

HEMAGLUTINACION INDIRECTA PARA SIFILIS (TPHA) EN DONANTES DE SANGRE.

*Iris Sánchez Urdaneta**
*Alis Amesty de Valbuena***
*María L. Abreu L.****
*Nelly M. Fernández B.****
*Morelba C. García V.****

RESUMEN

En el presente estudio se realizó la prueba de "Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA)" a 600 muestras de suero obtenidas de donantes de sangre procedentes del Instituto Hematológico de Occidente de Maracaibo.

De las 600 muestras analizadas 14 resultaron VDRL reactivas, de las cuales todas fueron TPHA reactivas. De las 586 muestras restantes VDRL no reactivas, 15 resultaron TPHA reactivas, lo cual representa un 2,56%.

Consideramos este hallazgo de suma importancia ya que la prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA) detecta anticuerpos antitreponémicos específicos y por lo tanto se evidencia que al utilizar el VDRL como única prueba de descarte algunos donantes son considerados serológicamente no sifilíticos.

De acuerdo a nuestros resultados nos permitimos sugerir que a todo donante de sangre VDRL no reactivo se le practique la prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA), especialmente cuando se necesite el empleo de sangre fresca como medida terapéutica.

* Profesora de la Cátedra de Pasantía de Serología - Escuela de Bioanálisis.

** Profesora Titular de la Cátedra de Microbiología - Facultad de Medicina.

*** Estudiante de la Escuela de Bioanálisis - Facultad de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo - Venezuela.

INTRODUCCION

Desde que la práctica de la transfusión sanguínea se generalizó a partir de 1940, muchos problemas transfusionales se han presentado incluyendo reacciones hemolíticas, febriles y la transmisión de agentes infecciosos causantes de enfermedad¹. Entre las enfermedades infecciosas transmitidas a través de una transfusión de sangre se encuentran: Toxoplasmosis, paludismo, hepatitis, tripanosomiasis, chagas, enfermedades de inclusión citomegálica y sífilis.

La sífilis es una enfermedad que hoy en día constituye un verdadero problema por el resurgimiento que ha tenido en los últimos años. El agente causal de la sífilis el *Treponema pallidum* puede ser aislado de la sangre de individuos infectados, en las secreciones del chancro durante el período primario y de las lesiones cutáneo-mucosas en el período secundario².

El *Treponema pallidum* no se mantiene viable después de ser sometido a temperatura de refrigeración durante 2 a 3 días, lo cual reduce al mínimo el peligro de contraer la enfermedad por transfusiones sanguíneas cuando se utiliza dicha sangre al término de este tiempo³.

Los individuos infectados con *Treponema pallidum* responden inmunológicamente produciendo anticuerpos inespecíficos o reagínicos y anticuerpos específicos o treponémicos. Un diagnóstico serológico de sífilis comprende por lo tanto el uso de pruebas treponémicas y pruebas no treponémicas. Las pruebas no treponémicas como el VDRL, detectan los anticuerpos reagínicos los cuales reaccionan con el antígeno Cardiolipina-Lecitina. Tales pruebas son altamente sensibles en sífilis secundaria (reactivos en el 100% de los casos)⁴, pero poco sensibles en sífilis primaria y tardía (reactivos en el 60% de los casos)^{1, 5}.

Entre las pruebas treponémicas se encuentran el FTA-ABS y el TPHA, las cuales utilizan como antígeno *Treponema pallidum*. El FTA-ABS es una prueba de inmunofluorescencia indirecta, y ha sido utilizada como primera prueba treponémica; sin embargo la necesidad de un personal entrenado y de un microscopio de fluorescencia, además de lo laborioso y costoso de la prueba ha hecho que la prueba de Hemaglutinación Indirecta (TPHA) ocupe un lugar de preferencia dentro de estas pruebas, ya que su sensibilidad es similar a la prueba de inmunofluorescencia⁶, y por su sencillez puede ser empleada en cualquier laboratorio.

La prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA)⁷ utiliza eritrocitos de carnero tanicados y sensibilizados con *Treponema pallidum* sonicados. Esta prueba de microtitulación permite examinar un gran número de muestras rápidamente y sin necesidad de utilizar un equipo costoso.

De las pruebas serológicas para sífilis, solamente el VDRL es empleada como prueba de descarte en donantes de sangre.

El propósito de este trabajo fue el de emplear la prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA) en donantes de sangre a fin de comparar estos resul-

tados con los del VDRL y así determinar el porcentaje de donantes de sangre sífilíticos no diagnosticados serológicamente cuando se utiliza el VDRL como única prueba de descarte.

MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 600 muestras de suero obtenidas de donantes de sangre procedentes del Instituto Hematológico de Occidente de Maracaibo, a los cuales se les realizó la prueba de VDRL según técnicas convencionales de laboratorio y la prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA) empleando la técnica de Microhemaglutinación siguiendo el método de Tomizawa⁷, según instrucciones del equipo comercial obtenido en los laboratorios Ames (Caracas).

El material utilizado para la prueba de TPHA consta de lo siguiente:

- 1.- Eritrocitos de carnero formalinizados, tanicados y sensibilizados con extracto de *Treponema pallidum*.
- 2.- Eritrocitos de carnero formalinizados, tanicados pero sin sensibilizar.
- 3.- Buffer diluyente, el cual contiene eritrocitos de carnero, eritrocitos de buey y fracciones de *Treponema* no patógeno (*Treponema Reiter*). Dicho buffer sirve para eliminar la interferencia en la prueba debida a la presencia de anticuerpos heterófilos o anticuerpos antitreponémicos de grupo.

Antes de realizar la prueba cada suero sin inactivar fue absorbido durante 30 minutos a temperatura ambiente con el buffer diluyente. Después de la absorción cada muestra de suero fue montada por duplicado en una placa de microtitulación comenzando con una dilución de 1/20 obteniéndose una dilución final de 1/80 después de colocar todos los reactivos. Simultáneamente se utilizaron los siguientes controles: diluyente, suero control negativo y suero control positivo, este último comenzando con una dilución 1/80 hasta 1/2560. Con un dispensador de 0,025ml se agregó tanto a los sueros problemas como a los controles 0,075ml de glóbulos rojos de carnero sensibilizados en una hilera de hoyos y glóbulos rojos de carnero no sensibilizados en la otra hilera de hoyos. Se mezcló y se incubó a temperatura ambiente durante 2-3 horas.

La lectura se hizo sobre un espejo de microtitulación y el resultado fue representado en cruces (+ o + + + +) de acuerdo al grado de Hemaglutinación, reportándose como reactivos aquellos sueros que tuvieran una aglutinación entre (+) y (+ + + +) y como no reactivos aquellos donde no hubiera aglutinación o una aglutinación de (±).

RESULTADOS

Al hacer el análisis de los resultados obtenidos con el VDRL en las 600 muestras estudiadas, encontramos que 14 muestras fueron VDRL reactivo y que 586 fueron VDRL no reactivo, lo cual representa un 2,34% y 97,66% respectivamente. Su representación corresponde al cuadro N°. 1 y gráfico N°. 1.

Cuadro No. 1

RESULTADOS DEL VDRL EN 600 MUESTRAS DE SUERO DE DONANTES DE SANGRE

MARACAIBO 1980

	No.	%
VDRL Reactivo	14	2,34
VDRL No Reactivo	586	97,66
TOTAL	600	100,00

F. de I.: Instituto Hematológico de Occidente.

En el cuadro N°. 2 aparecen los resultados obtenidos con la prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA). De las 600 muestras, 29 fueron TPHA reactivas y 571 fueron TPHA no reactivas, esto equivale a un porcentaje de 4,84% y 95,16% respectivamente. Su representación gráfica corresponde al gráfico N°. 2.

En el cuadro N°. 3 aparece la reactividad del VDRL y el TPHA. De las 600 muestras analizadas se observó que la mayor reactividad correspondió al TPHA con 29 muestras reactivas (4,84%) en comparación con sólo 14 muestras VDRL reactivas (2,34%). La representación del cuadro N°. 3 corresponde al gráfico N°. 3.

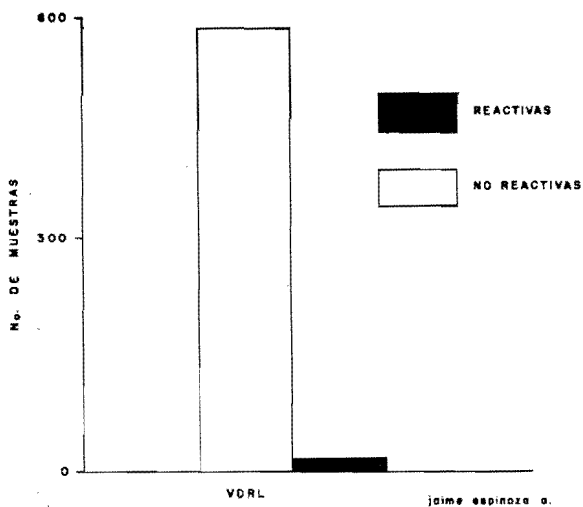
La concordancia y desacuerdo en las pruebas VDRL y TPHA se representan en el cuadro N°. 4. Se observó que hubo un 100% de concordancia al comparar los resultados de ambas pruebas, ya que todas las muestras que resultaron VDRL reactivo fueron también TPHA reactivo.

En relación con el desacuerdo encontramos que 15 muestras fueron TPHA reactivo pero VDRL no reactivo, lo cual significa un desacuerdo del 2,56% para ambas pruebas.

GRAFICO No. 1

RESULTADOS DEL VDRL EN SUEROS DE DONANTES DE SANGRE

MARACAIBO - 1980



F. de I. CUADRO N° 1

Cuadro No. 2

RESULTADOS DE LA HEMAGLUTINACION INDIRECTA
PARA SIFILIS (TPHA) EN DONANTES DE SANGRE

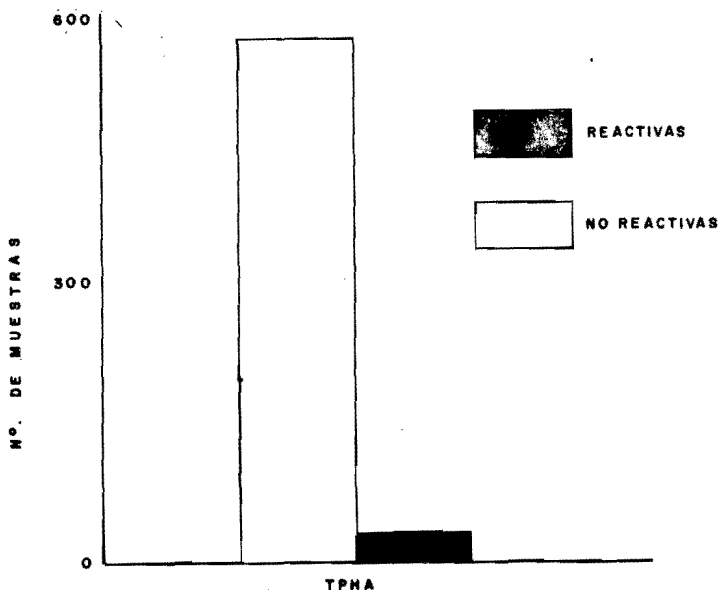
MARACAIBO 1980

	No.	%
TPHA Reactivas	29	4,84
TPHA No Reactivas	571	95,16
TOTAL	600	100,00

F. de I.: Hospital Universitario de Maracaibo.
Sección Serología Inmunología.

GRAFICO No. 2
RESULTADOS DE HEMAGLUTINACION INDIRECTA PARA SIFILIS (TPHA)
EN SUEROS DE DONANTES DE SANGRE

MARACAIBO - 1980



F. de I. CUADRO No. 2

CUADRO No. 3

REACTIVIDAD DEL VDRL Y TPHA EN 600 MUESTRAS DE SUERO DE
DONANTES DE SANGRE

MARACAIBO 1980

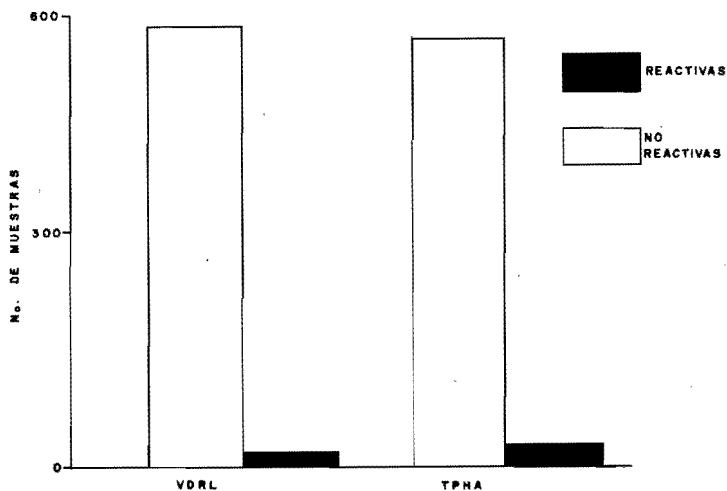
Tipos de Pruebas	Reactividad				Total	
	Reactivos		No Reactivos		No.	%
	No.	%	No.	%		
VDRL	14	2,34	586	97,66	600	100
TPHA	29	4,84	571	95,16	600	100

F. de M. — F. de I.: Instituto Hematológico de Occidente de Maracaibo.
 Hospital Universitario de Maracaibo. Sección Serología-Immunología.

GRAFICO No. 3

REACTIVIDAD DEL VDRL Y TPHA

MARACAIBO - 1980



CUADRO No. 4

**CONCORDANCIA Y DESACUERDO DE LAS PRUEBAS VDRL Y TPHA
EN 600 MUESTRAS DE DONANTES DE SANGRE**

MARACAIBO 1980

	Reactividad	No. de Muestras	%
Concordancia en ambas pruebas	Reactivos	14	2,34
	No Reactivos	571	95,16
Desacuerdo	TPHA Reactivos y No Reactivos con el VDRL	15	2,50
Total	—————	600	100

F. de M — F. de I.: Instituto Hematológico de Occidente de Maracaibo.

Hospital Universitario de Maracaibo. Sección Serología Inmunología.

DISCUSION

La posible transmisión de la sífilis a través de una transfusión de sangre ha constituido durante muchos años un motivo de inquietud para los médicos. Afortunadamente la investigación rutinaria de anticuerpos reagínicos mediante la prueba de VDRL en todo donante de sangre y la utilización cada vez más frecuente de sangre refrigerada durante más de dos días son factores que han contribuido a reducir considerablemente estos riesgos.

No obstante el hecho de conocerse muy bien que el *Treponema pallidum* no puede sobrevivir por más de 72 horas a temperatura de refrigeración, es imperativo sin embargo que no debe realizarse ninguna transfusión de sangre si previamente no se ha hecho la investigación de anticuerpos reagínicos cuando se va a transfundir *sangre fresca, plasma o concentrados globulares* en pacientes que necesiten exanguíneo transfusión o en pacientes que por estar bajo inmunosupresión por una enfermedad subyacente o por inmunoterapia necesitan de este tipo de tratamiento.

El problema que plantea la transmisión de sífilis a través de una transfusión de sangre fresca puede entonces obviarse mediante la realización de un VDRL a todo donador de sangre; sin embargo dos situaciones muy importantes pueden presentarse:

1.- En primer lugar, la incertidumbre que se presenta frente a un donador de sangre en la fase pre-serológica de la enfermedad (etapa primaria o de chancro) debido a que un alto porcentaje, 40% aproximadamente, aún no ha desarrollado anticuerpos en esta etapa de la enfermedad(1,5).

2.- En segundo lugar debido a que en la etapa secundaria a pesar de que las pruebas serológicas cuantitativas (VDRL) son reactivas en el 100% de los casos(4), cuando éstas se hacen sólo cualitativas, un 1% de los casos la dan no reactiva debido a que el exceso de anticuerpos reagínicos en el suero determina un fenómeno de zona(8). En esta situación la duda planteada puede despejarse realizando un VDRL cuantitativo en lugar del cualitativo a todo donador cuya sangre vaya a ser utilizada como sangre fresca.

Cuando se trata de un paciente sifilítico en etapa pre-serológica (con VDRL no reactivo) queda la duda si el paciente es sifilítico o no, sobre todo cuando en el interrogatorio no se recogen antecedentes clínicos o epidemiológicos de la enfermedad.

Debido a que los anticuerpos antitreponémicos aparecen más tempranamente que los anticuerpos reagínicos(9), la duda puede ser despejada empleando una prueba treponémica. De estas pruebas el FTA-ABS es laboriosa y lleva tiempo mientras que la prueba del TPHA es una prueba rápida y fácil de realizar.

Con estos conceptos en mente quisimos investigar si en nuestros donantes de sangre algunos sifilíticos se escapaban al diagnóstico serológico al emplear el VDRL

como prueba de descarte. En efecto al estudiar 600 muestras de donantes de sangre encontramos que 14 pacientes VDRL reactivos mostraron también la prueba treponémica TPHA reactiva, pero el hallazgo más interesante fue que 15 pacientes VDRL no reactivo mostraron el TPHA reactivo. Al revisar la literatura para comparar nuestros resultados no encontramos ningún trabajo en el cual pudiéramos hacer esta comparación.

Consideramos que los resultados obtenidos son de importancia dado que los pacientes VDRL no reactivos, TPHA reactivos deben ser considerados sífilíticos y por tanto potencialmente infectantes si van a servir de donadores de sangre fresca.

Los resultados de este estudio nos permiten sugerir el empleo de una prueba treponémica en todo paciente VDRL no reactivo donador de sangre fresca o de sus componentes ya que sífilis transfusional ha sido reportada a partir de donadores serológicamente no reactivos (10).

RECOMENDACIONES

En base a los resultados del presente estudio nos permitimos hacer las siguientes recomendaciones:

1. A todo donador de *sangre fresca, plasma o concentrados globulares*, se le debe realizar un VDRL cuantitativo en lugar del cualitativo.
2. Cuando el resultado del VDRL sea no reactivo debe practicársele una prueba treponémica como el TPHA.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CONTI, A., *Sífilis*. Buenos Aires, Médica Panamericana, 4ta. Ed., 1971.
2. BAILEY, W. Robert., Scott, Elvyn G. *Diagnóstico Microbiológico*. Editorial Médica Panamericana. Décima tercera edición. Argentina, 1973, pág. 296.
3. BENNETT, Clois W.: *Serología Clínica*. Editorial Médica Panamericana. Junín 831. Buenos Aires. Argentina, 1976, pág. 40.
4. SPARLING, P. F. : *Diagnosis and Treatment of Syphilis*. New Eng. J. Méd. 284:642, 1971.
5. OLANSKY, S. Noruns, L. C.: *Current. Serodiagnosis and Treatment of Syphilis*. J.A.M.A. 198:165, 1966.
6. PIRELA, Yolanda de: *Prueba de Hemaglutinación Indirecta para sífilis (TPHA)*. Comparación con el FTA-ABS. Maracaibo-Venezuela, 1978.
7. TOMIZAWA, T. Kasamatsu, Sh. Yamaya, Sh. *Usefulness of the Haemaglutinación Test using Treponema pallidum antigen (TPHA) for the serodiagnosis of Syphilis*, Japan, J. Med. Sci. Biol. 22: 341. 1969.
8. SCOTTI, A. T., and Logan, L. 1968. *J. Pediatr.* 73: 242-243.
9. MACKEY, D. M. Pruce, E. V. Knox. J. M.: *Specificity of the FTA-ABS for Syphilis: an Evaluation*. J. A. M. A. 207: 1683.
10. CHAMBERS, R. W.: Foley H. T. Schmidh. P. J. *Transmissin of Syphilis by fresch blood component Transfussin* 9:32. 1969.