



## NOTA TÉCNICA

# Aportación de las pruebas serológicas automatizadas en el diagnóstico de sífilis: comparación de 2 inmunoensayos quimioluminiscentes con el *Treponema pallidum* hemagglutination assay

Miguel Ángel Benítez Merelo, Alba Cebollero Agustí\* y Begoña Gutiérrez Lobato

Laboratorio de Análisis Clínicos, Consorci del Laboratori Intercomarcal, Vilafranca del Penedés, Barcelona, España

Recibido el 2 de marzo de 2012; aceptado el 3 de julio de 2012

Disponible en Internet el 15 de agosto de 2012

### PALABRAS CLAVE

Serología sífilis;  
Ensayos treponémico automatizados;  
Algoritmo diagnóstico

### KEYWORDS

Syphilis serology;  
Treponemal automated immunoassays;  
Diagnostic algorithm

**Resumen** La aparición de pruebas treponémicas automatizadas ha conllevado un cambio en el algoritmo diagnóstico de la sífilis. Tras comparar el algoritmo automatizado con el tradicional, evaluamos 2 inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA). Sobre 94 sueros se realizó RPR, TPHA y la técnica *Architect Syphil TP* (STP). En una segunda fase en 100 muestras se comparó el STP frente a *Immolute Syphilis screen* (ISS). En la primera fase hubo un falso positivo del STP respecto a 8 del RPR. En la segunda fase hubo una diferencia de especificidad estadísticamente significativa a favor del ISS. El uso de CLIA disminuye los errores analíticos y el tiempo de personal técnico frente a las pruebas no treponémicas. Ambos CLIA son útiles como prueba de cribado.

© 2012 AEBM, AEFA y SEQC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

**Contribution of automated serological tests in the diagnosis of syphilis: Comparison of 2 chemiluminescence immunoassays with *Treponema pallidum* hemagglutination assay**

**Abstract** The introduction of automated treponemal chemiluminescence assay (CLIA) has led to a change in the diagnostic algorithm of syphilis. The objective of the work was to compare the traditional algorithm with the automated one and evaluating two CLIA assays. A total of 94 sera were tested for rapid plasma reagin (RPR), *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) and *Architect Syphil TP* (Syphilis *Treponema pallidum*, STP). In a second phase, 100 samples were compared, STP against *Immolute Syphilis screen* (ISS). In the first phase, 8 false positive

\* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: [mabenitez@cli.scs.es](mailto:mabenitez@cli.scs.es) (M.Á. Benítez Merelo), [acebollero@cli.scs.es](mailto:acebollero@cli.scs.es) (A. Cebollero Agustí), [bgutierrez@cli.scs.es](mailto:bgutierrez@cli.scs.es) (B. Gutiérrez Lobato).

RPR were found with just 1 STP. In the second phase, a statistically significant difference was found in the specificity in favour of the ISS. The use of CLIA reduces analytical errors and staff time spent on the nontreponemal test. Both CLIA are useful as screening tests.

© 2012 AEBM, AEFA y SEQC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

La sífilis es una enfermedad causada por la bacteria *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (*T. pallidum*). Su vía de transmisión más frecuente es la sexual, siendo posible su transmisión congénita, por transfusión y por inoculación accidental directa. El diagnóstico serológico de la sífilis tiene una especial importancia por la ausencia de cultivo convencional y porque la infección se caracteriza por periodos de latencia, que pueden progresar clínicamente al cabo de varios años. Tradicionalmente el cribado serológico ha consistido en un test no treponémico, *Venereal Disease Research* (VDRL) o *Rapid Plasma Reagin* (RPR), con la confirmación en los casos positivos de una prueba treponémica más específica, *Treponema pallidum Particle Agglutination* (TPPA), *Treponema pallidum Hemagglutination Assay* (TPHA) o *Fluorescent Treponemal Antibody Absorbed* (FTA-ABS).

Recientemente han aparecido pruebas treponémicas automatizadas que emplean antígenos recombinantes de *T. pallidum*<sup>1</sup>. Esta automatización conlleva un cambio en el algoritmo de cribado<sup>2-4</sup>, comenzando por un test treponémico y realizando a los positivos una prueba no treponémica.

El objetivo de este trabajo ha sido en primer lugar comparar el algoritmo automatizado de cribado con el tradicional y en una segunda fase evaluar 2 inmunoensayos quimioluminiscentes (CLIA) treponémicos: *immulite syphilis screen* (ISS) (Siemens, Alemania) y *Shyphil TP* (STP) (Abbott Diagnostics, Alemania) como prueba inicial de cribado, utilizando el TPHA, test treponémico tradicional, como método de referencia refrendado por la literatura<sup>4-7</sup>.

## Material y métodos

En la primera fase se seleccionaron de forma retrospectiva 94 sueros a los que se les solicitaba cribado serológico para sífilis, 56 con un resultado RPR+ y 38 RPR-. Asimismo se les realizó el TPHA y la técnica STP.

Para la segunda fase se analizaron de forma prospectiva un total de 100 muestras con la petición de cribado serológico de sífilis. A todas ellas se les realizó el ensayo ISS en el analizador Immulite 2000, el ensayo STP en el analizador Architect i2000 y el TPHA (Biokit SA, España). A todas las muestras con un resultado positivo para ISS y/o STP también se les realizó el RPR.

El ensayo ISS es un inmunoensayo quimioluminiscente en fase sólida que consta de una esfera recubierta con el antígeno recombinante purificado de *T. pallidum* 17 (Tp17). Un resultado  $\geq 1,1$  es reactivo, un resultado  $< 0,9$  no es reactivo y un valor entre  $\geq 0,9$  y  $< 1,1$  es indeterminado.

**Tabla 1** Resultados de los 94 sueros estudiados con RPR, TPHA y Shyphil TP

	RPR + TPHA +	RPR – TPHA +	RPR – TPHA –	RPR+ TPHA –
<i>Shyphil TP</i>				
+	47	13	0	1
-	1	0	25	7

El ensayo STP para Architect es un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) recubiertas por los antígenos recombinantes de *T. pallidum*: TpN15, TpN17 y TpN47. Se consideran como no reactivas las muestras con valores  $< 1,0$  y reactivas las de valores  $\geq 1,0$ .

El test del TPHA (Biokit S.A., España) y RPR-carbón (BioSystems S.A. España) se realizaron acorde con las indicaciones del fabricante.

El análisis estadístico de los datos se realizó con el paquete estadístico SPSS 20.0.0. Se utilizó el test de chi-cuadrado para comparar las diferencias entre los 2 CLIA y el TPHA.

## Resultados

Los resultados encontrados de los 94 sueros estudiados en la primera fase se resumen en la [tabla 1](#).

Los 7 pacientes (7,2%) con un resultado positivo de RPR, pero con el TPHA y el STP negativos se consideraron falsos positivos para el RPR. Cinco eran sueros de embarazadas, uno era un paciente con LES y del otro paciente no constan datos clínicos relevantes.

En un paciente afecto por la bacteria *Helicobacter pylori*, tanto el resultado de RPR como el del STP fueron positivos, pero negativo el TPHA interpretándose como una posible reacción cruzada. Hubo un falso negativo del STP en que el RPR y el TPHA eran positivos a títulos bajos.

Los resultados de la segunda fase se resumen en la [tabla 2](#). Ambos ensayos presentan una concordancia positiva del

**Tabla 2** Resultados de los 100 sueros estudiados con los 2 CLIA

	Total positivos	Total negativos	Falsos positivos	Falsos negativos
ISS	40	60	2	0
STP	46	54	8	0

86,9% (IC 95% = 76,6-96,7%), una concordancia negativa del 100% y una concordancia total del 93% (IC 95% = 90-100%).

El TPHA fue positivo en 38 de los 100 sueros estudiados. La sensibilidad de ambos ensayos respecto al TPHA fue del 100% mientras que la especificidad ha sido del 96,8% en el ISS y de 87,1% en el STP. Con el cribado ISS un 3,26% (2 de 62) de las muestras no reactivas para sífilis (RPR y TPHA negativos) requirieron estudios de confirmación, mientras que con STP, lo requirieron 12,9% (8/62), siendo estas diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,001$ ).

Los 2 ensayos han tenido un valor predictivo negativo del 100%, mientras que el valor predictivo positivo ha sido del 98% para ISS y del 92% para el STP.

Los 2 falsos positivos de ISS presentaban índices inferiores a 2,5, mientras que los 8 falsos positivos de STP tenían índices entre 1,4 y 5,7.

## Discusión

El cribado con una prueba treponémica automatizada permite disminuir el tiempo empleado en pruebas manuales y disminuir los errores preanalíticos, analíticos y postanalíticos<sup>8,9</sup>. A nivel interpretativo, el cribado con RPR acarrea más falsos positivos por errores en la interpretación subjetiva, y por interferencias en embarazadas y pacientes con enfermedades infecciosas y autoinmunes<sup>7</sup>. En estos casos la realización de una segunda prueba treponémica incrementa su coste<sup>10</sup>. Para una técnica de cribado la sensibilidad es crucial, y la especificidad es un factor muy importante, especialmente en una enfermedad de transmisión sexual. Por ello, es recomendable en un resultado positivo confirmar con un segundo test treponémico<sup>1,3</sup> como el TPHA y en todos los positivos realizar y titular el RPR. Confirmar todas las muestras positivas es laborioso y costoso, por lo que, en nuestra experiencia, se deberían comprobar los resultados que cada laboratorio establezca como positivo débil en función de su punto de corte, ya que puede variar en función del test de CLIA que vaya a utilizarse y del tipo de población a la que de servicio el laboratorio. Debido a que no hay muchos estudios realizados, y los que hay recogen un número pequeño de casos, no existe consenso en los puntos de corte a establecer para comprobar los positivos<sup>11</sup>. Según nuestra experiencia, para ISS los positivos entre 0,9 y 3,0 se deberían testar con otro test treponémico como el TPHA. Para STP, debido a la menor especificidad encontrada en este estudio, se deberían comprobar los positivos entre 1,0 y 6,0, aunque son necesarios estudios más amplios que confirmen nuestros hallazgos. Aunque ambos ensayos

CLIA son útiles como prueba de cribado respecto a las pruebas no treponémicas convencionales<sup>1-8</sup>, ISS ha demostrado un mejor comportamiento para su uso diagnóstico.

## Bibliografía

1. Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. *J Clin Lab Anal.* 2009;23:1-6.
2. Young H, Pryde J, Duncan L, Dave J. The Architect Syphilis assay with high sensitivity in primary syphilis. *Sex Transm Infect.* 2009;85:19-23.
3. Peterman T, Schillinger J, Blank S, Berman S, Ballard R, Cox D, et al. Syphilis testing algorithms using treponemal tests for initial screening-four laboratories, New York City, 2005-2006. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2008;57:872-5.
4. Wellinghausen N, Diertenberger H. Evaluation of two automated chemiluminescence immunoassays, the LIASON Treponema Screen and the Architect Syphilis TP, and the *Treponema pallidum* particle agglutination test for laboratory diagnosis of syphilis. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49:1375-7.
5. Aznar J, Blanco MA, Lepe JA, Otero L, Vázquez F. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual y otras infecciones genitales. En: Cercenado E, Cantón R, editores. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2ª ed. 2007 [consultado May 2012]. Disponible en: <http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/>
6. Guia de pràctica clínica sobre infeccions de transmissió sexual.GPC-ITS. Generalitat de Catalunya. Departament de Salut. 2009.
7. Morangoni A, Sambri V, Accardo S, Cavrini F, D'Antuono A, Moroni A, et al. Evaluation of LIASON Treponema Screen, a novel recombinant antigen-based chemiluminescence Immunoassay for laboratory diagnosis of syphilis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2005;12:1231-4.
8. Sampedro A, Padilla A, Aliaga L, Sánchez J. Ensayo Immulite 2000 Syphilis screen en cribado de sífilis. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29:156-61.
9. Young H, Moyes A, Seagar L, McMillan A. Novel Recombinant-Antigen Enzyme Immunoassay for serological diagnosis of syphilis. *J Clin Microbiol.* 1998;36:913-7.
10. Owusu-Edusei Jr K, Peterman T, Ballard R. Serologic testing for Syphilis in the United States: a cost-effectiveness analysis of two screening algorithms. *Sex Transm Dis.* 2011;38:1-7.
11. Isea Peña MC, Pérez-Jorge Peremarch C, Mahillo Fernández I, Fernández Guerrero ML, Gadea I and Fernández-Roblas R. Uso de una técnica de quimioluminiscencia (CLIA) para el diagnóstico de sífilis en un hospital universitario de Madrid. XVI Congreso de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC) [consultado May 2012]. Disponible en <http://www.seimc.org/congresos/seimc-EIMC-2012.pdf>