

Inmunoensayo quimioluminiscente para sífilis en donantes de sangre: ¿Los valores de lectura se correlacionan con el estado de la infección?

► Ana Rios Trevisan^{1*}, Carolina Fernandez², Constanza Lapera², Delina Mejía³, Laura Ferraro⁴, Mirta Remesar⁵

¹ Bioquímica. (ORCID ID: 0009-0004-6637-6016)

² Bioquímica especialista en Hemoterapia e Inmunohematología.

³ Bioquímica.

⁴ Técnica en Hemoterapia.

⁵ Dra. en Ciencias Biológicas.

Centro Regional de Hemoterapia, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.

* Autora para correspondencia.

Resumen

El objetivo del trabajo fue comparar el desempeño del tamizaje treponémico y no treponémico en dos períodos próximos en el tiempo en donantes de sangre y analizar la asociación de la intensidad de la señal de la prueba quimioluminiscente (QL) con la reactividad del enzoinmunoanálisis (ELISA) y la reagina plasmática rápida (RPR). Se realizó el tamizaje con pruebas treponémicas. Se analizó la distribución de los valores de señal/valor de corte (S/CO) obtenidos por QL en función del ELISA y RPR y se evaluó su asociación entre dos grupos de resultados de laboratorio (1) ELISA+/RPR+ y (2): ELISA+/RPR-. Se procesaron 76 794 donaciones voluntarias. Al comparar las medianas entre grupos, se encontró que la relación S/CO de QL fue significativamente mayor para los donantes del Grupo 1 (19,5 vs. 8,10; $p < 0,001$). Se concluye que la intensidad de la señal de la prueba cualitativa QL estaría asociada con la reactividad de la RPR y guardaría relación con el curso de la infección.

Palabras clave: Sífilis; Pruebas treponémicas; Tamizaje; Bancos de sangre; Intensidad de la señal; Algoritmo inverso

Chemiluminescent immunoassay for syphilis in blood donors: do signal strength values correlate with the infection status?

Abstract

The objective of this work was to compare the performance of treponemal and non-treponemal screening in two periods close in time in blood donors and to analyse the association of the signal strength (signal-to-cutoff, S/CO) of the chemiluminescent immunoassay (CIA) with the reactivity of the enzyme immunoassay (EIA) and the rapid plasma reagin (RPR). Donors were screened with treponemal tests. The distribution of the S/CO values obtained by CIA was analysed based on EIA and RPR, and its association was evaluated. Group 1: ELISA+/RPR+ donors and Group 2: ELISA+/RPR-. A total of 76,794 voluntary donations were processed. Comparing the means between groups, it was found that the CIA S/CO ratio was significantly higher for Group 1 donors (19.5 vs. 8.10; $p < 0.001$). In conclusion, the signal

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957 (impresa)

ISSN 1851-6114 (en línea)

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

strength of the qualitative CIA test would be associated with the reactivity of the RPR and would be related to the course of the infection.

Keywords: Syphilis; Treponemal tests; Screening; Blood banks; Signal strength; Reverse algorithm

Imunoensaio quimioluminescente para sífilis em doadores de sangue: os valores de leitura estão correlacionados com o estado da infecção?

Resumo

O objetivo do trabalho foi comparar o desempenho da triagem treponêmica e não treponêmica em dois períodos próximos no tempo em doadores de sangue e analisar a associação da intensidade do sinal da prova quimioluminescente (QL) com a reatividade da análise imunoenzimática (ELISA) e a reagina plasmática rápida (RPR). Foi realizada uma triagem com provas treponêmicas. Foi analisada a distribuição dos valores de sinal/valor de corte (S/CO) obtidos por QL em função da ELISA e RPR, e também a associação entre dois grupos de resultados laboratoriais (1): ELISA+/RPR+ e (2) ELISA+/RPR-. Foram procesadas 76 794 doações de sangue voluntárias. Ao comparar as medianas entre os grupos, obteve-se que a relação S/CO de QL foi significativamente maior para os doadores de sangue do grupo 1 (19,5 vs. 8,10; $p < 0,001$). Em conclusão, a intensidade do sinal da prova qualitativa QL estaria associada com a reatividade da RPR e guardaria relação com o curso da infecção.

Palavras-chave: Sífilis; Provas treponêmicas; Triagem; Bancos de sangue; Intensidade do sinal; Algoritmo reverso

Introducción

El tamizaje de sífilis es una de las pruebas mandatorias a las que debe someterse la sangre donada en la Argentina de acuerdo a la Ley N°22.990 (1). El objetivo es prevenir la transmisión de la infección a los receptores de transfusiones.

De acuerdo a las Normas Administrativas y Técnicas 797/2013, el tamizaje de laboratorio en donantes de sangre en la Argentina puede realizarse con métodos no treponémicos o treponémicos (2) (3). De acuerdo sea uno u otro el método de tamizaje inicial, se aplica el algoritmo convencional o el algoritmo reverso.

El tamizaje convencional utiliza una prueba no treponémica (PNT), como la prueba VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) o RPR (Reagina Plasmática Rápida). Si la PNT resulta reactiva, la sangre del donante se descarta y se recomienda realizar una prueba confirmatoria treponémica para evidenciar si se trata efectivamente de infección por *Treponema pallidum*.

En cambio, el tamizaje reverso utiliza una prueba treponémica (PT), como la prueba de quimioluminiscencia (QL). Si la prueba es reactiva, se considera que el donante es seropositivo para sífilis y se excluye su sangre para la transfusión.

Las pruebas de sífilis treponémicas y no treponémicas miden diferentes aspectos de la respuesta inmunológica a la infección por *T. pallidum*, agente etiológico de la sífilis.

Las PNT son muy sensibles, aunque relativamente específicas, ya que detectan anticuerpos inespecíficos (reaginas) dirigidos hacia la cardiolipina, que pueden

aparecer seis semanas después de la infección. También las reaginas pueden estar asociadas con diversas condiciones médicas y factores no relacionados con la sífilis y pueden producir resultados falsamente positivos (1-5% de los casos) por lo que ante una PNT reactiva se recomienda realizar una PT.

Las PT detectan anticuerpos contra *T. pallidum*, lo que las convierte en pruebas altamente específicas y, por lo tanto, confirmatorias. Se positivizan cinco semanas después de la infección, por eso son útiles para detectar sífilis temprana, cuando todavía las PNT son negativas (4).

En el banco de sangre, los tamizajes con PNT y PT presentan ventajas y desventajas. Las ventajas que presentan las PT con respecto a las PNT son la automatización, la consecuente posibilidad de interfaz en sistemas informáticos para la transmisión y registro de resultados, la mejora en la trazabilidad de los resultados, la independencia de la posible subjetividad del operador en la lectura (la prueba de RPR es de lectura visual y la *USR, Unheated Serum Reagin*, de lectura al microscopio) y la disminución del trabajo manual y del consumo de tiempo por parte del operador. Entre las ventajas de las PNT se encuentra el menor costo.

En los bancos de sangre que participan en el Programa de Evaluación Externa del Desempeño de Infecciones Transmisibles por Transfusión (ITT) del Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan", el empleo de PT en el tamizaje mostró un incremento desde el año 2012, donde era del 7,82%; llegó hasta un 32,91% en el año 2018, y se mantuvo alrededor de dicho porcentaje desde 2018 a la actualidad. Es importante señalar que

dicho programa es de alcance nacional y en él participa un promedio de 80 laboratorios pertenecientes a las 24 jurisdicciones del país. Por lo tanto, la proporción de métodos de tamizaje para sífilis utilizada se puede considerar representativa de la situación en la Argentina (5).

En octubre de 2016, el laboratorio de ITT del Centro Regional de Hemoterapia (CRH) del Hospital “Prof. Dr. Juan P. Garrahan” implementó el inmunoensayo automatizado por quimioluminiscencia, comenzando así a utilizar el algoritmo reverso para el tamizaje de sífilis.

Los objetivos de este trabajo fueron: analizar el desempeño del tamizaje treponémico y el algoritmo reverso para sífilis, comparado con un período inmediato anterior (2012-2016) donde se utilizaba el tamizaje no treponémico y el algoritmo tradicional, y describir la asociación de los resultados de las pruebas serológicas y el probable estadio de la infección por *T. pallidum*.

Materiales y Métodos

Población de estudio

En el período comprendido entre el 23 de octubre de 2016 y el 31 de marzo de 2023, en el CRH del Hospital “Prof. Dr. Juan P. Garrahan”, se estudió un total de 76 794 donaciones voluntarias no relacionadas.

Pruebas de laboratorio

El método de tamizaje para la detección de sífilis fue la PT de QL ARCHITECT Syphilis TP (Abbott, Alemania).

Las muestras repetidamente reactivas fueron estudiadas por una PT diferente, un enzimoimmunoanálisis (ELISA) (Sífilis ELISA Recombinante v4.0, Wiener lab., Argentina) y una PNT, Reagina Plasmática Rápida (RPR) (RPR Slide test, Wiener lab., Argentina).

Las muestras reactivas por ELISA y RPR fueron consideradas como correspondientes a infecciones actuales o pasadas. Se consideró infección pasada a la sífilis latente o de tiempo desconocido o a la sífilis tratada con RPR aún reactiva, lo que se conoce como cicatriz serológica, mientras que las muestras reactivas por ELISA pero no reactivas por RPR fueron consideradas como correspondientes a infecciones tratadas, sífilis primarias recientes, sífilis tardías o fenómenos de prozona (4).

Las muestras no reactivas por ELISA y RPR se consideraron como falsamente positivas por QL.

Análisis estadístico

Se creó una base de datos con los resultados obtenidos por QL, ELISA y RPR.

Para analizar la distribución de los valores de señal/valor de corte (S/CO; del inglés: *signal-to-cut off*) obteni-

dos por QL en función de las otras pruebas serológicas, se utilizó el *test* de U Mann Whitney, para establecer la relación entre los valores de S/CO de QL en función de RPR y de ELISA. Se establecieron tres grupos de comparación: Grupo 1: aquellos donantes que presentaron ambas PT positivas y RPR+; Grupo 2: los que presentaron ambas PT positivas y RPR-, y Grupo 3: los falsos positivos de QL (QL+, ELISA-, RPR-).

Las variables categóricas se describieron según su frecuencia y porcentaje. Para las variables continuas se utilizó la media y desvío estándar (DE), mediana y rango intercuartilo (IQR) según tuvieran o no distribución normal, respectivamente. Se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$.

Se utilizó el programa estadístico STATA V 14.0 y Excel.

Resultados

De acuerdo al algoritmo de estudio utilizado un total de 657 donaciones de 76 794 resultaron repetidamente reactivas por QL y se obtuvo una seroprevalencia de sífilis por tamizaje de 0,85% (IC95%=0,79-0,92). De las muestras positivas por QL, 527 (80,21%) resultaron también positivas por la prueba de ELISA, con lo que se obtuvo una prevalencia global de sífilis confirmada de 0,68% (IC95%=0,63-0,74). Entre las muestras reactivas por ambas PT, 223 (42,31%) fueron reactivas para RPR, lo que dio una seroprevalencia por prueba no treponémica de 0,29% (IC95%=0,25-0,33).

Para el período inmediato anterior (2012-2016) la seroprevalencia de sífilis obtenida por tamizaje tradicional fue de 0,43% (IC95%=0,38-0,48) y la prevalencia global de sífilis confirmada fue 0,27% (IC95%=0,23-0,31).

La distribución de los valores de S/CO obtenidos por QL en los distintos grupos se muestra en la Tabla I.

Tabla I. Distribución de los valores obtenidos por quimioluminiscencia en los distintos grupos.

Grupo	N	Media	Mediana	Q1	Q3
1	223	19,60	19,52	16,11	22,96
2	304	9,02	8,10	3,66	13,06
3	130	1,64	1,33	1,08	1,90

Grupo 1: QL+, ELISA+, RPR+: sífilis actual o pasada; Grupo 2: QL+, ELISA+, RPR-: sífilis tratada, sífilis primaria reciente, sífilis tardía; Grupo 3: QL+, ELISA-, RPR-. Q1: primer cuartil; Q3: tercer cuartil.

Las muestras reactivas, tanto por los dos métodos treponémicos así como por el método no treponémico, que corresponderían a donantes con infección actual o pasada, mostraron valores medios de S/CO por QL más altos (S/CO media=19,60; DE=6,59) con respecto a los valores de las muestras reactivas solo por QL y ELISA

y negativas por RPR (S/CO media=9,02; DE=5,89), es decir, las que podrían deberse a sífilis tratada, primaria muy reciente y activa, o sífilis tardía.

De acuerdo al *test* de U Mann Whitney al comparar las medianas entre los grupos 1 y 2, se encontró que la relación S/CO de QL fue significativamente mayor para los donantes del Grupo 1 en comparación con aquellos del grupo 2 (19,5 para el Grupo 1 y 8,10 para el Grupo 2; $p < 0,001$).

En el gráfico de *box-plot* se observa que el grupo 1 presentó una mayor dispersión de datos respecto de los otros grupos (Fig. 1).

En cuanto a los resultados falsamente positivos por QL (n=130), el 45,38% de los mismos se detectaron en

el período de tiempo comprendido entre octubre de 2016 y septiembre de 2017 (Fig. 2).

Discusión y Conclusiones

La seroprevalencia de sífilis en el período 2012-2016, con el uso del método de tamizaje tradicional fue de 0,43%; a partir del cambio de método, la seroprevalencia obtenida en el período 2016-2023 fue de 0,85%. Este aumento de prevalencia implicó el descarte de mayor número de unidades y un mayor costo, situación que era la esperada debido a que esta prueba sigue siendo reactiva muchos años después de la primo-infección y

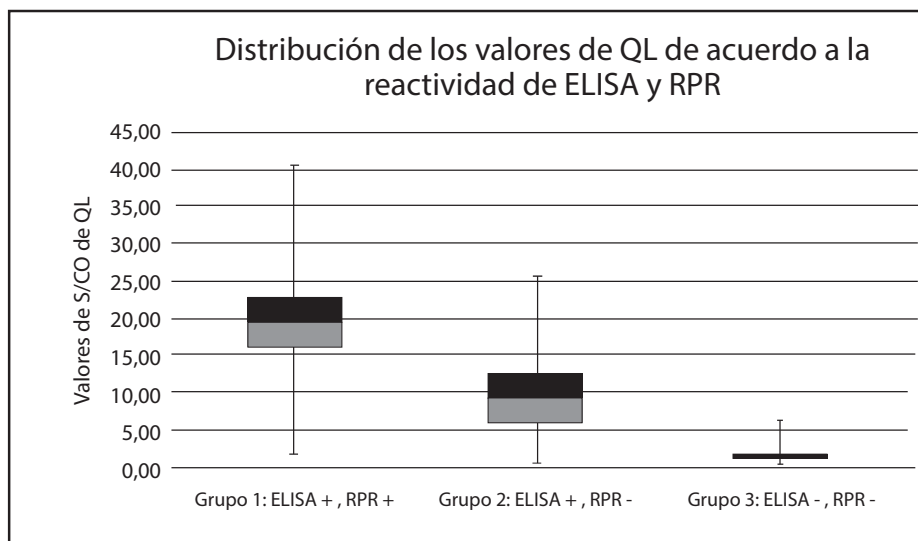


Figura 1. Relación de la señal/valor de corte (S/CO) de ARCHITECT quimioluminiscencia (QL) entre donantes según el grupo propuesto. ELISA: enzimoimmunoanálisis; RPR: reagina plasmática rápida.

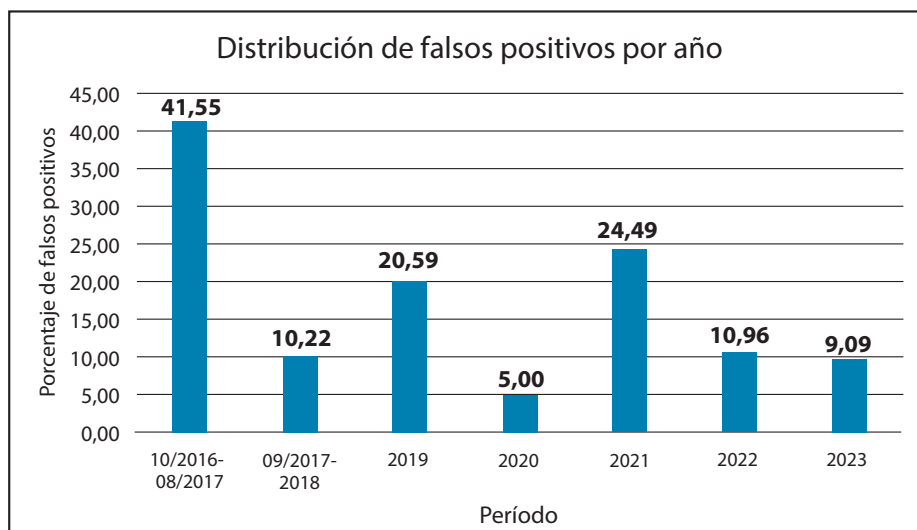


Figura 2. Distribución anual de los resultados falsamente positivos de quimioluminiscencia.

también en personas que han realizado el tratamiento adecuado. Esto fue aceptado por el servicio en función de las ventajas que proporciona el empleo de un método treponémico como tamizaje.

Al comparar las prevalencias de sífilis actual o pasada (donaciones PT y PNT reactivas) obtenidas en ambos períodos se encontró que las mismas eran similares. Esto demuestra que el aumento de la seroprevalencia global fue debido a la persistencia de anticuerpos treponémicos y no a una mayor captación de donantes con factores de riesgo, lo que destaca el sólido modelo de donación voluntaria altruista, con un promedio anual de repetición de alrededor del 60% que posee nuestro centro (6) (7).

La mayor dispersión de la señal de S/CO observada en el grupo 1 en el gráfico de *box plot*, puede deberse a la respuesta biológica de la infección de sífilis activa comparada con la respuesta inmunológica de una infección ya establecida (8).

En cuanto a los valores falsamente positivos de QL detectados, un alto porcentaje (41,55%) correspondió al período inicial de implementación de la metodología y se pudo asociar a un lote de reactivo en particular. Además, en septiembre de 2017 hubo un cambio de presentación del reactivo y a partir de esta modificación se observó una disminución en los resultados falsamente positivos con una distribución más esporádica, también asociada a variaciones de lotes de reactivo.

Los casos falsamente positivos por QL podrían estar sobreestimados debido a que la prueba de QL detecta tanto IgM como IgG, mientras que las pruebas de ELISA detectan sólo IgG anti-*T. pallidum*. Por lo tanto, se podrían encontrar en este grupo algunos casos de infección muy temprana.

Se encontró una asociación entre valores mayores de lectura de QL en donantes confirmados con RPR positiva y aquellos confirmados con RPR negativa. Por lo tanto, la intensidad de la señal de la prueba cualitativa QL ARCHITECT estaría asociada con la reactividad de la RPR y guardaría relación con el curso de la infección. Este hallazgo es similar a lo publicado por otros autores, donde se encontró que la relación QL S/CO era significativamente más alta en las mujeres embarazadas con sífilis activa que en las mujeres embarazadas con sífilis pasada (9) (10).

En conclusión, si bien con el algoritmo reverso se descartan más unidades, éste permite identificar casos de infección muy temprana cuando los anticuerpos no treponémicos aún no son detectables o casos latentes de sífilis cuando los anticuerpos no treponémicos serorevieren, ya que las PT son más sensibles que las PNT (11) (12).

Teniendo en cuenta el preocupante aumento de la tasa de incidencia de sífilis en la población general argentina (13), la elección de un método treponémico en el tamizaje de donantes de sangre agregando una PNT

como suplementaria permite el diagnóstico temprano de la enfermedad y facilita el acceso oportuno a la atención médica para las personas infectadas y sus parejas sexuales, a través de la consejería médica brindada. En estos casos el rol del banco de sangre es útil a la sociedad, ya que estos casos detectados ingresan al sistema de salud, a través del Sistema Integrado de Información Sanitaria Argentino (SISA), donde se puede realizar su seguimiento.

Para comprender la correlación entre los valores de QL (ARCHITECT) S/CO y la positividad de RPR es necesario realizar más investigaciones que incluyan datos de historias clínicas y antecedentes de tratamientos de los individuos para poder establecer un consenso sobre un valor umbral de significación clínica entre estas pruebas. Esto puede ser muy útil para identificar casos de sífilis clínicamente infecciosa para ayudar en la clasificación y el manejo de los donantes de sangre cuando se utiliza un método treponémico para la detección de sífilis.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Dra. Silvina Kuperman por su gestión para la capacitación continua del personal.

Fuentes de financiación

El presente trabajo fue realizado sin haberse recibido una financiación específica.

Conflictos de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses respecto del presente trabajo.

Correspondencia

Bioq. ANA RIOS TREVISAN
Centro Regional de Hemoterapia, Hospital de Pediatría "Prof. Dr. Juan P. Garrahan".
Laboratorio de Infecciones Transmisibles por Transfusión.
15 de noviembre de 1889 N° 2151, CP 1261,
Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina.
Tel: +54 9 2613043939
Correo electrónico: anita.riost@gmail.com; atrios@garrahan.gov.ar

Referencias bibliográficas

1. Ministerio de Salud, Presidencia de la Nación: Decreto Nacional 1.338/2004. Decreto Reglamentario de la Ley de Sangre Humana N° 22.990. Boletín Oficial República Argentina, Oct de 2004. Id SAIJ: DN20040001338. Disponible en: <http://www.saij.gob.ar/1338-nacional-decreto-reglamentario-ley-sangre-humana-n-22990-dn20040001338-2004-09-30/123456789-0abc>

- 833-1000-4002soterced (fecha de acceso: 16 de marzo de 2023).
2. Normas Administrativas y Técnicas de Hemoterapia. Resolución N° 139/2014. Ministerio de Salud. Argentina, Febrero 2014. Disponible en: <https://www.argentina.gob.ar/normativa/nacional/resoluci%C3%BA3n-139-2014-226940/texto> (fecha de acceso: 16 de marzo de 2023).
 3. Normas Administrativas y Técnicas de Hemoterapia. Plan Nacional de Sangre, Ministerio de Salud de la Nación Argentina, 2013. Disponible en: <https://aahitc.org.ar/nuevaweb/wp-content/uploads/2022/07/Normas-2013.pdf> (fecha de acceso: 16 de marzo de 2023).
 4. Dirección de Respuesta al VIH, ITS, Hepatitis Virales y Tuberculosis, Ministerio de Salud de la Nación Argentina. Abordaje de la sífilis en personas adolescentes y adultas. Recomendaciones clínicas para equipos de salud. Edición 2022. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/abordaje-de-la-sifilis-en-personas-adolescentes-y-adultas> (fecha de acceso: 26 de octubre de 2023).
 5. Lopera C. Programa de Evaluación Externa del Desempeño para Infecciones Transmisibles por Transfusión: experiencia argentina. *Rev Argent Transf* 2019; 45 (4): 325-9.
 6. Kane MA, Bloch EM, Bruhn R, Kaidarova Z, Murphy EL. Demographic determinants of syphilis seroprevalence among U.S. blood donors, 2011-2012. *BMC Infect Dis* 2015; 15: 63.
 7. Liu S, Luo L, Xi G, Wan L, Zhong L, Chen X, *et al.* Seroprevalence and risk factors on syphilis among blood donors in Chengdu, China, from 2005 to 2017. *BMC Infect Dis* 2019; 19: 509.
 8. Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, *et al.* Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep* 2021; 70 (RR-04): 39-60.
 9. Zofkie AC, Seasely AR, Gaffney D, Rogers VL, McIntire DD, Roberts SW, *et al.* Syphilis immunoassay signal strength correlates with active infection in pregnant women. *Am J Perinatol* 2020 Jun; 37 (7): 671-8.
 10. Adhikari EH, Frame IJ, Hill E, Fatabhoy R, Strickland AL, Cavuoti D, *et al.* Abbott ARCHITECT Syphilis TP chemiluminescent immunoassay accurately diagnoses past or current syphilis in pregnancy. *Am J Perinatol* 2020 Jan; 37 (1): 112-8.
 11. Attie A, de Almeida-Neto C, Witkin S, Derriga J, Nishiya AS, Ferreira JE, *et al.* Detection and analysis of blood donors seropositive for syphilis. *Transfus Med* 2021; 31: 121-8.
 12. Totten YR, Hardy BM, Bennett B, Rowlinson MC, Crowe S. Comparative performance of the reverse algorithm using Architect Syphilis TP *versus* the traditional algorithm using rapid plasma reagin in Florida's public health testing population. *Ann Lab Med* 2019 Jul; 39 (4): 396-9.
 13. Dirección de Respuesta al VIH, ITS, Hepatitis Virales y Tuberculosis, Ministerio de Salud de la Nación Argentina: Boletín N° 39 Respuesta al VIH y las ITS en la Argentina, 2022; 14-20. Disponible en: <https://bancos.salud.gob.ar/recurso/boletin-ndeg-39-respuesta-al-vih-y-las-its-en-la-argentina> (fecha de acceso: 26 de octubre de 2023).

Recibido: 12 de julio de 2023

Aceptado: 9 de octubre de 2023