en latín ⁽¹⁷⁾.

Según algunos autores, esta enfermedad se describe en China desde el año 1122 a.n.e. Para otros, existía en América antes del arribo de los españoles, llega a Europa y se propaga a finales del siglo XV tras el sitio infructuoso de Nápoles en 1495 por las tropas francesas de Carlos VIII ⁽¹⁸⁾. Independiente de su origen, no hay dudas de que una gran epidemia de sífilis desbasta a Europa durante los siglos XV y XVI, suceso que ocasiona miles de fallecidos, por no existir una terapéutica eficaz ^(1,19).

Las características clínicas de la sífilis se precisan por Fournier en 1904; un año después (1905), el trabajo realizado por el zoólogo Fritz Schaudinn y el dermatólogo Erich Hoffmann, identifica, en una lesión de sífilis secundaria, un organismo espiral al que denominan *Spirochaeta pallida*. Sin embargo, aunque Roux describe con anterioridad al agente causal de la sífilis, no lo informa, algo que hacen Schaudinn y Hoffman ⁽¹⁸⁾. En 1913, Noguchi demuestra la presencia de las espiroquetas en el cerebro de un paciente con parálisis progresiva ⁽¹⁷⁾.

August von Wasserman inventa la primera prueba de sangre para detectar la sífilis, pero no se dispone de un tratamiento eficaz hasta 1943, cuando la penicilina, descubierta en 1928, por el bacteriólogo británico Alexander Fleming se utiliza por primera vez con buenos resultados para el tratamiento de esta

enfermedad, pero alcanza su éxito en la década de 1950, al obtenerse un marcado descenso en la incidencia y prevalencia de la sífilis durante los años 1956-1958⁽²⁰⁾. No obstante, a pesar de ese descenso, desde el año 1970 ocurre un alza a escala mundial⁽²¹⁾. En la actualidad, esta entidad se considera un problema de salud que amenaza a diferentes países y a pesar de ser una infección evitable, tratable y curable con la penicilina desde hace más de 50 años, este fármaco se considera aun el antibiótico más eficaz para su tratamiento⁽²²⁾.

II.2 Agente causal, ubicación taxonómica y características generales

Treponema pallidum subespecie *pallidum* es la espiroqueta del género *Treponema* causante de la enfermedad conocida como sífilis venérea o *Lúes* y de acuerdo con el Manual de Bergey se ubica taxonómicamente en:

Phylum B XVII. Spirochaetes phy. Nov.

Clase I. Spirochaetes

Orden I. Spirochaetales

Familia I. Spirochaetaceae

Género IX. *Treponema*⁽²³⁾

Este género incluye, además, otras especies patógenas humanas tales como: *T. pallidum* subespecie *endemicum*, agente etiológico de la sífilis endémica o bejel; *T. pallidum* subespecie *pertenue*, agente etiológico del pian o frambesia y *T. carateum*, agente etiológico de la pinta o mal de pinto. Las mismas son indistinguibles desde el punto de vista morfológico y antigénico. Su individualización se debe a las características clínicas y epidemiológicas, así como a su distribución geográfica. Las especies comensales forman parte de la microbiota normal de las mucosas en muchos animales y la mayoría se cultivan⁽⁶⁾. En el hombre se describen varias especies en la cavidad oral como *T. vincentii*, que puede transformarse en patógeno y producir la angina de Vincent cuando aumenta su número y se asocia con los bacilos fusiformes de la boca⁽²⁴⁾; *T. refringens* y *T. phagedenis*, cuya variedad de fácil cultivo (*treponema* de Reiter)

es de utilidad para el estudio serológico de la sífilis. La especie patógena tipo de este género es *T. pallidum*, cepa Nichols ⁽⁶⁾.

El nombre *Treponema* deriva de las palabras griegas *trepo* y *nema*, que significan hilo que gira ⁽²⁵⁾. *T. pallidum* es una bacteria espirilar delgada, mide 0,1 a 0,2 μm de ancho y de 5 a 20 μm de longitud y puede observarse solo por microscopía de campo oscuro. Presenta entre 4 a 14 vueltas de espira de igual tamaño, espaciadas por una distancia de 1 μm , que aumentan en periodicidad y disminuyen en amplitud hacia los extremos, dando a la célula una forma afilada (como un sacacorchos invertido) ⁽⁶⁾. Por lo regular, el eje largo de la espiral es recto, pero a veces puede estar inclinado, dándole en algunos momentos la forma de un círculo completo y después retorna a su posición recta normal ⁽²⁶⁾.

Posee tres fibrillas axiales insertadas en cada extremo del cilindro protoplasmático, que se superponen en la porción media del organismo. Se demuestra la presencia de una capa viscosa por fuera de la membrana externa, compuesta por macromoléculas del hospedero, hecho que contribuye a su virulencia y explica la no reactividad de treponemas frescos, recién aislados ⁽²⁷⁾. No se tiñe con los colorantes de anilina pero sí con Giemsa y los métodos de impregnación argéntica, como el Fontana-Tribondeau ⁽⁶⁾. Es microaerófilo y sobrevive durante un periodo prolongado en una atmósfera con 3 a 5% de oxígeno. No es posible cultivar *in vitro* a los treponemas patógenos, aunque se pueden mantener entre 4 a 7 días a 25 °C en un medio anaerobio con albúmina, bicarbonato de sodio, piruvato, cisteína y un ultrafiltrado de suero bovino ⁽²⁵⁾.

En una suspensión líquida apropiada y en presencia de sustancias reductoras *T. pallidum* puede manifestar movilidad durante 3 a 6 días a 25 °C. En sangre total o plasma almacenada a 4 °C permanece viable al menos 24 horas, una propiedad importante en las transfusiones sanguíneas. Es sensible a la penicilina y puede

reactivarse por compuestos con grupos sulfidrilos (-SH), por ejemplo, la cisteína o BAL (dimercaprol) ⁽²⁶⁾.

II.3 Patogenia

La sífilis es una enfermedad infectocontagiosa curable, su transmisión es de predominio sexual, aunque también puede pasar de la madre al hijo durante el embarazo ⁽¹⁴⁾ y por el contacto directo de las lesiones infectantes con las membranas mucosas o la piel del susceptible ⁽²⁸⁾.

Treponema pallidum atraviesa rápido las mucosas íntegras o las erosiones microscópicas de la piel; pocas horas después, penetra en los vasos linfáticos y en la sangre, produciendo una infección generalizada con focos metastásicos alejados antes de que aparezca la lesión primaria (chancro sifilítico o chancro duro). Se calcula que el tiempo de reproducción *in vivo* de *T. pallidum* durante la fase activa de la sífilis precoz es de 30 a 33 horas, y su periodo de incubación es inverso desde el punto de vista proporcional al número de microorganismos inoculados. La lesión primaria surge en el sitio de inoculación y el examen histológico de la misma muestra una infiltración perivascular, junto con una proliferación del endotelio capilar, seguida de la oclusión de los pequeños vasos sanguíneos. Al final, los macrófagos activados fagocitan y destruyen a los microorganismos, lo que produce la desaparición espontánea del chancro. Las manifestaciones generales parenquimatosas y mucocutáneas de la sífilis secundaria suelen aparecer unas 6 a 8 semanas después de curarse el chancro ⁽²⁹⁾ aunque, en 15% de los pacientes con sífilis secundaria, el chancro persiste o está en vías de resolución ⁽³⁰⁾. En otros pacientes, las lesiones secundarias aparecen varios meses después de curar el chancro, y algunos casos pueden pasar a la fase latente sin tener nunca lesiones secundarias identificables. Las lesiones secundarias remiten entre 2 a 6 semanas, y después la infección pasa por una fase latente ⁽²⁹⁾. En 30% de los casos, después de 7 a 20 años, el paciente puede evolucionar a la fase terciaria caracterizada por manifestaciones cutáneas o

viscerales, sobre todo cardiovasculares y nerviosas, dado por una alteración del equilibrio entre el microorganismo y los mecanismos de defensa establecidos, o por la alteración de la inmunidad celular asociada con la edad ⁽⁶⁾.

II.4 Manifestaciones clínicas

Por su forma variable de presentación clínica, la sífilis se le conoce con el nombre de “la gran simuladora o impostora” ⁽³¹⁾ y se clasifica en las siguientes etapas:

- Sífilis adquirida temprana (con menos de un año de evolución): primaria, secundaria y latente reciente.
- Sífilis adquirida tardía (con más de un año de evolución): latente tardía y terciaria.
- Sífilis congénita temprana (casos diagnosticados antes de los dos años de edad).
- Sífilis congénita tardía (casos diagnosticados después de los dos años de edad) ⁽²⁹⁾.

La sífilis adquirida temprana es muy infectante, las lesiones son resolutivas, puede tener reinfecciones y no hay peligro para la vida del paciente; mientras que, la sífilis adquirida tardía ya no es contagiosa, las lesiones no son resolutivas, no hay reinfección y sí hay peligro para la vida del paciente ⁽³²⁾.

Tras un periodo de incubación de 10 a 90 días (promedio 21 días) ⁽³³⁾, aparece en el lugar de inoculación una lesión primaria, rica en treponemas (el chancro), que desaparece de modo espontáneo a las pocas semanas. En hombres el chancro suele localizarse con frecuencia en el glande o en el surco balano prepucial, en la mujer es más común en los labios menores, paredes vaginales o en el cuello uterino, razón por la que en mujeres expuestas al contagio, es imprescindible la realización del examen ginecológico con espéculo. Las lesiones de inoculación en otras partes del cuerpo (boca, dedos, tórax, entre otras) son raras, pero posibles. Durante este primer estadio, conocido como sífilis primaria, *T. pallidum* se multiplica en los linfáticos regionales distribuyéndose por la sangre a todos los

órganos del individuo (infección sistémica) ⁽³⁴⁾. En el paciente no tratado, el segundo estadio comienza con la aparición de una de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad tras 6 a 8 semanas después de iniciado el chancro: una erupción en piel, palmas y plantas, la roseola sifilítica, acompañada de síntomas generales y, a menudo, de otros signos localizados (condilomas genitales) ⁽⁶⁾. Tras la primera desaparición espontánea de la misma y durante el primer y segundo año, pueden aparecer brotes similares cada vez de menor intensidad (fase de latencia tardía) ⁽²⁹⁾. El tercer estadio de la enfermedad, que solo se presenta en unos pocos pacientes, se caracteriza por la formación de lesiones granulomatosas destructivas (gummas) que tienen escasa carga treponémica. En este periodo pueden aparecer síntomas y signos de focalización de la enfermedad; neurosífilis, sífilis cardiovascular, etc ⁽³⁵⁾.

II.5 Sífilis congénita

La transmisión de *T. pallidum* de una mujer sifilítica al feto por la vía transplacentaria a través de las vellosidades coriales, puede producirse en cualquier momento del embarazo, pero las lesiones de la sífilis congénita se desarrollan casi siempre, después del cuarto mes de la gestación, cuando el feto comienza a ser inmunocompetente. El riesgo de la infección depende del estadio de la infección materna, de la edad gestacional y del número de treponemas. La sífilis primaria o secundaria no tratada se transmite, no así la sífilis latente y la sífilis terciaria ⁽²⁰⁾. La sífilis congénita fulminante es la única que se manifiesta en el momento del alumbramiento, cuando el lactante nace vivo y su pronóstico es muy desfavorable. Según su momento de aparición, las lesiones de la sífilis congénita pueden dividirse en tres clases: 1) precoces, las que aparecen en los dos primeros años de vida (a menudo entre las 2 y 10 semanas de la vida); son contagiosas y similares a las manifestaciones de la sífilis secundaria grave del adulto; 2) tardías, que aparecen pasados los dos años de edad y no son contagiosas, y 3) los estigmas residuales ⁽²⁹⁾.

II.6 Relación de la sífilis y la infección por el VIH

El sello de la enfermedad causada por el VIH es la profunda inmunodeficiencia, derivada del déficit progresivo, cuantitativo y cualitativo de los linfocitos T ⁽²⁹⁾. En los casos donde ambas enfermedades concomitan, la evolución clínica de la sífilis dependerá en gran medida del grado de inmunodeficiencia presente ⁽³⁶⁾. La infección por el VIH facilita la transmisión de la sífilis, puede acelerar y cambiar el cuadro clínico, la respuesta al tratamiento y alterar el diagnóstico serológico ⁽³⁷⁾.

En los pacientes con infección por el VIH, la sífilis se presenta de forma atípica y de un modo más radical. La sífilis primaria, en un número considerable de casos, puede ser asintomática y la lesión inicial es extragenital. Sin embargo, la sífilis secundaria y la infección latente son las formas más habituales de presentación en estos pacientes. Las lesiones cutáneas en pacientes con VIH son la manifestación más común del secundarismo luético y, aunque se puede presentar con las lesiones típicas, la erupción es atípica y puede tener manifestaciones sistémicas más floridas. Aunque la afección del sistema nervioso central en los individuos con el VIH es con frecuencia asintomática, la clínica es muy diversa. Las manifestaciones cardiovasculares, que suelen aparecer en la fase terciaria, son raras, quizás por el relativo corto tiempo de evolución desde el inicio de la epidemia del VIH ⁽³⁸⁾.

II.7 Tratamiento

Con el advenimiento de la penicilina en los años 1940 ⁽⁶⁾ y su uso para el tratamiento de la sífilis, este fármaco persiste como el medicamento de elección para todos los estadios de la enfermedad. Las preparaciones utilizadas como la penicilina benzatínica, procaínica o cristalina, así como la dosis y duración del tratamiento, dependerán del estadio y las manifestaciones clínicas de la enfermedad ^(28,35). En los casos alérgicos a la penicilina se indica la doxiciclina, la tetraciclina o la eritromicina, aunque estos antibacterianos son menos efectivos y

podieran producir fallos en el tratamiento, por lo que, en estos casos se recomienda un seguimiento clínico estricto ^(6,26).

A partir de las técnicas de tipaje molecular se describen marcadores *in vitro* de resistencia a los macrólidos, específicamente para la azitromicina, que muestran los subtipos de resistencia implicados. Esto ayuda a dilucidar los mecanismos de resistencia pero los datos son aun insuficientes ^(39,40).

II.8 Situación actual de la sífilis

La sífilis es una ITS de declaración obligatoria. Constituye un importante problema de salud en varias regiones del mundo ⁽⁴¹⁾. Su epidemiología varía en los últimos años, pues se observa un resurgimiento de la sífilis primaria y secundaria entre los hombres y las mujeres heterosexuales, situación que lleva también a un dramático incremento de la sífilis congénita ⁽⁴²⁾. Esta enfermedad tiene una amplia distribución ⁽¹⁾. Prevalece, por lo general, en las zonas urbanas y marginales, donde el acceso a los cuidados de salud es limitado ⁽⁴²⁾. Los jóvenes con actividad sexual activa constituyen un factor de riesgo importante ⁽⁴³⁾, y en los últimos años, los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) muestran un mayor número de casos. Aunque la sífilis no tiene predilección sexual, se notifica más en los varones ⁽³⁶⁾.

Durante los últimos años se registran brotes en varios países, incluso en naciones desarrolladas como Canadá, donde el número de casos notificado en 1999 es de dos y asciende a 267 casos en 2009, un aumento quizás relacionado con la promiscuidad sexual, sobre todo, entre las personas con edades comprendidas entre 15-35 años ^(31,44). En Latinoamérica, entre 1995 y 1999, el número de casos nuevos por año se eleva desde 1,26 millones a 2,93, ocupando el tercer lugar en el mundo ⁽⁴⁵⁾.

Cuba no está exenta de la realidad mundial y a pesar de ubicarse hasta 1971 entre los países con las tasas de incidencia más bajas del continente americano,

desde 1970 hasta 1980, la cifra de enfermos se eleva siete veces y las tasas ascienden desde 7,2 hasta 44,7 por 100 000/habitantes, cifra que se incrementa de forma progresiva y alcanza una tasa de 143,3 en 1997, con 15 814 casos notificados. En los últimos cuatro años las cifras superan los 1 600 casos, donde la provincia de La Habana notifica 430 casos nuevos para el año 2011, con una tasa de 20,3/100 000/habitantes, situándose como la provincia de mayor tasa en Cuba⁽⁵⁾. El fenómeno asociado con este incremento se debe a una liberación en las relaciones sexuales, con cambios frecuentes de pareja sin protección, a esta situación se suman: el comienzo temprano de las relaciones sexuales y la coinfección con otras ITS, que elevan el riesgo en la población, sobre todo entre los individuos más jóvenes⁽⁴²⁾.

II.9 Diagnóstico

Para el diagnóstico de la sífilis se deben evaluar los criterios clínicos, epidemiológicos y de laboratorio, al menos deben estar presentes dos y uno de ellos debe ser el del laboratorio. Las pruebas de diagnóstico del laboratorio se agrupan en dos categorías: directas e indirectas⁽¹⁰⁾.

Entre las muestras a utilizar se encuentra la linfa de las lesiones primarias y secundarias, el líquido cefalorraquídeo (LCR), el suero, las biopsias de las lesiones y el líquido amniótico⁽⁶⁾. A esta se añaden: la sangre periférica, los granulocitos purificados y la eyaculación de los pacientes con sífilis⁽⁴⁶⁾.

II.9.1 Diagnóstico directo

Examen directo en campo oscuro

Constituye el único método inmediato y específico para el diagnóstico de la sífilis a partir de la identificación positiva de *T. pallidum*, mediante el uso de muestras procedentes de un individuo infectado⁽⁴⁷⁾. Un resultado positivo es una evidencia definitiva de sífilis si la infección con otros treponemas puede excluirse. Sin

embargo, esa exactitud está limitada por la experiencia del personal que realiza la prueba, el número de treponemas viables en la lesión y la presencia de treponemas no patógenos en las lesiones orales y anales ⁽⁴⁸⁾. Los estudios en campo oscuro son útiles durante la sífilis primaria y secundaria, en las recaídas infecciosas y en la sífilis congénita temprana, pues el enfermo presenta lesiones húmedas (chancro, condiloma o placas mucosas) que tienen un número elevado de treponemas ⁽⁴⁷⁾. Un resultado negativo en el examen directo del producto de la lesión no descarta la enfermedad, ya que pueden existir pocos treponemas en la misma, en dependencia de los días de evolución y de la administración de un tratamiento previo ⁽⁴⁸⁾.

Inmunofluorescencia directa

En la detección de *T. pallidum* por anticuerpos fluorescentes (DFA-TP, siglas en inglés de Direct Fluorescent Assay for *T. pallidum*) se utiliza la linfa de las lesiones, coloreada con un suero antitreponémico marcado con fluoresceína, observándose por microscopía de fluorescencia las típicas espiroquetas ⁽⁶⁾. Los conjugados empleados en esta técnica son específicos para las cepas patógenas de *T. pallidum*, por lo que la DFA-TP se aplica a las muestras obtenidas de las lesiones orales, rectales o intestinales. Esta técnica detecta y diferencia a los treponemas patógenos de los no patógenos, mediante una reacción antígeno-anticuerpo y no requiere del microorganismo móvil para su realización. Presenta, además, la ventaja frente al campo oscuro de que no requiere examinarse en el momento de la toma y es más específica ⁽⁴⁸⁾.

Inmunoperoxidasa

La tinción con inmunoperoxidasa permite demostrar la presencia de espiroquetas en los tejidos fijados con formaldehído, en las muestras obtenidas de pacientes con sífilis secundaria, esta técnica es más sensible que algunos métodos convencionales y puede usarse como prueba confirmatoria en los casos de sífilis secundaria ⁽⁴⁹⁾.

Inoculación animal

Constituye el estándar de oro para la detección de *T. pallidum*. Es una técnica muy sensible se usa para medir la sensibilidad de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, siglas en inglés de Polymerase Chain Reaction)⁽⁴⁸⁾. En general, la inoculación animal no se justifica y si fuera necesaria, el animal de elección sería el conejo y las vías de inoculación más utilizadas son la intratesticular, además de la intradérmica, ocular, intravenosa y escrotal⁽⁴⁷⁾.

Técnicas de biología molecular

Lo más novedoso en el diagnóstico bacteriológico de esta enfermedad, es el uso de la PCR, una técnica surgida con el desarrollo de la biología molecular, que permite detectar el material genético de *T. pallidum* en varios tipos de muestras clínicas⁽⁵⁰⁾. Las más utilizadas se basan en la detección de dos genes: el *tpN47* que codifica para la proteína de membrana de 47 kDa⁽³¹⁾ y el *poIA* que codifica para la ADN polimerasa I⁽⁵¹⁾. La PCR dirigida al gen de la proteína de 47 kDa se usa para detectar *T. pallidum* en las células mononucleares de la sangre periférica, las lesiones, el suero, los granulocitos purificados y la eyaculación de los pacientes con sífilis manifiesta o latente, concluyéndose que las lesiones en la piel y las células mononucleares de sangre periférica son fuentes adecuadas para el diagnóstico de la sífilis⁽⁴⁶⁾.

II.9.2 Diagnóstico indirecto

Durante muchas décadas el serodiagnóstico constituye la herramienta fundamental en la evaluación de los pacientes sospechosos de padecer sífilis⁽⁵²⁾. Se utilizan dos tipos principales de pruebas serológicas: las no treponémicas o inespecíficas para la detección de anticuerpos no específicos o “reagínicos”, que reaccionan con antígenos no treponémicos y las treponémicas o específicas que utilizan un antígeno treponémico para la detección de anticuerpos treponémicos⁽⁵³⁾. Estas pruebas se diferencian en los antígenos utilizados y en el tipo de anticuerpo a determinar⁽⁵⁴⁾.

II.9.2.1 Pruebas no treponémicas

En estas pruebas se utiliza como antígeno la cardioplipina purificada, extraída del corazón de buey. La cardioplipina es un fosfatidilglicerol que requiere la adición de lecitina y colesterol o de otros sensibilizadores para reaccionar con la reagina. La reagina está constituida por una mezcla de anticuerpos IgM e IgG capaces de reaccionar contra antígenos distribuidos en los tejidos normales, y se encuentra en el suero del paciente a partir de la segunda o la tercera semana del inicio de la enfermedad no tratada y en el LCR entre la cuarta y la octava semana ⁽⁶⁾.

En general, las pruebas no treponémicas son, sensibles, sencillas y baratas. De acuerdo con la manera de detectar los complejos antígeno-anticuerpo, se dividen en dos grupos: las pruebas no treponémicas de fijación del complemento, como la de Kolmer (actualmente en desuso) y las no treponémicas de floculación ⁽⁴⁷⁾.

VDRL y RPR

Las pruebas no treponémicas de floculación más utilizadas son el VDRL y la RPR, ambas útiles en el diagnóstico y evaluación de la eficacia de los tratamientos. Estas técnicas poseen una alta sensibilidad, pero una baja especificidad, recomendándose que toda reactividad se confirme mediante otro método treponémico de mayor especificidad ⁽⁴⁸⁾. Ambas tienen como inconveniente una elevada ocurrencia de reacciones falsas positivas ⁽⁵⁵⁾, también llamados falsos biológicos positivos, y deben considerarse siempre ante una serología positiva; en ocasiones, son el primer indicio de una enfermedad sistémica de tipo inmunológica. Su incidencia depende de la prueba utilizada y de la población estudiada ⁽⁴⁸⁾. Estos pueden ocurrir en la población general con una frecuencia entre 1-3%. La mayoría muestran titulaciones iguales o menores de cuatro diluciones. Sin embargo, títulos bajos no excluyen la sífilis y son frecuentes en los casos de sífilis latente y tardía. Una prueba no treponémica reactiva puede deberse a una infección actual con *T. pallidum*, a una infección reciente tratada o no tratada, o a un resultado falso positivo ⁽⁴⁷⁾.

II.9.2.2 Pruebas treponémicas

Estas pruebas utilizan *T. pallidum* como antígeno para detectar anticuerpos contra los componentes celulares del microorganismo ⁽¹⁴⁾ y pueden agruparse en diferentes categorías: la FTA-Abs, la TPHA/MHA-Tp y los ELISA ⁽⁴²⁾. Debido a su mayor especificidad, a que son costosas y tienen una tecnología compleja, se utilizan para confirmar los resultados obtenidos en las pruebas no treponémicas ⁽⁴⁷⁾.

A diferencia de las pruebas no treponémicas, que muestran una declinación en los títulos o se convierten en no reactivas con el tratamiento efectivo, las treponémicas se mantienen reactivas durante años o de por vida ⁽⁴⁸⁾.

FTA-Abs

La FTA-Abs es la inmunofluorescencia indirecta más utilizada como prueba confirmatoria dentro de las pruebas treponémicas, por su elevada sensibilidad y especificidad. Es positiva en un porcentaje muy alto de pacientes con sífilis primaria, secundaria y tardía ⁽⁴²⁾. Producen escasos resultados falsos positivos, en especial, cuando se utiliza en los pacientes con mononucleosis infecciosa, enfermedades del colágeno, la lepra y la borreliosis ⁽⁵⁵⁾. En el diagnóstico de la sífilis congénita se usa la FTA-IgM, una modificación de esta prueba con anticuerpos IgM marcados con fluoresceína ⁽⁴²⁾.

TPHA/MHA-Tp

Entre las pruebas de hemaglutinación para la detección de anticuerpos frente a *T. pallidum* se encuentra la TPHA, donde la presencia de anticuerpos se pone de manifiesto mediante la macroaglutinación de hematíes sensibilizados con dicho microorganismo. La MHA-Tp es una técnica cuyas fuentes de error se asocian con el uso de placas polvorosas o sucias, errores en el pipeteo y vibraciones en el laboratorio ⁽⁴⁸⁾. Es una prueba sensible, pero menos específica que la FTA-Abs ⁽⁶⁾. Ambas son más baratas y sencillas que otras pruebas treponémicas, y pueden aplicarse a un elevado número de muestras ⁽⁴⁷⁾.

ELISA

Los métodos inmunoenzimáticos, desde su introducción en el año 1971, constituyen, por su reproducibilidad una de las técnicas más eficaces en el diagnóstico, son también fáciles de realizar por su automatización y la lectura de los resultados es objetiva ⁽⁵²⁾. Además, los reportes se generan por vía electrónica, lo que reduce errores en la transcripción ⁽⁵⁶⁾. Pueden usarse para la detección de anticuerpos IgG o IgM y para la detección simultánea de ambos anticuerpos mediante el uso de dobles conjugados ⁽⁴²⁾, demostrando su excelente sensibilidad y elevada especificidad ⁽⁵⁷⁾.

Western blot

El Western blot treponémico se estudia como una posible alternativa para sustituir la FTA-Abs o MHA-Tp en la confirmación del diagnóstico serológico de la sífilis. Se emplea en la identificación de antígenos de *T. pallidum*, reconocidos por IgG o IgM ⁽⁵⁸⁾ y se aplica con frecuencia en el diagnóstico de la sífilis congénita ⁽⁴⁸⁾. Además la utilización de variantes con antígenos recombinantes de *T. pallidum*, aumentaría la sensibilidad, especificidad y reproducibilidad de las pruebas serológicas para la sífilis ⁽⁵⁹⁾.

INNO-LIA

El inmunoensayo INNO-LIA se desarrolla como una prueba confirmatoria para la sífilis. Es similar al Western blot, pero emplea las proteínas treponémicas recombinantes TpN15, TpN17 y TpN47 y un péptido sintético derivado de la región N-terminal de TmpA. Se evalúa en muestras de LCR, mostrando su utilidad en el diagnóstico de la neurosífilis. Sin embargo, requiere de un período de incubación de toda la noche y su costo es elevado ⁽⁶⁰⁾.

Pruebas rápidas

En los últimos años, además del formato ELISA se comercializa el formato de inmunocromatografía (pruebas rápidas) para la detección de anticuerpos contra

T. pallidum. Los antígenos muy purificados de *T. pallidum* inoculados pueden contener materiales contaminantes como los flagelos; el antígeno nativo de *T. pallidum* puede causar reacción no específica en el ensayo de las muestras de suero, con una sensibilidad más baja y una escasa reproducibilidad. Para superar estos problemas en los inmunoensayos, los investigadores construyen genes de *T. pallidum* para la expresión de antígenos recombinantes en sistemas bacterianos como *Escherichia coli* y se concentran en las proteínas de la membrana de *T. pallidum*. Los principales antígenos inmunorreactivos de estas proteínas de membrana tienen pesos moleculares de 47, 42, 17 y 15 kDa en base al análisis del Western blot ⁽⁶¹⁾.

En la actualidad, existen más de 20 pruebas rápidas en el mercado. La mayoría se hacen en formato de tira reactiva o de flujo lateral. Son exámenes sencillos, se realizan en el lugar de la consulta médica y pueden llevarse a cabo fuera del entorno del laboratorio, con una mínima capacitación del personal, sin un equipo especializado y con la recolección, mediante un pinchazo en el dedo, de una cantidad pequeña de sangre completa. No requieren condiciones especiales de almacenamiento o transporte y el resultado es fácil de interpretar, en condiciones ideales, se establece entre 15 a 20 minutos ⁽³⁾. En cambio, tienen la desventaja de no poder distinguir entre una infección activa y una anterior por lo que requieren de la confirmación mediante las pruebas estándares ⁽⁶¹⁾.

Uno de los grandes impactos es su utilidad en las áreas remotas, donde el acceso a los servicios de salud es imposible, sobre todo en aquellas regiones o países que no disponen de los recursos adecuados para hacer un diagnóstico y manejo apropiado de la enfermedad ⁽¹⁴⁾. La OMS recomienda su aplicación en las mujeres embarazadas (prevención de sífilis congénita), en las personas con riesgo de padecer una ITS, en los trabajadores sexuales y sus clientes, en los HSH y los usuarios de drogas inyectables ⁽³⁾. Un ejemplo de implementación de las pruebas rápidas de sífilis lo constituye el Proyecto CISNE en Perú, en el que se consideran

que las mismas ofrecen una nueva oportunidad de promover el uso racional y efectivo de recursos, y la posibilidad de utilizarla junto con la prueba del VIH en el pesquisaje de la gestante, con el objetivo de mejorar su salud y proteger al niño por nacer ⁽¹⁵⁾.

La prueba rápida SD BIOLINE Syphilis 3.0 (Standard Diagnosis, República de Corea del Sur) es un ensayo inmunocromatográfico en fase sólida que permite la detección de los anticuerpos específicos de la sífilis en el suero, el plasma o la sangre total. A diferencia de otras pruebas rápidas es el primer reactivo para prueba del mundo de un solo paso de 3ª generación que adopta antígenos recombinantes y el método sandwich directo. La misma consiste en una tira de membrana previamente cubierta con antígenos de *T. pallidum* recombinantes (proteínas de 17 y 15 KDa) en la zona de la banda de prueba. El conjugado con oro coloidal de los antígenos de *T. pallidum* recombinantes, la muestra del paciente y el diluyente para muestra avanzan por la membrana cromatográfica hacia la zona de prueba (T) y forman una línea visible a medida que se forma el complejo de partículas de oro antígeno-anticuerpo-antígeno ⁽⁶¹⁾.

II.10 Evaluación económica

La evaluación económica es la rama de la economía encargada de desarrollar modelos económicos que ayudan a tomar decisiones sobre la distribución de los recursos ⁽⁶²⁾. Además, la evaluación económica o de eficiencia es la comparación de las opciones de elección en competencia en términos de costos y consecuencias ⁽⁶³⁾. Las opciones se refieren a las diferentes formas en que se pueden utilizar los recursos para incrementar la salud de las poblaciones, y los costos al consumo o sacrificio de recursos disponibles para crear un valor dentro del sistema de salud; la misma es estrictamente comparativa y requiere de las descripciones explícitas de las opciones en competencia ⁽⁶⁴⁾.

Las evaluaciones económicas pueden ser clasificadas como parciales o completas ⁽⁶³⁾. Las completas son aquellas donde se comparan al menos dos opciones en términos de costos y beneficios, aunque una de ellas sea no hacer nada. Existen cuatro tipos: costo-beneficio, costo-efectividad y dos casos específicos de este último, se encuentra el costo-utilidad y el costo-minimización. La diferencia entre ellos está dada en la forma de medir los resultados ⁽⁶⁵⁾. En relación a las evaluaciones económicas parciales son aquellas que: (i) comparan los costos de al menos dos opciones, (ii) no comparan opciones pero estiman los costos y las consecuencias de un solo curso de acción o (iii) solo describen los costos de una opción sin intentos de comparación ⁽⁶³⁾.

II.11 Los costos

El término costo, es la expresión financiera del consumo de los recursos para producir un bien o un servicio. Los costos expresan este consumo en unidades monetarias, tales como pesos cubanos (CUP), pesos cubanos convertibles (CUC), dólares estadounidenses (USD), euros (EUR), etc. Este consumo representa un sacrificio de recursos que no podrán ser utilizados para producir otro bien o servicio. En ocasiones la palabra costo se intercambia por la de “gasto” aunque en teoría no expresan el mismo concepto ⁽⁶⁶⁾.

Para el cálculo del costo es necesaria la identificación de todos los tipos de recursos utilizados, la medición de las cantidades utilizadas y la valoración de esas cantidades. La valoración significa que el número de unidades gastadas de un recurso específico se multiplica por el precio de una unidad ⁽⁶⁷⁾.

Existen varios marcos teóricos para la clasificación de los costos. Los costos se pueden clasificar en directos e indirectos o de infraestructura. En el caso de los costos directos, son los imputables al servicio. Por ejemplo, los costos directos para la implementación de una prueba en el laboratorio pueden ser la remuneración al personal que extrae sangre, así como los reactivos y juegos

diagnósticos, entre otros. Los costos indirectos son los costos del apoyo otorgados a los servicios directos como el gasto en reparaciones de un equipo de laboratorio para lo cual se contrata un técnico externo. Por último, los costos de infraestructura tienen una relación aun menos directa con la implementación de la prueba e incluyen por ejemplo, los costos de las redes telefónicas, edificaciones, etc. Otra manera de clasificar los costos es en capital y recurrentes (u operativos). La diferencia entre estos dos tipos de costos depende de la esperanza de vida. Los recursos que tienen una esperanza de vida de un año o más (equipos, edificios, autos, etc.) son los denominados costos de capital (su costo es la depreciación durante su vida útil a una tasa de interés determinada). Por su parte, aquellos que se compran y se usan (o se sustituyen) dentro de un año son los costos recurrentes (salarios, material gastable, electricidad, agua, etc.)⁽⁶⁸⁾.

La aproximación a la estimación de todos estos costos puede ser realizada por micro costeo o macro costeo⁽⁶⁵⁾. El micro costeo también citado como costeo por ingredientes o de abajo hacia arriba, identifica los elementos del costo a través de la descripción del proceso productivo. Estos elementos del costo se miden utilizando diferentes técnicas de recolección de datos como la revisión documental (ejemplo: registros de contabilidad), entrevistas, encuestas u observación directa. Después se van agregando por actividad o actor o nivel o alguna combinación de estos, hasta conformar los llamados costos totales por actividad, actor, nivel o alguna combinación de ellos. Los costos además se pueden agregar en totales (suma de todos los costos por actor, actividad, etc.), medios (costos totales por actor, actividad, etc., entre las consecuencias que se produjeron estos gastos; por ejemplo el costo por determinación de sífilis), marginales (lo que cuesta realizar una determinación adicional), incrementales (la diferencia de costos entre dos opciones)⁽⁶⁹⁾.

III. CONTROL SEMÁNTICO

Sensibilidad: parte de los pacientes enfermos en los que la prueba fue positiva o tuvieron la probabilidad de tener una prueba positiva dado que estaban enfermos.

Especificidad: parte de los pacientes no enfermos en los que la prueba fue negativa o tuvieron la probabilidad de tener una prueba negativa dado que los individuos no estaban enfermos.

Valor predictivo positivo: Proporción de los individuos con una prueba positiva que tenían la enfermedad. La probabilidad de que estuvieran enfermos dado que la prueba fue positiva.

Valor predictivo negativo: Proporción de los individuos con una prueba negativa que no tenían la enfermedad. La probabilidad de que no estuvieran enfermos dado que la prueba fue negativa.

Índice de concordancia o índice de validez: Es el índice que se usó para conocer la proporción global de acuerdos que tuvieron las dos pruebas.

Coeficiente de Kappa: Permite medir el grado de concordancia no aleatoria existente entre las mediciones de la misma categoría estudiada. Kappa tiene un rango de valores que va desde -1 hasta $+1$, en dependencia de la magnitud de la concordancia.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1 Diseño del estudio

Se realizó, en el Laboratorio Nacional de Espiroquetas del IPK (LNE-IPK), una investigación de servicios y sistemas para la validación de un método de laboratorio, que consiste en un sistema inmunocromatográfico en fase sólida para la detección de anticuerpos contra *T. pallidum*, en muestras de sangre y suero humano obtenidas en el periodo comprendido desde octubre hasta diciembre de 2012. De forma paralela se efectuó la descripción de los costos de aplicación de dicho método de laboratorio en muestras de suero y sangre.

IV.2 Marco de la investigación

Se evaluó el desempeño del sistema inmunocromatográfico en fase sólida en los tres niveles de atención en salud (validación externa): (I) policlínicos del municipio de Centro Habana “Luis Galván” y “Joaquín Albarrán” correspondientes a la Atención Primaria; (II) Hospital Ginecobstétrico “Eusebio Hernández” como Atención Secundaria y (III) la consulta de ITS, planificada por el servicio de Dermatología, del IPK como Atención Terciaria.

IV.3 Universo de trabajo y muestra

Para la evaluación del sistema serológico rápido se contó con 150 determinaciones, distribuidas según el criterio opinático de la autora, de acuerdo con el nivel de atención en salud, estas se describen a continuación:

- Atención Primaria: 60 determinaciones. Se examinaron de forma paralela muestras de sangre y suero de 30 pacientes (2 determinaciones/paciente).
- Atención Secundaria: 60 determinaciones. Se examinaron muestras de suero de 60 embarazadas o púerperas.
- Atención Terciaria: 30 determinaciones. Se estudiaron de forma paralela muestras de sangre y suero de 15 pacientes (2 determinaciones/paciente).

La selección de los pacientes en los tres niveles de atención en salud se efectuó acorde con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

- Individuos de ambos sexos y mayores de seis meses de edad.
- Individuos (o tutores) que manifestaron su consentimiento informado de participación por escrito.

Criterios de exclusión

- Individuos a los que se les realizaba seguimiento serológico por un diagnóstico reciente de sífilis.
- Individuos con antecedentes de sífilis pasada.
- Individuos que no manifestaron su consentimiento informado de participación por escrito.

Criterios de salida

- Abandono voluntario.

IV.4 Recolección de la información

A cada uno de los individuos se les explicó de forma verbal en qué consistía el estudio y se les solicitó su aprobación a través del consentimiento informado de participación por escrito (ver anexos 1 y 2).

IV.5 Recolección de las muestras

La toma de muestra para la recolección del suero se realizó, en el horario de la mañana y por el personal del laboratorio clínico de cada uno de los niveles de atención en salud correspondiente. Para ello se obtuvo sangre total por punción venosa, con la ayuda de una jeringuilla estéril desechable, de inmediato, la sangre se depositó en un tubo de ensayo de 13x100 mm sin anticoagulantes, se dejó coagular por 30 minutos y luego se centrifugó para obtener la muestra de suero (sobrenadante). Una alícuota de suero se utilizó para la prueba rápida y el resto se

dispensó en viales para su transportación hasta el LNE-IPK, donde se conservó a -20°C para su posterior estudio. En las muestras de suero correspondientes a la Atención Terciaria, todas se trasladaron al LNE-IPK.

La toma de muestra para la recolección de la sangre se llevó a cabo en los niveles de Atención Primaria y Terciaria, mediante dos métodos diferentes. En el nivel de Atención Primaria se aprovechó la misma sangre total obtenida para la muestra de suero, se dejó un remanente en la jeringuilla equivalente a una gota ($20\ \mu\text{L}$), la que se depositó, por el investigador, en la prueba rápida comercial a evaluar. En el nivel de Atención Terciaria, la muestra de sangre se obtuvo por el propio investigador, en la consulta del Servicio de Dermatología, mediante punción del pulpejo del dedo. Previa limpieza del área de punción, con una torunda de algodón impregnada en alcohol, se presionó la yema del dedo seleccionado y se punzó con una lanceta estéril hasta obtener una gota de sangre para realizar la prueba de pesquisa. En el nivel de Atención Secundaria, por no disponer de las condiciones necesarias para su ejecución, la prueba rápida a partir de la muestra de sangre no se aplicó, solo se empleó el suero.

A cada muestra de sangre y suero se le aplicó el SD BIOLINE Syphilis 3.0 como prueba de pesquisa rápida de sífilis; luego a cada suero se le realizó VDRL y TPHA.

IV.6 Procedimientos de las pruebas serológicas

IV.6.1 SD BIOLINE Syphilis 3.0

Se empleó el estuche SD BIOLINE Syphilis 3.0 (Standard Diagnosis, República de Corea del Sur) comercializado en Cuba por Ampellos S.A., de acuerdo con las instrucciones de su fabricante. En breve, se adicionó $10\ \mu\text{L}$ de la muestra de suero o una gota ($20\ \mu\text{L}$) de sangre, dentro de la zona marcada en el dispositivo, con una “S”, luego, dentro de la misma zona, se añadieron cuatro gotas del diluyente y

se incubó durante 20 minutos (no se realizó la lectura pasados los 20 minutos para evitar los posibles resultados falsos positivos).

Lectura e interpretación

Se consideró como muestra negativa aquella donde se observó la formación de una banda única de color púrpura en la zona control "C"; muestra positiva si se observó la presencia de dos bandas de color púrpura (una en la zona control y otra en la zona "T") en la ventana de resultados, independientemente de qué banda apareció primero, y como prueba no válida la no existencia de banda color púrpura en la zona control (figura 1).

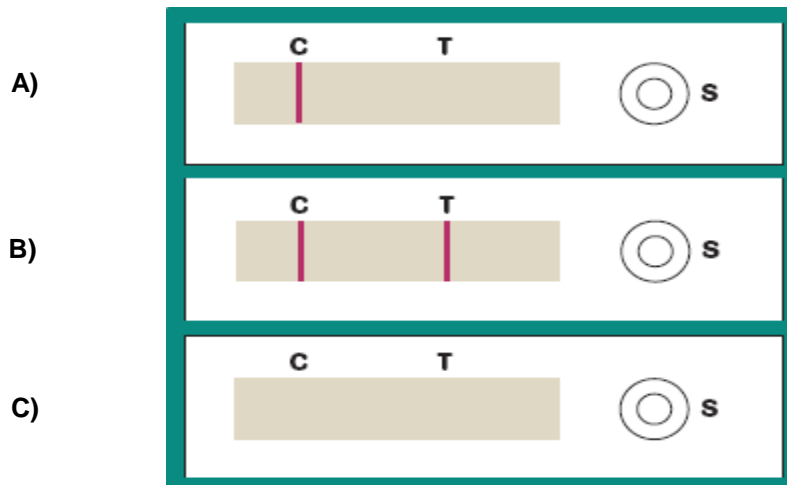


Figura 1. Representación de la prueba rápida SD BIOLINE Syphilis 3.0: A) Prueba negativa, B) Prueba positiva, C) Prueba no válida

IV.6.2 VDRL

Se empleó el *VDRL Plus* (Centis, Cuba), según el procedimiento descrito por el productor en la literatura interna del estuche diagnóstico, con la modificación de que los sueros no se inactivaron por calentamiento ⁽⁷⁰⁾.

Prueba cualitativa

De manera inicial se atemperaron los reactivos y las muestras a la temperatura ambiente, controlando además la temperatura del laboratorio (22-25 °C).

A cada círculo de una lámina de cristal excavada, se le añadió, con el empleo de micropipetas, 50 µL de suero y 20 µL de antígeno (previamente homogenizado).

La lámina se colocó en el agitador rotatorio y se accionó el equipo a 160 r.p.m. durante 4 minutos. Luego se procedió a la lectura a través de un microscopio óptico, mediante el empleo del lente de poco aumento (magnificación total: 100X).

Se utilizaron los controles positivo y negativo del estuche, así como tres sueros controles internos (no reactivo, débil reactivo y reactivo) de la seroteca del LNE-IPK.

Lectura e interpretación

Se definió como suero reactivo aquel donde se observaron flóculos de mediano y gran tamaño en los hoyuelos; suero débil reactivo si se observaron agrupaciones o flóculos pequeños, además de partículas en forma de agujas pequeñas distribuidas de manera uniforme; y suero no reactivo aquel donde se observaron muchas partículas en forma de agujas pequeñas distribuidas de manera uniforme sin formar agrupaciones (figura 2).

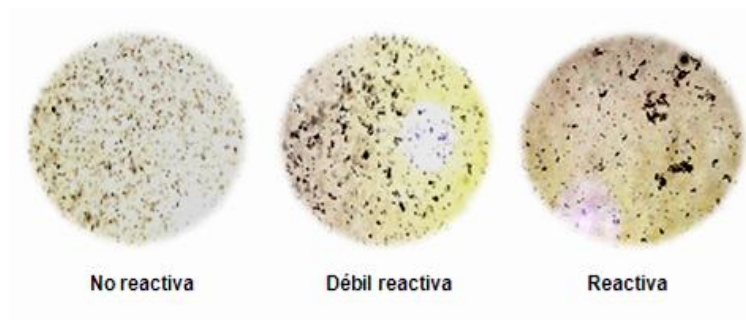


Figura 2. Interpretación de la prueba VDRL

Prueba semicuantitativa

Se le realizó a todo suero con un resultado reactivo o débil reactivo.

Para este ensayo se colocó 50 µL de solución salina (0,9%) en cada hoyuelo de la lámina donde se realizaron las diluciones, al instante se añadió 50 µL de suero en el primer hoyuelo y se homogenizó. Luego, se tomaron 50 µL de este círculo y se adicionó al siguiente, realizando homogenización, y así, de manera sucesiva se prosiguió hasta el último hoyuelo.

Se colocó la lámina en el rotor y luego se accionó el equipo a 160 r.p.m. durante 4 minutos.

De forma inmediata, después de la rotación se observó a través de un microscopio óptico con el lente de poco aumento. La lectura se realizó igual al ensayo cualitativo y el título del suero fue el inverso de la dilución más alta donde se observó el resultado reactivo.

IV.6.3 TPHA

Se utilizó el estuche comercial *TPHA* (Centis, Cuba), siguiendo las instrucciones de su fabricante.

Prueba cualitativa

Los reactivos y las muestras se atemperaron a la temperatura ambiente (22-25 °C).

Se preparó una dilución 1:20 de la muestra en tampón (10 µL suero + 190 µL tampón) en un pocillo de una placa de poliestireno de 96 pocillos con fondo en U. Luego, se colocaron 25 µL de la dilución en dos pocillos adyacentes. Al primero se le adicionó 75 µL de células control, homogenizadas de forma previa, y al segundo 75 µL de células sensibilizadas homogenizadas.

Dicho procedimiento se realizó también a los controles positivo y negativo del estuche (originalmente diluidos 1:20).

La placa se agitó de forma suave para la completa homogenización de las mezclas. Se cubrió la misma y se incubó a la temperatura ambiente (20-25 °C) durante 45-60 minutos, en un área alejada de fuentes de vibración, calor y luz directa.

Lectura e interpretación

Para realizar la lectura se buscó la formación o no del efecto hemaglutinante. Se interpretó como positivo cuando se observó en el pocillo de las células sensibilizadas tal efecto y negativo cuando se observó un botón de células rojas en el fondo del pocillo (figura 3).



Figura 3. Interpretación de la TPHA: A) Prueba positiva, B) Prueba negativa

La prueba se consideró no válida cuando se observó hemaglutinación con las células control.

A toda muestra positiva se le realizó la prueba semicuantitativa.

Prueba semicuantitativa

A cada pocillo de la placa, donde se realizaron las diluciones, se le adicionó 25 μ L de tampón, después, en el primer pocillo se colocó 25 μ L de la muestra diluida (1:20) y se homogenizó. Luego, se tomaron 25 μ L de este pocillo y se añadió al siguiente, realizando igual homogenización. Esta última operación se repitió hasta completar las diluciones, desechando 25 μ L del último pocillo.

A cada hoyuelo se le añadió 75 μ L de las células sensibilizadas.

Se procedió como en la prueba cualitativa. Se definió como título de la muestra el inverso de la dilución máxima donde se observó hemaglutinación.

IV.7 Descripción de los costos

En la presente investigación solo se describieron los costos directos. Se utilizó la técnica de microcosteo, que consiste en medir el gasto de recursos de “abajo hacia arriba”, de los elementos del costo (salarios, materiales, y equipos) para cada una de las tareas que componen el proceso.

Para ello se realizó inicialmente la descripción del proceso a partir de la identificación de cada una de sus actividades y tareas, desde que se inscribe la solicitud de análisis del paciente hasta que se informa el resultado de la prueba realizada. Para ello se entrevistaron las personas responsables de cada área seleccionada dentro del proceso y se elaboró la ficha del mismo. Luego, se procedió a la medición de la frecuencia de utilización de cada insumo o recurso, según la actividad realizada a través de la observación directa (ver anexo 3), y con ello se elaboró una matriz para su posterior análisis (ver anexos 4 y 5).

Se realizaron 105 mediciones de cada actividad de los procesos dirigidos a la detección de anticuerpos contra *T. pallidum*. Los costos se clasificaron por actividad y por elemento de costos directos.

El costo de salario se determinó a partir del tiempo utilizado en cada una de las actividades. Para ello se tuvo en cuenta los salarios devengados mensualmente por cada persona involucrada (según nóminas de salario), el correspondiente a la acumulación por descanso retribuido (9,09%), el impuesto sobre la utilización de la fuerza de trabajo (20%) y la contribución a la seguridad social (12,5%) ⁽⁷¹⁾. Para ello se dividió el tiempo (min) de duración de la tarea entre 60 (min), luego se multiplicó por el salario y se dividió entre 11 520 (min equivalentes a 192 horas de trabajo mensual).

Como el SD BIOLINE Syphilis 3.0 es un diagnosticador que puede ser utilizado tanto en un laboratorio como en un consultorio se tuvieron en cuenta diferentes ejecutantes: un licenciado en tecnología de la salud, un técnico de laboratorio clínico, un licenciado y un técnico en enfermería; por lo que se seleccionó el salario mínimo y el máximo para el cálculo del costo de salario.

El costo de materiales se estimó a partir de la cantidad que se emplea y los precios de mercado registrados en expedientes de proyectos (recogidos en ofertas y facturas). Para el caso del material gastable de oficina se siguieron las normas de la OMS para gastos de materiales y suministros según tiempo de actividad reportado ⁽⁷²⁾. La suma de los costos materiales individuales resultó en el costo de materiales de la actividad.

El costo de medios de capital se calculó a partir de la multiplicación de la fracción de tiempo de empleo del equipo en la actividad por el precio del equipo (según factura) por su tasa de depreciación anual (25%) y el tiempo de vida en explotación.

Todos los costos fueron expresados en CUP utilizando las tasas oficiales de cambio para las monedas extranjeras.

La suma de los costos de salario, materiales y medios de capital de cada tarea resultó en el costo total de la actividad, y la suma de los costos de las actividades en el del proceso.

IV.8 Análisis estadístico

Los resultados se introdujeron en una base de datos diseñada al efecto mediante el empleo del programa Excel (Microsoft Office). Para el análisis de la información se utilizó el paquete estadístico Epidat v3.1.

Se estimó la concordancia o índice de validez global de los resultados al emplear ambos tipos de pruebas, y se realizó la comparación de las proporciones de resultados coincidentes entre las dos pruebas. Se evaluaron los parámetros del desempeño del procedimiento de SD BIOLINE Syphilis 3.0, utilizando como prueba de referencia la TPHA y se cumplió con los requisitos para la evaluación del desempeño de los diagnosticadores, según la regulación No. 47-2007 del Cecmed ⁽⁷³⁾. Se evaluaron los siguientes parámetros cualitativos: sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo (VPP y VPN), índice de Youden y las razones de verosimilitud positiva y negativa (RV+ y RV-).

Además, de forma global se determinó el coeficiente de concordancia Kappa (K) entre los resultados de ambas pruebas. Para cada parámetro a evaluar se estimó su intervalo de confianza (IC) para un nivel de confiabilidad de 95%.

IV.9 Consideraciones éticas de la investigación

El protocolo de esta investigación fue aprobado por la Comisión Científica Especializada de Microbiología y el Comité de Ética de la Investigación del IPK como Proyecto Asociado a Programa del Ministerio de Salud Pública.

Se cumplieron las medidas de bioseguridad establecidas para el trabajo, la manipulación del microorganismo y las muestras, según los niveles de riesgo establecidos por la Comisión Nacional de Seguridad Biológica en la Resolución 38/2006 ⁽⁷⁴⁾.

La información se conservó con carácter confidencial. No se reveló la identidad de los individuos que proporcionaron las muestras clínicas para el estudio. Los resultados de las pruebas de laboratorio se enviaron a los médicos de asistencia que solicitaron los análisis, y se utilizó por el equipo de investigación con fines científicos.

Los individuos involucrados en la investigación, conocieron los resultados de las pruebas de diagnóstico microbiológico evaluadas a través de su médico de asistencia. Ninguna de las labores planificadas en el presente trabajo atentó contra la integridad de los individuos involucrados, ellas facilitaron la confirmación de su infección por *T. pallidum*, lo que contribuyó a la aplicación oportuna y rápida de tratamiento específico, así como al control y prevención de nuevos casos en la comunidad.

Se obtuvo el consentimiento informado, de participación por escrito, de todos los individuos que participaron de manera voluntaria y gratuita en el estudio correspondiente a la evaluación del estuche SD BIOLINE Syphilis 3.0, previa explicación en un lenguaje sencillo y claro de cómo se realizaría el mismo, su importancia y los beneficios que proporcionaría dicha evaluación. Los datos de los participantes se mantuvieron bajo estricta confidencialidad, solo accesibles a los investigadores partícipes en el estudio.

En general, toda la información relacionada con esta investigación se encuentra en formato electrónico, conservada y protegida en el LNE-IPK, donde se realizaron además copias (salvas) de la información.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 Validación de la prueba comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la pesquisa rápida de anticuerpos contra *Treponema pallidum* en las muestras de suero y sangre de los pacientes objetos de estudio en los diferentes niveles de atención en salud

Durante la evaluación del sistema comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0, en los tres niveles de atención en salud, 8,6% (13/150) de las pruebas fueron no válidas, independientemente de la muestra utilizada (sangre o suero), sin poder precisar la(s) causa(s) (tabla 2). Ello imposibilitó ofrecer el diagnóstico a cuatro pacientes, ya que la prueba fue no válida en tres muestras de suero de la Atención Secundaria y en el suero como la sangre de un individuo de la Atención Primaria.

Tabla 2. Número de pruebas SD BIOLINE Syphilis 3.0 no válidas, según el tipo de muestra empleada en los diferentes niveles de atención en salud. LNE-IPK, octubre-diciembre, 2012

Niveles de atención en salud	Número de pruebas no válidas		
	Sangre	Suero	Total
Primaria 60 det (dispositivos)	5	4	9
Secundaria 30 det (dispositivos)	-	3	3
Terciaria 30 det (dispositivos)	1	0	1
Total	6	7	13

Campos *et al.*, notifican como no válidas 0,3% de las pruebas evaluadas en sangre capilar obtenida de 3 586 trabajadoras sexuales para la detección de sífilis activa en Lima (Perú) ⁽⁷⁵⁾. También Siedner *et al.*, al investigar la frecuencia de sífilis en

pacientes de un centro de atención de ITS, mediante la evaluación de tres pruebas inmunocromatográficas en sangre capilar, encuentran 0,8% de pruebas no válidas para la Abbott Determine TP, seguido de la Guardian Bioscences One Step (6,5%) y la Phoenix Biotech Trep-Strip IV (30,3%)⁽⁷⁶⁾. Ambos describen cifras inferiores a las detectadas en este trabajo, excepto para la Phoenix Biotech Trep-Strip IV, pero ninguno de los autores refieren las posibles causas del resultado, ellos suponen que se trata de una debilidad del producto utilizado.

La prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 permitió realizar el diagnóstico de sífilis, en los diferentes niveles de atención en salud. En 7,9% (8/101) se detectó la presencia de anticuerpos contra *T. pallidum*, corroborados por el VDRL y la técnica de referencia (TPHA). La distribución de los casos positivos, según el nivel de atención en salud fue de 1 en la Atención Primaria, 1 en la Atención Secundaria y 6 en la Atención Terciaria. Se obtuvo además, que 1% (1/101) fue falso positivo por el SD BIOLINE Syphilis 3.0, pues la muestra de suero fue no reactiva en el VDRL y negativa en la TPHA. Esta muestra se obtuvo de una embarazada y es importante señalar que la intensidad del color de la banda, en la zona de prueba fue débil, cuando se comparó con la intensidad observada en la zona control. Los otros pacientes, 91,1% (92/101) fueron negativos por la prueba rápida, el VDRL y la TPHA.

Sampedro *et al.*, describen también resultados falsos positivos al evaluar dos pruebas rápidas; en la Syphilitop Optima detectan dos casos en pacientes con infección por el VIH; mientras que, para la prueba Biorapid Syphilis la cifra fue superior, una muestra pertenece a una embarazada, dos sueros provenían de pacientes con infección por el virus del Epstein Barr y uno por el VIH⁽⁷⁷⁾.

El número de muestras positivas detectadas por el sistema comercial en los niveles de atención en salud fue bajo; sin embargo, según información obtenida del grupo de Vigilancia Epidemiológica del IPK sobre la sífilis como enfermedad de declaración obligatoria, la provincia de La Habana, en igual periodo (octubre a diciembre de

2012) notifica 198 casos, que se corresponde con al menos un caso semanal por municipio ⁽⁴⁾. Ello supone que los resultados encontrados en esta tesis estuvieron en correspondencia con la información estadística de la provincia. El mayor número de casos se encontró en el nivel de Atención Terciaria, por tratarse de una consulta de ITS, mientras que, en los otros dos niveles, predominaron los individuos pesquisados a partir de los chequeos médicos.

Tinajeros *et al.*, en Bolivia, refieren que, el uso sistemático de pruebas rápidas en las mujeres embarazadas detecta hasta 92% de los casos de sífilis materna y sus correspondientes casos de sífilis neonatal; mientras que, con el sistema tradicional de pruebas como la RPR, realizadas en el laboratorio del hospital, detectan alrededor de 38% de los casos de sífilis materna ⁽⁷⁸⁾.

En la tabla 3 se representan los parámetros del desempeño del SD BIOLINE Syphilis 3.0 evaluados en las muestras de suero y sangre obtenidas en los diferentes niveles de atención en salud. La prueba rápida fue un ensayo treponémico sensible (100%) y específico (98,92%) como prueba de tamizaje, además puede aplicarse en los bancos de sangre, los hospitales o en los centros de salud e incluso en las investigaciones de campo.

Esta prueba es una buena alternativa para el diagnóstico de la sífilis, una enfermedad fácil de tratar cuando se diagnostica de manera oportuna ^(3, 61).

Tabla 3. Parámetros de desempeño del SD BIOLINE Syphilis 3.0 en las muestras de suero y sangre, obtenidas en los diferentes niveles de atención en salud. LNE-IPK, octubre-diciembre, 2012

Parámetros	Valor	IC (95%)	
Sensibilidad (%)	100	93,75	100
Especificidad (%)	98,92	96,29	100
Índice de validez (%)	99,01	96,58	100
Valor predictivo positivo (%)	88,89	62,80	100
Valor predictivo negativo (%)	100	99,46	100
Índice de Youden	0,99	0,97	1,01
Razón de verosimilitud positiva	93,00	13,24	653,27
Razón de verosimilitud negativa	-	-	-
Índice de Kappa	0,93	0,81	1,00

n=98

Técnica de referencia: TPHA

Leyenda: IC: Intervalo de confianza

El valor de sensibilidad detectado por el SD BIOLINE Syphilis 3.0 fue superior al descrito por el fabricante en el manual de instrucciones que acompaña al estuche comercial; sin embargo, la especificidad fue ligeramente inferior. El fabricante refiere valores de 99,3 y 99,5% para cada uno de estos parámetros, respectivamente.

Vanijajiva *et al.*, en 2008, al evaluar el SD BIOLINE Syphilis 3.0 con un panel de 90 sueros (52 positivos y 38 negativos), mediante la prueba de aglutinación de partículas contra *T. pallidum* (TP-PA), describen una sensibilidad de 90,4 y 100% de especificidad⁽⁷⁹⁾. Por su parte, Aboud *et al.*, señalan para el SD BIOLINE Syphilis 3.0 valores inferiores de sensibilidad (79%) y especificidad (96%), cuando los comparan con la TPHA. Estos últimos autores plantean que ambos parámetros del método inmunocromatográfico superan los obtenidos por la RPR (68 y 94%, respectivamente)⁽⁸⁰⁾. Sin embargo, Yin *et al.*, obtienen con el mismo sistema

comercial valores de sensibilidad (96,6%) y especificidad (99,3%) superiores ⁽⁸¹⁾. Mientras que, un trabajo de Jafari *et al.*, en 2013, señalan para el SD BIOLINE Syphilis 3.0 cifras de sensibilidad de 87,06% (IC 95%, 75,67 a 94,50) y especificidad de 95,85%, (IC 95%, 89,89 a 99,53) ⁽⁸²⁾.

Durante 2006 realizan un estudio multicéntrico en Tanzania, China, Brasil y Haití, con el objetivo de evaluar cuatro pruebas inmunocromatográficas de pesquisa rápida para el diagnóstico de la sífilis a partir de las muestras de sangre y suero, dentro de las cuales incluyen el sistema comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0. La especificidad de los cuatro sistemas es mayor de 95%; mientras que, en todos los casos obtienen una baja sensibilidad en la muestra de sangre, excepto para las pruebas Abbott Determine, Standard BIOLINE, en Haití, donde logran valores de 100%. En cambio, al emplear la muestra de suero, la sensibilidad de Abbott Determine y Standard BIOLINE supera las cifras (88 y 90%, respectivamente) en los cuatros lugares; no obstante, Qualpro Syphicheck, otra de las pruebas evaluadas, presenta una sensibilidad de 67,4% en China, pero 97,6% en Haití ⁽⁸³⁾.

El parámetro de especificidad obtenido en el presente trabajo durante la validación fue similar al descrito en el trabajo anterior. Sin embargo, la sensibilidad del presente estudio y la de Haití, para los métodos SD BIOLINE Syphilis 3.0 y Abbott Determine, a pesar de tener resultados similares superaron al resto de las pruebas.

Otro estudio multicéntrico, realizado por la OMS, evalúa varios sistemas inmunocromatográficos. En ellos incluyen la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0. Entre ellas, las pruebas Fujirebio Espline y la SD BIOLINE Syphilis 3.0 presentan una sensibilidad de 97,7 y 95%, respectivamente, valores mayores que el resto de las inmunocromatografías, donde estas últimas estuvieron por debajo de 90%. Por su parte, la Omega VisiTect y la Qualpro Syphicheck son las de mayor especificidad (98 y 97,7%, respectivamente) ⁽⁸⁴⁾. Los resultados obtenidos para ambos parámetros en la investigación actual superaron los obtenidos en el estudio anterior.

En una evaluación realizada en 2010, la sensibilidad de la prueba Espline TP (97,7%) supera los valores de la SD BIOLINE Syphilis 3.0 (95%), Syphilis Fast (95,6%) y Determine Syphilis TP (97,2%). Sin embargo, la especificidad, de Espline TP presenta cifras inferiores a la observada en la prueba Determine TP (94,1%), SD BIOLINE Syphilis 3.0 (94,9%) y Syphilis Fast (99,9%) ⁽⁸⁵⁾. Los resultados de esta investigación superaron los alcanzados por las pruebas antes mencionadas, excepto la especificidad descrita para la Syphilis Fast.

En estudios anteriores evalúan dos pruebas inmunocromatográficas a partir de muestras de sangre y suero obtenidas de pacientes que acuden a una clínica especializada en ITS. En el primer estudio, la SD BIOLINE Syphilis 3.0 presenta valores de sensibilidad (90,2%) superior a la Syphicheck-WB (88,2%); sin embargo, las cifras de especificidad son similares (99,4 y 99,6%, respectivamente). En el segundo estudio evalúan la prueba VisiTect Syphilis, que alcanza valores de sensibilidad (96,2%) superiores y significativos en relación con la Determine Syphilis TP (88,5%), pero ambas con elevados valores de especificidad (98,5 y 97,9% respectivamente) ⁽⁸⁶⁾. El sistema comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 mostró una mayor sensibilidad que el estudio anterior e incluso al resto de las inmunocromatografías, pero tuvo una especificidad menor a las alcanzadas por las pruebas del primer estudio.

Vale la pena señalar que, a pesar de realizarse una minuciosa búsqueda bibliográfica por la autora de este trabajo de tesis, sobre la aplicación de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0, la discusión abarcó los únicos trabajos descritos en la literatura revisada. No obstante, existen diversas publicaciones sobre la aplicación de otros métodos de diagnóstico rápido para la sífilis, que se citarán más adelante ^(84, 85). Los resultados de esta investigación tampoco pudieron compararse con trabajos nacionales, pues esta constituye la primera experiencia en el tema.

Siedner *et al.*, en 2004, a partir de muestras de sangre total evalúan tres pruebas rápidas, diferentes al SD BIOLINE Syphilis 3.0, al compararlas con la TP-PA; Abbott Determine TP proporciona la mayor sensibilidad (88%), seguida de Guardian Bioscences One Step (72%) y Phoenix Biotech Trep-Strip IV (70%). Las tres son 100% específicas ⁽⁷⁶⁾. En cambio, en un estudio de 510 pacientes la prueba inmunocromatográfica VisiTect Syphilis identifica 79% (30/38) de los casos de sífilis activa, con una sensibilidad de 57% y una especificidad de 99% ⁽⁸⁷⁾. A pesar de la elevada especificidad todas muestran valores de sensibilidad inferiores al encontrado en este trabajo, siendo incluso menores de 90%.

Juárez *et al.*, en México, determinan mediante el método Determine TP una elevada sensibilidad (entre 96,8 y 100%) en tres grupos de población con prevalencias de sífilis entre 1,3 y 38,7%; mientras que, la especificidad oscila entre 95,3 y 100% ⁽⁸⁸⁾. Otros estudios de México, Brasil y Bolivia evalúan el desempeño de esta tira inmunocromatográfica, para la detección de anticuerpos contra *T. pallidum*, en sueros de mujeres embarazadas y en personas atendidas en clínicas de enfermedades infecciosas con diagnósticos de sífilis, VIH, otras ITS o libres de ellas. Los valores combinados de sensibilidad y especificidad se encuentran entre 95,6 y 100%, con alrededor de 98% de concordancia ⁽⁸⁹⁻⁹¹⁾. Los valores de Juárez *et al.*, así como los de México, Brasil y Bolivia, incluyendo el valor de concordancia o índice de validez reflejado en esta última, no superaron los mostrados en el presente trabajo.

En otro estudio del año 2009, la valoración del comportamiento sobre diferentes pruebas rápidas y entre ellas Determine Syphilis TP, muestra un excelente desempeño con altos valores de sensibilidad [97,2% (IC 95%, 95,6 a 98,8)] y especificidad [94,1% (IC 95%, 91,8 a 96,4)] ⁽⁹²⁾, no obstante, estos valores no superan el obtenido en esta investigación.

En otro estudio que utiliza también esta prueba rápida (Determine TP) se obtienen valores de sensibilidad (93,6%) y especificidad (92,5%) inferiores a los ya descritos,

la concordancia entre este método rápido y las técnicas de referencia (FTA-Abs y TPHA) es de 94,4% ⁽⁹³⁾. Zhuang *et al.*, reporta para este sistema comercial valores elevados de sensibilidad, especificidad y concordancia (97,35, 98,91 y 97,3%, respectivamente), cuando los compara con la TP-PA ⁽⁹⁴⁾. Sin embargo, en ambos estudios los valores son inferiores a los obtenidos en esta investigación.

En el año 2011, durante una pesquisa de sífilis en el Amazona (Brasil), se evalúa por primera vez la prueba treponémica rápida VisiTect Syphilis, en muestras de sangre capilar. La sensibilidad de esta prueba comparada con la FTA-Abs es de 62,5% (IC 95%, 38,6 a 81,5) y la especificidad de 99,1% (IC 95%, 98,1 a 99,6) ⁽⁹⁵⁾, por lo que, cuando se comparan con los resultados obtenidos por la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 evaluada, esta última fue más sensible, pero menos específica.

Como se puede apreciar, en este trabajo de tesis, la sensibilidad para la prueba inmunocromatográfica SD BIOLINE Syphilis 3.0 fue superior a la descrita por otros autores, diferente a lo que sucedió con la especificidad. Las características de las pruebas rápidas constituyen uno de los aspectos a tener en cuenta cuando se selecciona una de ellas ⁽¹⁴⁾. La OMS plantea que, dadas las consecuencias que puede provocar un error en el diagnóstico y los efectos escasos de un tratamiento excesivo, es recomendable seleccionar una prueba rápida más sensible que específica. Si la prueba rápida se quiere utilizar como confirmatoria, se sugiere entonces una más específica ^(3,14).

El índice de validez obtenido para la SD BIOLINE Syphilis 3.0 en este estudio no pudo compararse con todas las investigaciones anteriores debido a que sus autores no refieren los resultados alcanzados. López *et al.*, comparan la técnica inmunocromatográfica Determine TP con la TP-PA para el diagnóstico confirmatorio de sífilis en 150 muestras de suero y obtienen 100% de concordancia ⁽⁹⁶⁾, mientras que, Lien *et al.*, reportan 99,3% entre la Determine Syphilis TP y la Serodia TP-PA en

suero, plasma y sangre total en la ciudad de Ho Chi Minh ⁽⁹⁷⁾; valores que superan al obtenido en el presente trabajo.

El SD BIOLINE Syphilis 3.0, a pesar de no alcanzar 90% de VPP, por la baja prevalencia de la enfermedad en la población seleccionada, tuvo un VPN de 100%. Ellos mostraron la probabilidad de que un individuo para el que se obtuvo un resultado positivo, fuera sin duda alguna un enfermo (VPP), y la probabilidad de que un individuo con un resultado negativo estuviera libre de la enfermedad (VPN). Hallazgos inferiores notifican Benzaken *et al.*, para la prueba VisiTect Syphilis (62,5 y 99,1%, para VPP y VPN, respectivamente) ⁽⁹⁵⁾. También Seña *et al.*, describen para la Espline TP rangos muy bajos de VPP (9,4 y 38,1%), aunque no publican el VPN ⁽⁸⁵⁾.

Similares resultados se describen para el sistema inmunocromatográfico Determine Syphilis TP ^(93,98). Resultados inferiores se señalan en Perú, al evaluar la utilidad de la prueba Determine Syphilis TP para la detección de sífilis activa, en la misma se muestra un VPP de 71,4%; sin embargo, el VPN no está publicado ⁽⁷⁵⁾. Otro estudio en Manaus (Brasil), al pesquisar casos de sífilis mediante FAT-Abs y una prueba no treponémica (VDRL), a partir de muestras de sangre capilar, la prueba rápida VisiTect Syphilis describe una VPP y VPN de 91% ⁽⁸⁷⁾.

Durante 2007, Benzaken *et al.*, notifican otro estudio con VPP y VPN al evaluar diferentes pruebas, entre ellas la prueba Syphicheck-WB alcanza el mayor VPP (95,6%), seguida de la VisiTect Syphilis (94,3%), la SD BIOLINE Syphilis 3.0 (93,8%) y la Determine Syphilis (92%) ⁽⁸⁶⁾. A pesar de que todos los VPP superan el de este trabajo, ninguno alcanza un VPN de 100%.

Resultados diferentes publican Zarakolu *et al.*, durante la evaluación preliminar de una tira inmunocromatográfica para la detección de anticuerpos específicos frente a *T. pallidum*, donde logran valores de 100% para ambos parámetros ⁽⁹⁹⁾. De igual

manera, ocurre en la Abbott Determine TP, con una sensibilidad, especificidad, VPP y VPN de 100%, así como en cuanto al valor de concordancia entre la inmunocromatografía y la FTA- Abs ⁽¹⁰⁰⁾.

Durante la validación del SD BIOLINE Syphilis 3.0, el índice de Youden (diferencia entre la tasa de verdaderos positivos y la de falsos negativos) (0,99) se consideró adecuado; por obtenerse valores cercanos a 1. No se encontró en la literatura consultada estudios que se refieran a este parámetro.

La RV+, durante la evaluación del sistema comercial, alcanzó un valor elevado (90),. Por su parte, la RV- no mostró valores. No se pudieron comparar estos resultados con los de otros investigadores por no encontrarse en la literatura consultada trabajos que los tuviesen en consideración; no obstante, se puede afirmar que los valores obtenidos fueron satisfactorios.

Todo caso con un resultado positivo, por el sistema serológico rápido, tiene que confirmarse por la técnica de referencia internacional establecida por la OMS para el diagnóstico de sífilis y en el presente estudio de acuerdo con el índice de K (0,93) alcanzado por la prueba inmunocromatográfica evaluada, existió concordancia entre ambos métodos. Este parámetro mide el grado de concordancia no aleatoria existente entre las mediciones de la misma categoría, y toma valores de -1 a +1, en dependencia de la magnitud de la concordancia. Cifras inferiores, por debajo de 0,9 publican para diferentes pruebas inmunocromatográficas ⁽⁸⁴⁾. No obstante, en una investigación de Brasil realizada en 2007, al evaluar cuatro pruebas rápidas con previa validación por la OMS en laboratorios de referencia, obtienen un coeficiente de K (0,94) equivalente al de la presente investigación ⁽⁸⁶⁾.

Vanijajiva *et al.*, identifican un valor de correlación similar (K=0,88) al comparar los resultados del sistema SD BIOLINE Syphilis 3.0, con el de referencia empleado ⁽⁷⁹⁾.

Valores muy cercanos al de esta investigación ($K=0,95$) detectan otras pruebas rápidas (Determine Syphilis TP y Espline TP)⁽⁸⁴⁾.

La necesidad de ofrecer pruebas serológicas de diagnóstico rápidas y fáciles de realizar, así como sensibles y específicas, obliga al cumplimiento de dichos parámetros con la mejor calidad posible⁽⁹⁸⁾.

La OMS plantea que las pruebas de diagnóstico rápido son seguras y útiles para la detección y el diagnóstico de la sífilis en los centros donde no estén disponibles la FTA-Abs o la TPHA, o en aquellos casos que requieran de un diagnóstico rápido, por la elevada probabilidad de una pérdida de los pacientes o por la negativa de los mismos para ofrecer muestras cuyo procesamiento técnico no ofrezca un resultado inmediato. La inmediatez elimina el período de incertidumbre para la definición de la enfermedad, facilita el diagnóstico rápido y la prescripción de un tratamiento oportuno⁽³⁾.

El sistema comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 tiene la posibilidad de aplicarse en muestras de suero, plasma o sangre total. Durante su validación externa se encontró una concordancia de 100% entre el suero y la sangre en los niveles de atención en salud. El mismo investigador aplicó la prueba para cada muestra en ambos niveles; además, por ser el procedimiento de realización muy sencillo, permitió una elevada repetibilidad y un bajo riesgo de error (figura 4). En ambos tipos de muestras positivas se observaron las reacciones o bandas coloreadas transcurridos los 20 minutos de iniciada la técnica, con ausencia de la misma en los de resultados negativos.

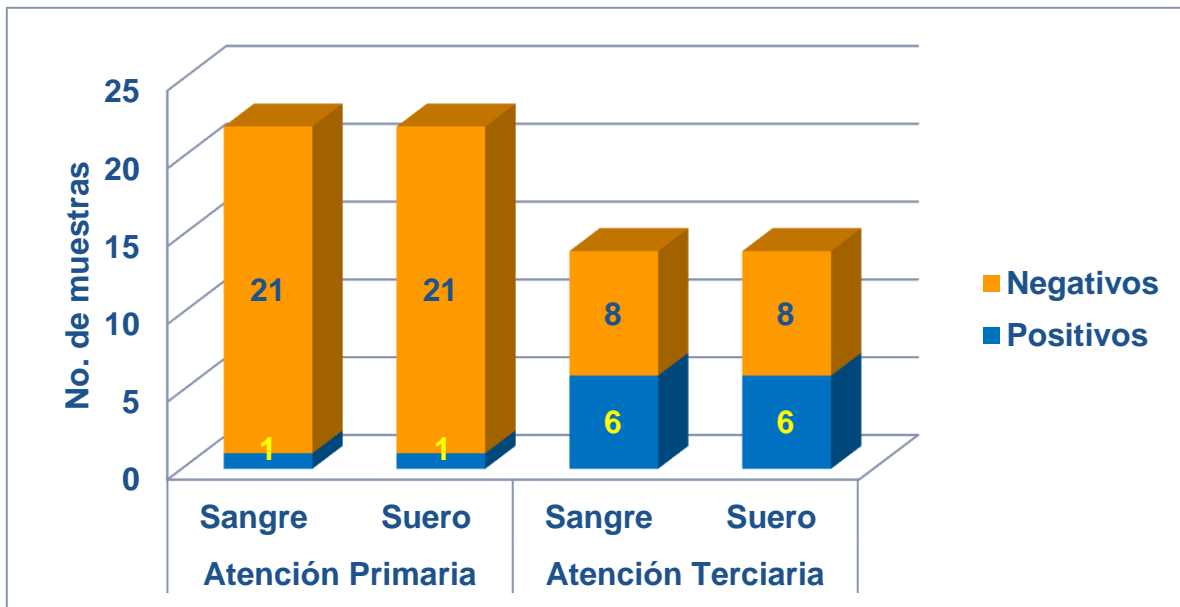


Figura 4. Concordancia de los resultados del SD BIOLINE Syphilis 3.0 en las muestras de suero y sangre en los diferentes niveles de atención en salud. LNE-IPK, octubre-diciembre, 2012

En Brasil evalúan cuatro sistemas comerciales en muestras de sangre y suero. Para las pruebas VisiTect Syphilis y Determine Syphilis TP observan concordancia entre ambas muestras, similar a la detectada en la presente investigación, a diferencia de los sistemas SD BIOLINE Syphilis 3.0 y Syphicheck-WB que muestran una concordancia de 99%. En ese estudio comparan, además, dos de las pruebas entre sí al emplear la misma muestra; SD BIOLINE Syphilis 3.0 y Syphicheck-WB, presentan cifras similares en sangre (99,4%) y suero (99,6%), mientras que, para VisiTect Syphilis y Determine Syphilis TP los resultados coinciden (97,9%) ⁽⁸⁶⁾.

Mabey *et al.*, al emplear sangre total en el desarrollo de las pruebas rápidas, observan un comportamiento variable en relación con el empleo de suero y reflejan de manera general una baja sensibilidad, la que relacionan con problemas en la lectura e interpretación de las mismas ⁽⁸³⁾, aspectos en los que no hubo dificultades en este trabajo de tesis.

V.2 Descripción de los costos de la aplicación de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 para la detección de anticuerpos contra *T. pallidum* en sangre y suero

Para la descripción de los costos de la aplicación del sistema serológico comercial en la detección de anticuerpos contra *T. pallidum*, se identificaron dos actividades: la extracción de la muestra clínica y la ejecución de la prueba rápida. La primera actividad, en el caso del empleo de la sangre, se efectuó mediante dos tareas: la inscripción de la solicitud de análisis y la extracción de la muestra clínica del paciente. En relación a esta última, se utilizaron dos variantes: mediante lanceta o jeringuilla. En el caso del empleo del suero, se realizaron tres tareas, que incluyen las mencionadas anteriormente y la obtención del suero por centrifugación. La segunda actividad en cualquier caso contó solo con una tarea: la realización de la prueba rápida.

En las tablas 3 y 4 se representan los costos (CUP) por actividad y tareas, además del costo total de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0, para el diagnóstico serológico de la sífilis venérea, empleando sangre obtenida con lanceta y jeringuilla, respectivamente. No se muestran valores de costos de medios de capital debido a que no se requieren de equipos de laboratorio para la realización de la prueba en sangre.

Tabla 3. Costos (CUP) de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 en sangre usando lanceta para la extracción de la muestra clínica.

Actividad	Tarea	Costo de salario	Costo de materiales	Costo de medios de capital	Costo total
1. Extracción de la muestra clínica	1.1 Inscripción de la muestra	0,04-0,06	0,00	-	0,04-0,06
	1.2 Extracción de la muestra	0,03-0,05	0,38	-	0,41-0,43
				Subtotal	0,45-0,49
2. Realización de la prueba rápida	2.1 Realización de la prueba rápida	0,04-0,06	1,32	-	1,36-1,38
					Subtotal
				TOTAL	1,81-1,87

Tabla 4. Costos (CUP) de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 en sangre usando jeringuilla para la extracción de la muestra clínica.

Actividad	Tarea	Costo de salario	Costo de materiales	Costo de medios de capital	Costo total
1. Extracción de la muestra clínica	1.1 Inscripción de la muestra	0,04-0,06	0,00	-	0,04-0,06
	1.2 Extracción de la muestra	0,03-0,05	0,53	-	0,56-0,58
				Subtotal	0,60-0,64
2. Realización de la prueba rápida	2.1 Realización de la prueba rápida	0,04-0,06	1,32	-	1,36-1,38
					Subtotal
				TOTAL	1,96-2,02

Atendiendo a los resultados mostrados los gastos en materiales son los que más aportan a los costos de la aplicación de la prueba en sangre, específicamente los implicados en la realización de la prueba, dados por los gastos en la compra del diagnosticador (1 determinación = 1 USD = 1 CUP). De igual manera se puede comprobar que el empleo de la lanceta para la extracción de la muestra disminuye los costos en relación a la utilización de la jeringuilla.

Se constata además que la diferencia entre los costos de salario según los ejecutantes evaluados es mínima, por lo que la variación en el personal calificado que realice la prueba no engendra costos mayores.

En la tabla 5 se representan los costos (CUP) de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 al emplear suero como muestra clínica. En esta ocasión, además de los costos de salario y de materiales, se muestra el valor de los costos de medios de capital debido a que para la obtención del suero se requiere del empleo de una centrífuga de mesa.

Tabla 5. Costos (CUP) de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0 en suero.

Actividad	Tarea	Costo de salario	Costo de materiales	Costo de medios de capital	Costo total
1. Extracción de la muestra clínica	1.1 Inscripción de la muestra	0,04-0,06	0,00	-	0,04-0,06
	1.2 Extracción de la muestra	0,07-0,11	0,54	-	0,61-0,65
	1.3 Obtención del suero (centrifugación)	0,45-0,68	0,84	1,34	2,63-2,86
				Subtotal	3,24-3,57
2. Realización de la prueba rápida	2.1 Realización de la prueba rápida	0,04-0,06	1,35	-	1,40-1,42
					Subtotal
				TOTAL	4,64-4,99

Como se puede observar los costos de materiales son lo que mayormente influyen en el costo total del procedimiento.

La introducción de una tarea (obtención del suero por centrifugación) requiere de personal dedicado más tiempo a la actividad, lo que incrementa los costos de salario; de igual manera demanda de otros materiales y equipo que conllevan al aumento del costo de la actividad y por ende del proceso. Ello se expresa en la tabla 5.

No hay antecedentes en la literatura consultada, para la sífilis venérea, de este tipo de estudio. Ello imposibilitó comparar los costos obtenidos en este trabajo con otra investigación similar para el diagnóstico serológico de sífilis por la prueba comercial. No obstante, Schackman *et al.*, en una investigación realizada en Haití evalúan el costo-efectividad de pruebas rápidas para el diagnóstico de sífilis, donde incluyen el SD BIOLINE Syphilis 3.0 y demuestran que esta prueba es costo-efectiva para la prevención de sífilis congénita ⁽¹⁰¹⁾.

El costo total de la prueba en suero supera en más de dos veces el costo en sangre, lo que implica que la variante menos costosa para la pesquisa de sífilis utilizando el SD BIOLINE Syphilis 3.0 es en la que se emplea como muestra clínica sangre, obtenida principalmente por punción del pulpejo del dedo con lanceta, tarea que puede ser realizada en cualquier área de atención en salud, dígase consultorio o consulta médica, laboratorio, sala de hospitalización, etc. e incluso en trabajo de campo. Esta variante no solo disminuye los costos, sino también el tiempo de demora en obtener los resultados.

V.3 Consideraciones generales

En el presente estudio se realizó, por primera vez en Cuba, una investigación de servicios y sistemas que incluyó la validación externa de una prueba inmunocromatográfica (SD BIOLINE Syphilis 3.0) para la pesquisa de sífilis; este

sistema serológico rápido mostró ventajas técnicas cuando se comparó con el método de referencia y los convencionales. Este procedimiento tiene poca complejidad técnica, es rápido y de fácil ejecución, por lo que puede ser realizado por personas no experimentadas y sin la necesidad de equipos sofisticados. Estas características lo hacen interesante para realizar evaluaciones económicas sobre la aplicación de cada uno de los diagnosticadores empleados en los diferentes niveles de atención en salud, y con ello contribuir a la toma de decisiones sobre los diagnosticadores más efectivos.

Se encontró además, un desempeño diagnóstico satisfactorio del producto evaluado, constatado por la adecuada correspondencia entre los resultados con esta prueba y la de referencia, lográndose de igual manera un acercamiento al diagnóstico de la infección por *T. pallidum* en los diferentes niveles de atención en salud. Todo ello sugiere el empleo de este diagnosticador en la pesquisa de la sífilis.

Es de señalar, que dado al número limitado de pruebas rápidas existentes en el laboratorio, el sistema comercial no pudo evaluarse en los sueros positivos a otras enfermedades infecciosas y no infecciosas, para detectar la existencia de posibles reacciones cruzadas, tampoco se pudo determinar cuan temprano puede hacerse positivo para el diagnóstico temprano de la infección, sugiriéndose dar respuesta a estas dos interrogantes en próximos trabajos. Estas incógnitas no conspiran con la efectividad del método serológico.

Por otra parte se demostró que una determinación por el SD BIOLINE Syphilis 3.0 resulta económica de manera general. Este indicador se puede reducir si se realiza la prueba empleando sangre, dado que los costos directos son menores.

En estos momentos, el sistema comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0 no está disponible en Cuba, por el cierre de la casa comercial Ampellos Latinoamérica, S.A., aunque se conoce que Mindmax Medical, de reciente establecimiento en el país,

comenzará a comercializar los productos de Standard Diagnosis. No obstante, la no existencia de estudios anteriores en el país con respecto a los sistemas rápidos de pesquisa para la sífilis, sugieren la continuación de investigaciones sobre esta temática, que permitan la introducción de las pruebas inmunocromatográficas en la red nacional de laboratorios, para la orientación de una correcta sospecha clínica de la infección.

CONCLUSIONES

- ❑ La prueba comercial SD BIOLINE Syphilis 3.0, por su fácil realización y parámetros de desempeño aceptables para la pesquisa rápida de sífilis en muestras de sangre y suero, constituye una herramienta útil para el diagnóstico y prescripción de un tratamiento oportuno.

.

- ❑ El SD BIOLINE Syphilis 3.0 resulta económico de forma general, lo que sugiere su incorporación a la red de laboratorios de salud pública para la orientación de una correcta sospecha clínica de la infección.

.

RECOMENDACIONES

- ❑ Evaluar el SD BIOLINE Syphilis 3.0 en muestras de sueros obtenidas en individuos con otras enfermedades infecciosas y no infecciosas, así como en etapas tempranas de la sífilis primaria.

- ❑ Valorar, a partir de un enfoque integral (desempeño y evaluación económica), la posible introducción de pruebas comerciales para la pesquisa de sífilis en la Red Nacional de Laboratorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- Berdasquera Corcho D, Lazo Álvarez MA, Galindo Santana BM, Gala González A. Sífilis: pasado y presente. Rev Cubana Hig Epidemiol 2004; 42(2):1-4.
- 2- Olmos Acebes L. Sífilis. Concepto. Etiología y Patogenia. En: Programa Nacional para la actualización de las Enfermedades de Transmisión Sexual. SEITSS. Madrid: Editorial para la Formación Sanitaria; 1999.p.209-17.
- 3- World Health Organization/Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases (WHO/TDR/SDI/06.1). The use of rapid syphilis tests. TDR/SDI/2006.
- 4- IPK. Bol Epidemiol Sem IPK 2013; 23(1).
- 5- Cuba. Ministerio de Salud Pública. Anuario Estadístico de Salud 2011. La Habana: Dirección Nacional de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2012.
- 6- Ginebra González OA. Microorganismos espirilares. En: Llop A, Valdés-Dapena M, Zuazo JL, eds. Microbiología y Parasitología Médica. Tomo I. Ciudad de La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2001.p.387-417.
- 7- Tramont E. *Treponema pallidum* (syphilis). In: Mandell, Douglas & Bennett's Principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, eds. 7th ed. Orlando, FL: Churchill Livingstone Elsevier; 2010.p.3035-53.
- 8- Sokolovsky E, Frigo N, Rotanov S, Savicheva A, Dolia O, Kitajeva N, *et al.* Guidelines for the laboratory diagnosis of syphilis in East European countries. J Eur Acad Dermatol Venereol 2009; 23(6):623-32.
- 9- Tucker JD, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS. Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a systematic review. Lancet Infect Dis 2010; 10(6):381-86.

- 10- Torres MF. Diagnóstico directo de la sífilis. En: Manual práctico de bacteriología médica. Guatemala: Servipresa; 1996.p.153-56.
- 11- OMS. Treponemal infections. Geneva: World Health Organization; 1982. (Technical Report Series No.674.)
- 12- Binnicker MJ. With algorithm should be used to screen for syphilis?. *Curr Opin Infect Dis* 2012; 25:79-85.
- 13- Estrada S, Guevara J, Gallego M. El laboratorio en el diagnóstico de sífilis. *Med Lab* 1998; 8:191-208.
- 14- Estrada S. Las pruebas rápidas en la promoción, prevención y diagnóstico de la sífilis. *Infect* 2008; 12(4):287-96.
- 15- Proyecto CISNE (citado el 5 de diciembre 2012) Disponible en: <http://www.proyectocisne.org/index.php?option=comcontent&view=article&id=49&Itemid=54>
- 16- Blandford JM, Gift TL, Vasaikar S, Kayongo-DM, Dlali P. Cost-effectiveness of on-site antenatal screening to prevent congenital syphilis rural Eastern Cape Province, Republic of South Africa. *Sex Transm Dis* 2007; 83(Suppl. 34):S61-6.
- 17- Masemann S. Enfermedades cutáneas e infecciones venéreas. La Habana: Editorial Científico-Técnica; 1987.p.126-27.
- 18- Belli L. Treponemas. En: Basualdo JA, Coto CE, De Torres RA. *Microbiología biomédica*. Argentina: Atlante; 1996.p.400-09.
- 19- Asociación para la difusión de la historia en Internet. Sífilis: la maldición de Venus. (Citado 12 enero 2012). Disponible en: <http://www.portaldehistoria.com/secciones/epidemias/sifilis.asp>
- 20- Valderrama J, Zacarías F, Mazín R. Sífilis materna y sífilis congénita en América Latina: un problema grave de solución sencilla. *Rev Panam Salud Pública* 2004; 16(3):211-17.
- 21- Sánchez MD. Las enfermedades transmitidas sexualmente (STD) son un formidable desafío a la Salud Pública. *Med Interamericana*; 1994.p.34-8.

- 22- Erbeling E, Quinn TC. The impact of antimicrobial resistance on the treatment of sexually transmitted diseases. *Infect Dis Clin North Am* 1997; 11(4):889-903.
- 23- Garrity GM, Winters M, Seales DB. Taxonomic outline of the Procaroty genera Bergey's manual of systematic bacteriology. 2da ed. Release 1.0; 2001.
- 24- Visser MB, Ellen RP. New insights into the emerging role of oral spirochaetes in periodontal disease. *Clin Microbiol Infect* 2011; 17:502–12.
- 25- Joklik WK, Willet HP, Amos DB, Wilfert CM. *Zinsser Microbiología*. 20^a ed. USA: Médica Panamericana S.A; 1998.
- 26- Jawetz E, Melnick JL, Adelverg EA. Espiroquetas y otros microorganismos espirilares. En: *Microbiología médica*. 14 ed. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008.p.299-308.
- 27- Paz Burgos LE. *Treponema pallidum*: estructura y antigenicidad. *Univ Cienc Soc* 2010; 1(2):42-4.
- 28- Minsap. Infecciones de Transmisión Sexual, pautas para su tratamiento. La Habana: Minsap; 2004.
- 29- Lukehart SA. Enfermedades causadas por espiroquetas En: Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, eds. *Harrison Principios de Medicina Interna*. 16ta ed. New York: McGraw-Hill; 2005.
- 30- Cherneskie T. An update and review of the diagnosis and management of syphilis. Region II STD/VIH Prevention Training Center; New York City Department of Health and Mental Hygiene. New York: NY; 2006.
- 31- García P, Grassi B, Fich F, Salvo A, Araya L, Abarzúa F, *et al*. Diagnóstico de la infección por *Treponema pallidum* en pacientes con sífilis temprana y neurosífilis mediante reacción de la polimerasa en cadena. *Rev Chil Infect* 2011; 28(4):310-15.
- 32- Chacón LL, Alvarez A, Pesant O, Sánchez J. Libro de consejería en ITS y VIH/sida. Información básica. Cuba: Salud Pública; 2004.

- 33- Brown D, Frank JE. Diagnosis and management of syphilis. *Am Fam Physician* 2003; 68:283-90.
- 34- Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, *et al.* Ballard RC. Genital ulcer adenopathy syndrome. In: Holmes KK, Sparling PF, Stamm WE, *et al.*, editors. *Sexually transmitted diseases*. 4th ed. New York: McGraw Hill; 2008. p. 1201-1208.
- 35- Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2010. *MMWR* 2010; 59:26-101.
- 36- Bellis MA, Cook P, Clark P, Syed Q, Hoskins A. Reemerging syphilis in gay men: a case-control study of behavioural risk factors and HIV status. *J Epidemiol Community Health* 2002; 56:235-36.
- 37- Rodríguez I, Rodríguez ME, Fernández C, Blanco O, Llop A. Diagnóstico de sífilis en pacientes VIH/sida. *Rev Cubana Med Trop* 2004; 56(1):67-9.
- 38- Palacios MR, de la Fuente AJ, Murillas AJ, Nogueira CJM, Santos GJ. Sífilis e infección por el virus de la inmunodeficiencia humana. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2006; 24(Supl 2):34-9.
- 39- Martin IE, Gu W, Yang Y, Tsang RSW. Macrolide resistance and molecular types of *Treponema pallidum* causing primary syphilis in Shanghai, China. *Clin Infect Dis* 2009; 49:515-21.
- 40- Peng RR, Wang AL, Li J, Tucker JD, Yin YP, Chen XS. Molecular Typing of *Treponema pallidum*: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(11):1-8.
- 41- Godfrey JA, Damian G. Sífilis congénita: Un problema continuo pero descuidado. *Seminars in Fetal & Neonatal Medicine* 2007; 12:198-206.
- 42- Aldana Y. Seroprevalencia de sífilis en diferentes grupos poblacionales de Ciudad de la Habana. [Trabajo de diploma] 2005.
- 43- Todd J, Munguti K, Grosskurth H, Mangara J, Chagalucha J, Mayaud P, *et al.* Risk factors for active syphilis and TPHA seroconversion in a rural Africa population. *Sex Transm Infect* 2001; 77:37-45.

- 44- Ficarra G, Carlos R. Syphilis: the renaissance of an old Disease with oral implications. *Head Neck Pathol* 2009; 33(3):195-206.
- 45- Organización Mundial de la Salud (OMS). (Citado 15 octubre 2012). Disponible en: <http://www.epi.minsal.cl>
- 46- Vasilevich A, Weisenseel P, Trommler P, Multhaupt S, Christoph J. Detection of the 47-kilodalton membrane immunogen gene of *Treponema pallidum* in various tissue sources of patients with syphilis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 5:143-45.
- 47- Sáez N, Delgado C, Romero F, Báez RM. El diagnóstico de laboratorio de la sífilis. Revisión bibliográfica. *Rev Cubana Med Gen Integral* 1997; 13(1):43-8.
- 48- Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8(1):1-21.
- 49- RG, Knispel J, Schuman E, Gernainu, G, Saruk M. Immunoperoxidase technique for detecting spirochetes in tissue sections: comparison with other methods. *Int J Dermatol* 2000; 39:609-13.
- 50- Gayet-Ageron A, Ninet B, Toutous-Trellu L, Lautenschlager S, Furrer H, Puget V, *et al.* Assessment of a real-time PCR test to diagnose syphilis from diverse biological samples. *Sex Transm Infect* 2009; 85(4):264-69.
- 51- Leslie D, Azzato F, Karapanagiotidis T, Leydon J. Development of a real-time PCR assay to detect *Treponema pallidum* in clinical specimens and assessment of the assay's performance by comparison with serological testing. *J Clin Microbiol* 2007; 45(1):93-6.
- 52- Alvarez Maturell EL. Validación del sistema microELISA anti-TmpA, novedoso método para el diagnóstico de la sífilis. [Tesis para optar por el título de Master en Bacteriología-Micología]. Ciudad de La Habana: IPK; 1998.
- 53- Young H, Pryde J, Duncan L, Dave J. The archived syphilis assay for antibodies to *Treponema pallidum*: an automated screening assay with high sensitivity in primary syphilis. *Sex Transm Infect* 2009; 85:19-23.

- 54- Vulcano S, Kaynar V, Levite V. Prevención de la transmisión vertical de: sífilis, hepatitis B y VIH. Recomendaciones para el trabajo de los equipos de salud. Argentina: Dirección de sida y Enfermedades de Transmisión Sexual; 2011.p.23-55.
- 55- Sharyn L, Roger Y, Alan E. Absence of risk factors for false positive test results in blood donors with a reactive test result in an automated treponemal test (PK-Tp) for syphilis. *Transfusion* 2001; 41(6):744-50.
- 56- Morse SA. Advances in diagnostic tests for bacterial STDs. *Salud Pública México* 2003; 45(5):698-708.
- 57- Gutiérrez J, Vergara MJ, Soto MJ, Piédrola G, Marato MC. Clinical utility of a competitive ELISA to detect antibodies against *Treponema pallidum*. *J Clin Lab Anal* 2000; 14(2):83-6.
- 58- Marangoni A, Sambri V, Olmo A, D'Antuono A, Negosanti M, *et al.* IgG Western blot as a confirmatory test in early syphilis. *Zentb & Bakteriologie* 2000; 289:125-33.
- 59- Sambri V, Marangoni A, Eyer C, Reichhuber C, Soutschek E, Negosanti M, *et al.* Western immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serologic diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001; 8(3):534-39.
- 60- Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, Sablon E, Samson L, *et al.* Validation of the INNO-LIA Syphilis kit as a confirmatory assay for *Treponema pallidum* antibodies. *J Clin Microbiol* 2000; 38(1):215-19.
- 61- SD Standard Diagnostics, INC, 2011. (Citado 4 de octubre de 2012). Disponible en: http://www.standardia.com/html_s/mn03/mn03_01_00.asp?intId=28
- 62- Variant HR. *Intermediate Microeconomics: a modern approach*, 4ta.ed. New York-London: W.W. Norton y Company; 2004.
- 63- Drummond MF, O'Briend BJ, Stoddart GL. *Methods for economic evaluation of health care programmers*. 3ra.ed. New York: Oxford University Press; 2005.

- 64- Briggs A, Claxton K, Sculper M. Decision modelling for health economics evaluation. 1ra.ed. New York: Oxford University Press; 2007.
- 65- Gold MR. Cost effectiveness in health and medicine. New York: Oxford University Press; 1996.
- 66- Flessa S. Costing of health care services in developing countries. A prerequisite for affordability sustainability and efficiency. Heidelberg: Peter Lang; 2009.
- 67- Baly A. Costo y costo-efectividad de estrategias comunitarias para el control de Aedes Aegypti y la prevención del dengue. [Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias de la Salud]. La Habana: IPK; 2010.
- 68- Reynolds J, Gaspari KC. Operation research methods: cost-effectiveness analysis. Maryland:CHS; 1986.
- 69- Haddix A, Teutsch SA. Practical guide to prevention effectiveness: Decision and economic analysis. 2da.ed. New York: Oxford University Press; 2003.
- 70- Rodríguez I, Torres C, Echevarria E, Noda AA. Nueva propuesta metodológica para la pesquisa serológica de sífilis con VDRL-Plus. Rev Cubana Med Trop 2014; 66(1). Disponible en: <http://www.revmedtropical.sld.cu/index.php/medtropical/article/view/17/16> (10/febrero/2014).
- 71- Mesa M, Blanco MA. Costo hospitalario del ictus isquémico agudo. Rev Cub Med Mil 2011; 40(1). [citado el 12 de marzo de 2013] Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572011000100004&lng=es&nrm=iso .
- 72- OMS. CHOosing Interventions that are Cost Effective (WHO-CHOICE). Costs and prices: Price of Programme Cost Inputs; 2013 [citado el 12 de marzo de 2013] Disponible en: http://www.who.int/choice/costs /prog_costs_intro/en/.

- 73- Cecmed. Regulación No. 47-2007: Requisitos para la evaluación del desempeño de los diagnosticadores. Disponible en: <http://www.cecmed.sld.cu/Pages/AmbReg-8.htm> (11/septiembre/2012).
- 74- CITMA. Resolución No. 38/2006: Lista oficial de agentes Biológicos que afectan al hombre, los animales y las plantas; 2006.
- 75- Campos PE, Buffardi AL, Chiappe M, Buendia C, Garcia PJ, Carcamo CP, *et al.* Utility of the Determine syphilis TP rapid test in commercial sex venues in Peru. *Sex Transm Infect* 2006; 82(5):22-5.
- 76- Siedner M, Zapitz V, Ishida M, De La Roca R, Klausner JD. Performance of rapid syphilis tests in venous and fingerstick whole blood specimens. *Sex Transm Dis* 2004; 31(9):557-60.
- 77- Sampedro A, Rodríguez GJ, Cabrera J, Mazuelas P. Evaluación de dos test inmunocromatográficas para detección de anticuerpos frente a *T. pallidum*. *Enf Infec Microbiol Clin* 2010; 28(5):329-30.
- 78- Tinajeros F, Grossman D, Richmond K, Steele M, García SG, Zegarra I, *et al.* Diagnostic accuracy of a point-of-care syphilis test when used among pregnant women in Bolivia. *Sex Transm Infect* 2006; 82(suppl V):17-21.
- 79- Vanijajiva K, Keawkong W, Waropastrakul S, Sirijaichingkul S, Wongpratoom W. Evaluation of SD BIOLINE Syphilis 3.0 for syphilis diagnosis. *J Med Tech Phy Ther* 2008; 20(3):188-193.
- 80- Aboud S, Lyamura EF, Sufi J, Haule E. Comparison of the performance of SD BIOLINE Syphilis 3.0 assay with the RPR test for the syphilis screening in Dar es Salaam Tanzania. *Tanzania Med Journal* 2006; 21(1):6-7.
- 81- Yin YP, Wei WH, Wang HC, Zhu BY, Yu YH, Chen XS, *et al.* Performance of serological test for syphilis in sexually transmitted diseases clinics in Guangxi Autonomous Region, China: implications for syphilis surveillance and control. *Sex Health* 2009; 6(1):5-9.
- 82- Jafari Y, Peeling RW, Shivkumar S, Claessens C, Joseph L, Pai NP. Are *Treponema pallidum* specific rapid and point of care test for syphilis

- accurate enough for screening in resource limited setting? Evidence from a meta-analysis. PLoS One 2013; 8(2):e54695.
- 83- Mabey D, Peeling RW, Ballard R, Benzaken AS, Galbán E, Chagalucha J, *et al.* Prospective, multi-centre clinic-based evaluation of four rapid diagnostic tests for syphilis. Sex Transm Infect 2006; 82:13–6.
- 84- The sexually transmitted diseases diagnostics initiative. Laboratory-based evaluation of rapid syphilis diagnostics. Switzerland, UNDP/World Bank/WHO; 2003.
- 85- Seña AC, White BL, Sparling PF. Novel *Treponema pallidum* serologic test: a paradigm shift syphilis screening for the 21st century. Clin Infect Dis 2010; 51(6):700-8.
- 86- Juárez FI, Uribe SF, García CS, Olamendi PM, Conde GCI. Evaluation of a rapid strip and particle agglutination test for syphilis diagnosis. Diagn Microbiol Infect Dis 2007; 59:123-6.
- 87- Benzaken AS, Sabido M, Galban EG, Pedroza V, Vasquez F, Araújo AJG, *et al.* Field evaluation of the performance and testing costs of a rapid point-of-care test for syphilis in a red-light district of Manaus, Brazil. Sex Transm Infect; 2008.
- 88- Hernández TM, Hernández PB, Uribe SF, Juárez FL, Conde GCJ. Sífilis materna y congénita en dos hospitales mexicanos: evaluación de una prueba diagnóstica rápida. Rev Invest Clin 2006; 58(2):1-14.
- 89- Diaz T, Almeida MGB, Georg I, Maia SC, de Souza RV, Markowitz LE. Evaluation of the Determine rapid syphilis TP assay using sera. Clin Diagn Lab Immunol 2004; 11: 98–101.
- 90- Revollo R, Tinajeros F, Hilari C, García SG, Zegarra L, Díaz CO, *et al.* Sífilis materna y congénita en cuatro provincias de Bolivia. Salud pública Méx 2007; 49(6):1-14.
- 91- Zhuang YH, Tian Y, Chen T, Tang J, Waung JQ, Li P, *et al.* Evaluation of the Determine Syphilis TP assay for the detection of antibodies against

- Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. *Europ Journ of Clinic Microbiol & Infect Dis* 2012; 31(6):929-35.
- 92- Dommelen L, Smismans A, Goossens VJ, Damoiseaux J, Bruggeman CA, van Tiel FH. Evaluation of a rapid one-step immunochromatographic test and two immunoenzymatic assays for the detection of anti-*Treponema pallidum* antibodies. *Sex Transm Infect* 2008; 84(4):292-6.
- 93- Sato SN, Silvia de Melo C, Zerbini L, Silveira E, Fagundes LJ, Ueda M. Assessment of the rapid test base on an immunochromatographic technique for detecting anti-*Treponema pallidum* antibodies. *Rev Inst Med trop Sao. Paulo* 2003; 45(6):1-8.
- 94- Benzaken AS, Sabido M, Galban E, Pedroza V, Araújo AJG, Peeling RW, *et al.* Field performance of a rapid point-of-care diagnostic test for antenatal syphilis screening in the Amazon region, Brazil. *Int J STD aids* 2011; 22:15–8.
- 95- López C, Estrada S. Comparación de la técnica de inmunocromatografía con la prueba de aglutinación de partículas contra *T. pallidum* (TP-PA) para el diagnóstico confirmatorio de sífilis. *Medicina UBP* 2005; 24(2):159-63.
- 96- Lien T X, Tien N T, Chanpong G F. Evaluation of rapid diagnostic tests for the detection of human immunodeficiency virus types 1 and 2, hepatitis B surface antigen, and syphilis in Ho Chi Minh City, Vietnam. *Am J Trop Med Hyg* 2000; 62301–9.
- 97- Benzaken AS, Galbán GE, Gómez SJC, Dutra JCJ, Peeling R. Rapid tests for diagnosing syphilis: validation in an STD clinic in the Amazon, region Brazil. *Cad Saude Publica* 2007; 23(3):456-64.
- 98- García CS, Olamendi PM, Méndez HA, Velásquez MM, Portugal GC, Bahena RS, *et al.* Sensibilidad y especificidad de dos pruebas treponémicas para el diagnóstico serológico de la sífilis. *Enf inf microbiol* 2008; 28 (2): 46-50.

- 99- Zarakolu P, Buchanan I, Tan M, Smith K, Hook EW. Preliminary evaluation of an immunochromatographic strip test for specific *Treponema pallidum* antibodies. J Clin Microbiol 2002; 40(8):3064-5.
- 100- Nessa K, Alam A, Hasan ChFA, Huq M, Nahar S, Salauddin G, et al. Field evaluation of simple rapid tests in the diagnosis of syphilis. Int J STD & aids 2008; 19(5):316-20.
- 101- Schackman BR, Neukermans CP, Nerette SNN, Nolte C, Joseph P, Pape JW, et al. Cost-effectiveness of rapid syphilis screening in prenatal HIV testing programs in Haiti. PLoS Med 2007; 4(5): e183.

ANEXOS**Anexo 1****Información verbal a los pacientes:**

Usted participará en una investigación titulada: “Evaluación de una prueba rápida para la pesquisa de sífilis venérea”, con el objetivo de evaluar dicho sistema comercial mediante una toma de muestra de sangre y suero, lo que permitirá la orientación en el diagnóstico de la sífilis en el lugar de la consulta y propiciará además un tratamiento inmediato, contribuyendo de esta manera con un nuevo medio diagnosticador en la vigilancia de esta enfermedad en Cuba.

Anexo 2

Planilla de consentimiento informado

Declaro que he sido informado de los objetivos del estudio, así como la importancia de los resultados de la investigación. Tengo conocimiento de que la muestra para el estudio será tomada por un personal designado y capacitado para esta función. Sin presiones y pudiendo decidir en cualquier momento del desenvolvimiento del estudio y de forma totalmente libre, retirarme de esta investigación.

Yo, _____ en plenitud de mis facultades mentales, estoy de acuerdo que, la muestra ya tomada para el diagnóstico serológico de sífilis por VDRL, se utilice también para el diagnóstico rápido de esta enfermedad. Por tanto:

- a- El posible beneficio que tendré de este estudio es establecer un diagnóstico rápido de la enfermedad que permita el tratamiento adecuado y oportuno.
- b- Mi identidad no puede ser revelada y los datos clínicos y microbiológicos permanecerán en forma confidencial, a menos que sean solicitados por ley. Los resultados de este estudio pueden ser publicados.
- c- Este consentimiento ha sido firmado por mí voluntariamente sin que haya sido forzado(a) u obligado(a), luego de haber recibido la adecuada información.
- d- Cualquier consulta que requiera hacer en relación a mi participación en el estudio, deberá ser formulada al médico tratante _____.

Fecha y lugar de aceptación: _____

Firma del Paciente: _____

Anexo 3

Descripción del proceso

Actividad	Tarea	Ejecuta	Materiales e insumos	Tiempo medio (min)	Lugar
Extracción de la muestra clínica	Inscripción de la muestra	- Lic. Enferm. - Téc. Enferm - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico	- Bolígrafo - Libreta (registro)	1,16	- Consulta - Laborat.
	Extracción de la muestra	- Lic. Enferm. - Téc. Enferm - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico	- Guantes - Jeringuilla desechable 10ml (con aguja) o lanceta - Algodón (x113 gr rollo) - Alcohol absoluto (1L) - Rotulador (marcador permanente o lápiz cristalográfico) - Contenedor para desechar material - Uniforme de enfermería o laboratorio - Pijama	1	- Consulta - Laborat.
Realización de la prueba rápida	Realización de la prueba rápida	- Lic. Enferm. - Téc. Enferm - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico	- Tira - Rotulador (marcador permanente o lápiz cristalográfico) - Bolígrafo - Contenedor para desechar material - Guantes - Libreta (registro) - Tiempo	1,2	- Consulta - Laborat.

Actividad	Tarea	Ejecuta	Materiales e insumos	Tiempo medio (min)	Lugar
Extracción de la muestra clínica	Inscripción de la muestra	<ul style="list-style-type: none"> - Lic. Enf. - Téc. Enf. - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico 	<ul style="list-style-type: none"> - Bolígrafo - Libreta (registro) 	1,16	<ul style="list-style-type: none"> - Consulta - Laborat.
	Extracción de la muestra	<ul style="list-style-type: none"> - Lic. Enf. - Téc. Enf. - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico 	<ul style="list-style-type: none"> - Guantes - Jeringuilla desechable 10ml (con aguja) - Algodón (x113 gr rollo) - Alcohol absoluto (1L) - Rotulador (marcador permanente o lápiz cristalográfico) - Gradilla para tubos - Tubos de serología (13x100mm 10ml) - Contenedor para desechar material - Uniforme de enfermería o laboratorio - Pijama 	2,36	<ul style="list-style-type: none"> - Consulta - Laborat.
	Obtención del suero (centrifugación)	<ul style="list-style-type: none"> - Lic. Enf. - Téc. Enf. - Lic. Tecnol. - Téc. Lab. clínico 	<ul style="list-style-type: none"> - Vial (pqte x 500) - Micropipeta P1000 - Puntas azules (pqte x1000) - Guantes - Contenedor para desechar material - Gradilla para vial P5 	15	<ul style="list-style-type: none"> - Laborat.

Realización de la prueba rápida	Realización de la prueba rápida	<ul style="list-style-type: none">- Lic. Enferm.- Téc. Enferm- Lic. Tecnol.- Téc. Lab. clínico	<ul style="list-style-type: none">- Tira- Rotulador (marcador permanente o lápiz cristalográfico)- Micropipeta P20- Puntas amarillas (pqte 1000)- Bolígrafo- Contenedor para desechar material- Guantes- Libreta (registro)- Tiempo	1,43	<ul style="list-style-type: none">- Consulta- Laborat.
---------------------------------	---------------------------------	---	---	------	---

Anexo 4

1- Encuesta para la extracción de la muestra.

Fecha:

Paciente No.:_____ Hora de llegada: _____

Hora del término de la inscripción: _____

Hora del término de la extracción: _____

Mencione los materiales o insumos utilizados:

2- Sobre el procesamiento de la muestra (centrifugación)

Modelo de la centrífuga: _____

Capacidad de la centrífuga: _____

Tiempo de montaje en la centrífuga: _____

Tiempo de recolección del suero: _____

Anexo 5

Encuesta para la realización de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0.

Fecha: _____, número de la muestra: _____

Hora de inicio de la realización de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0: _____

Hora de terminación de la realización de la prueba SD BIOLINE Syphilis 3.0:

Tiempo de anotación en el libro para la prueba: _____