



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

FRECUENCIA DE ÚLCERA POR *Treponema pallidum* Y VIRUS HERPES
SIMPLE-2 EN PACIENTES QUE ASISTEN AL ÁREA DE INFECCIONES
DE TRANSMISIÓN SEXUAL (SIDA-ITS) DEL AMBULATORIO “Dr.
ARQUÍMEDES FUENTES SERRANO”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE. AGOSTO
2008-MARZO 2009
(Modalidad: Investigación)

EVEGNIS VIRGINIA LÓPEZ ORTIZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2009

FRECUENCIA DE ÚLCERA POR *Treponema pallidum* Y VIRUS HERPES
SIMPLE-2 EN PACIENTES QUE ASISTEN AL ÁREA DE INFECCIONES
DE TRANSMISIÓN SEXUAL (SIDA-ITS) DEL AMBULATORIO “Dr.
ARQUÍMEDES FUENTES SERRANO”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE. AGOSTO
2008-MARZO 2009

APROBADO POR:

Profa. Evelin Flores
Asesora

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMEN.....	vi
RESUMEN.....	vi
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	7
Muestra Poblacional.....	7
Normas de Bioética.....	7
Obtención y Preparación de Muestras.....	7
Exudado de Úlcera Genital y Extragenital:.....	7
Suero Sanguíneo:	8
Detección de <i>T. pallidum</i> por Microscopía de Campo Oscuro	8
Detección de Anticuerpos Reagínicos Inespecíficos Mediante la Prueba de Floculación VDRL (Wiener lab.).....	8
Prueba Cualitativa en Suero	9
Prueba Semicuantitativa en Suero.....	9
Detección de Anticuerpos Específicos Treponémicos, Mediante el Método FTA-ABS IgG (Hemagen Diagnostic)	9
Inactivación de Controles y Muestras:	10
Preparación de los Controles Reactivos y no Específicos:	10
Preparación del Control Reactivo Mínimo y Controles no Específicos de Coloración:	10
Preparación de las Muestras de Prueba:.....	11
Reacción Antígeno-Anticuerpo:.....	11

Detección de Anticuerpos IgM Específicos Anti-VHS-2 por el Método Inmunoenzimático ELISA-IgM (Ridascreen).....	12
Preparación del Buffer de Lavado:	12
Realización del Método:	12
Análisis Estadístico	13
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
CONCLUSIONES	22
RECOMENDACIONES	23
BIBLIOGRAFÍA	24
ANEXOS	28
APÉNDICE.....	32
HOJA DE METADATOS	39

DEDICATORIA

A:

Dios, por ser mi guía espiritual, la fuerza que me impulsa a seguir hacia delante.

Mis padres Eva Ortíz y Alfredo López por su dedicación, consejos y apoyo incondicional en los momentos más difíciles para mí.

Mis hermanos Desireé del Valle y Alfredo Alejandro, quienes como mis mejores amigos me brindaron su cariño y amor dándome ánimos.

El bebe de la casa, mi sobrinito Víctor Alfredo, para que en un futuro sepa seguir mis pasos y hacerse un profesional.

Argenis Bello, por su gran ayuda, paciencia y amor.

Mi tía Carmen por estar ahí en los momentos más necesitados.

Los que de una u otra manera forman parte de mi vida.

Todos ustedes les dedico el haber alcanzado una de mis tantas metas.

AGRADECIMIENTO

A:

Mi Dios, por darme la oportunidad de venir a este mundo y de hoy alcanzar uno de mis más anhelados sueños.

Mis padres Eva y Alfredo, por ser mis guías y apoyo en todo momento. Les estaré agradecida toda la vida.

Mis hermanos Desi y Alfredo, por estar siempre a mi lado.

Mis abuelos, tíos y primos.

Mi novio Argenis Evaristo, por permanecer siempre conmigo, demostrándome su amor y orientándome en los momentos en que más me hizo falta.

La familia Bello Caraballo, por el cariño que siempre me han demostrado.

La profesora Evelin Flores, por haber sido la asesora que jamás pensé tener. Mujer dedicada y entregada. Gracias por toda la colaboración prestada en la realización de este trabajo.

La Dra. Mireya Acuña de Villafañe junto con su equipo de trabajo Luz María, Ingrid y Nathali, por la colaboración prestada.

El Laboratorio Clínico Hernández y Laboratorio de Histología del Departamento de Bioanálisis.

La Alcaldía del Municipio Sucre del estado Sucre, por la ayuda económica aportada.

Mis amigas y compañeras de estudios Yubetzi Márquez, Zulay Osorio, Nebruzka Márquez, Bertinellys Teixeira, Florangel Guzmán, Azurima Perdomo, Nevis Tayupo, Marianne Delgado.

El grupo de pacientes que formaron parte de este estudio.

Todos y cada uno de los maestros, profesores e instituciones educativas que formaron parte de mi desarrollo intelectual.

Muchísimas gracias.

Evegnis V. López O.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Frecuencia de infección ulcerativa por <i>T. pallidum</i> diagnosticada por microscopía de campo oscuro, VDRL y FTA-ABS, en pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre. Agosto, 2008 – marzo, 2009.....	15
Tabla 2. Frecuencia de úlcera por <i>T. pallidum</i> , en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la edad. Agosto, 2008 – marzo, 2009.	17
Tabla 3. Frecuencia de úlcera por <i>T. pallidum</i> , en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según el sexo. Agosto, 2008 – marzo, 2009.	18
Tabla 4. Frecuencia de úlcera por <i>T. pallidum</i> , en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la ocupación. Agosto, 2008 – marzo, 2009.	19
Tabla 5. Frecuencia de úlcera por <i>T. pallidum</i> , en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según el tipo de lesión. Agosto, 2008 – marzo, 2009.	19
Tabla 6. Frecuencia de úlcera por <i>T. pallidum</i> , en pacientes, que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la ITS diagnosticada al último contacto sexual. Agosto, 2008 – marzo, 2009.....	20

LISTA DE FIGURAS

Curva estándar Ridascreen VHS-2 para la detección de anticuerpos IgM anti-VHS-2.	30
Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/4 por el método de VDRL con objetivo de 40X.	36
Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/128 por el método de VDRL con objetivo de 40X.....	36
Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/1024 por el método de VDRL con objetivo de 40X.....	37
Fotomicrografía de una reacción 4+ FTA-ABS del control reactivo en PBS con objetivo de 40X.	38
Fotomicrografía de una reacción FTA-ABS con tinción de 4+ de las espiroquetas, a partir de suero de paciente con anticuerpos treponémicos específicos con objetivo de 40X.	38

RESUMEN

Con la finalidad de evaluar la frecuencia de úlcera genital y extragenital ocasionada por la infección con *Treponema pallidum* y de úlcera genital por virus herpes simple-2 (VHS-2), se estudiaron 21 individuos masculinos y femeninos, con edades comprendidas entre 17 y 68 años, que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, durante el período comprendido entre los meses de agosto 2008 a marzo 2009. A cada paciente se le aplicó una encuesta clínico-epidemiológica, con el propósito de establecer la asociación entre los parámetros epidemiológicos y etiología de las lesiones ulcerativas. Además, se le tomó una muestra de exudado de la úlcera y se le detectó directamente *T. pallidum*, por microscopía de campo oscuro, y una muestra sanguínea, la cual fue procesada mediante la prueba de floculación VDRL y confirmada, posteriormente, por el método para la detección de anticuerpos treponémicos específicos FTA-ABS. Aquellas muestras de pacientes con úlcera genital, se les aplicó el método ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-VHS-2. En el presente estudio no se encontraron casos positivos de úlcera por VHS-2, obteniéndose, por microscopía de campo oscuro que en el 100,00% de las lesiones ulcerativas se observaron espiroquetas, con morfología y motilidad, compatible con *T. pallidum*. Por otra parte, se encontró por medio de la prueba serológica no treponémica, VDRL, que el 100,00% de los casos evaluados con úlcera, fueron reactivos, y a través de la prueba serológica treponémica, FTA-ABS, el 80,95% de los casos arrojaron un resultado reactivo. La frecuencia de sífilis temprana fue de 80,95%, diagnosticada sobre la base de la presencia de lesiones ulcerativas genitales y extragenitales, con campo oscuro positivo y pruebas serológicas reactivas. Además, se encontró asociación estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre sífilis y ocupación, no siendo así con la edad y el sexo ($p < 0,05$). Así mismo, se recomienda que en pacientes con lesiones ulcerativas, VDRL reactivo a diluciones de 1:2 a 1:16 y sin reactividad en el FTA-ABS, no descartar una posible infección por *T. pallidum* y repetir las pruebas serológicas.

Palabra y/o Frases Claves: Úlcera, *T.pallidum*, VHS-2, campo oscuro, VDRL, FTA-ABS

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son enfermedades producidas por microorganismos transmisibles sólo por contacto directo, cuyo principal reservorio es el tracto genital humano, ocurriendo durante las relaciones sexuales, embarazo o el nacimiento. El comportamiento de estas enfermedades, a lo largo de la historia ha sido el reflejo de los cambios sociales, políticos, económicos, culturales y morales de las poblaciones, por lo tanto, deben ser estudiadas siempre tomando en consideración estos parámetros (Ferreiro *et al.*, 2004).

El manejo adecuado de las ITS otorga no sólo la oportunidad de proporcionar tratamiento eficaz, disminuyendo la aparición de complicaciones y secuelas, sino que también permite detectar personas con conductas sexuales de riesgo, que precisan de información y formación para disminuir o eliminar su exposición sexual (Ballesteros, 2007).

Las ITS se pueden clasificar, de acuerdo a sus manifestaciones clínicas, en infecciones caracterizadas por secreción (uretritis y cervicitis), úlceras genitales, flujo vaginal y lesiones proliferativas. Las caracterizadas por úlceras genitales son sífilis, herpes genital, chancro blando, granuloma inguinal (por *Klebsiella granulomatis*) y linfogranuloma venéreo (por *Chlamydia trachomatis*) (CDC, 2006).

La sífilis es una infección causada por *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*, altamente infecciosa en el estadio primario de infección, caracterizada por episodios de enfermedad activa, interrumpidos por lapsos de latencia (Carrada, 2003a; Lewis y Young, 2006). *T. pallidum* tiene una estructura helicoidal sumamente fina, de 6 a 15 µm de largo y 0,1 a 0,2 µm de ancho. Su composición es 70%

proteínas, 20% lípidos y 5% carbohidratos. La porción lipídica está formada por varios fosfolípidos, dentro de los que destaca la cardiolipina (Sanguineti y Rodríguez, 2004).

La sífilis presenta diversas manifestaciones clínicas y se clasifica de acuerdo a la fase de la enfermedad en sífilis primaria, secundaria, latente y terciaria, en esta última se dan tres tipos principales de afección, neurosífilis, sífilis cardiovascular y sífilis gomatosa (Salvador *et al.*, 2007). Además, se ha descrito la sífilis congénita, la cual implica el contagio del feto a través de la placenta de la madre con sífilis (Planes, 2002). La fase primaria se inicia poco después del período de incubación, que va de 10 a 90 días, apareciendo una pápula en el lugar de la inoculación, que rápidamente se erosiona dando lugar a la úlcera única e indolora en la piel y mucosas, localizándose con mayor frecuencia en la zona genital y resolviendo espontáneamente dentro de la primera a quinta semana (Pickering, 2000). La lesión ulcerativa primaria también puede localizarse en ano o recto, boca, labios, lengua, amígdalas, dedos de las manos y pies, mamas y pezones. En la sífilis secundaria, igualmente, se presentan lesiones ulcerativas con distribución similar a las primarias. Las úlceras son ricas en treponemas, ocurriendo la transmisión a través del contacto directo con estas lesiones (Ratnam, 2005).

Dado que, *T. pallidum* aún no se ha cultivado en medios artificiales, el diagnóstico de laboratorio de la sífilis depende, de la demostración de los organismos por métodos directos o de los anticuerpos por métodos indirectos. Los métodos directos incluyen la detección de *T. pallidum* por examinación microscópica del fluido o frotis a partir de la lesión, biopsias o métodos de amplificación de ácidos nucleicos. Los métodos indirectos se clasifican como no treponémicos y treponémicos. De los no treponémicos, los más usados son “Venereal Disease Research Laboratory” (VDRL), “Rapid Plasma Reagin” (RPR) y de los

treponémicos, “Fluorescent Treponema Antibody–Absorbed” (FTA-ABS) y “*T. pallidum* Particle Agglutination” (TPPA) (Ratnam, 2005).

Debido a que en la historia natural de la sífilis se diferencian varios períodos, los métodos diagnósticos varían dependiendo de la evolución de la enfermedad (Norris, 2003; Vásquez, 2008). Las pruebas reagínicas son utilizadas en el laboratorio para analizar un gran número de muestras y las treponémicas para confirmar los resultados positivos obtenidos con aquellas (Quattordio, 2004). Cuando las lesiones están presentes en períodos primarios o secundarios de la sífilis, se puede realizar microscopía de campo oscuro del material obtenido del chancro, para observar las espiroquetas móviles en el exudado de la lesión (Larsen, 1995; Vásquez 2008). La microscopía de campo oscuro y la prueba de inmunofluorescencia directa son los métodos directos definitivos para diagnosticar sífilis a partir del exudado de la úlcera o tejido (CDC, 2006). Aunque la identificación de *T. pallidum* mediante el examen directo del exudado de la lesión es una prueba definitiva para asegurar el diagnóstico, un resultado negativo del mismo no descarta la posibilidad de la enfermedad, ya que la presencia de treponemas puede ser escasa dependiendo de los días de evolución y tratamientos previos (Quattordio *et al.*, 2004).

En las fases iniciales de la enfermedad por *T. pallidum*, las pruebas no treponémicas tienen baja sensibilidad, aproximadamente el 30,00% de los pacientes con sífilis primaria pueden tener una prueba serológica no treponémica negativa (Larsen *et al.*, 1995). Un diagnóstico presuntivo es posible con el uso de dos tipos de pruebas serológicas, las pruebas no treponémicas, VDRL y RPR y las pruebas treponémicas FTA-ABS y TPPA. El uso de un único tipo de prueba serológica es insuficiente para el diagnóstico, porque un falso positivo en los resultados de las pruebas no treponémicas está a veces asociado con varias condiciones médicas que nada tienen que ver con sífilis (CDC, 2006).

El VDRL presenta una sensibilidad del 76,00%, los porcentajes de positividad en las distintas fases son de 75,00% en sífilis primaria, 100,00% en secundaria, 95,00% en latente precoz, 70,00% en latente tardía y terciaria (Salvador *et al.*, 2007). Esta prueba puede ser confirmada a través del método FTA-ABS para la determinación de anticuerpos treponémicos específicos, la cual tiene una sensibilidad del 85,00% en sífilis primaria y cercana al 100,00% en otras fases, con especificidad del 96,00% (Carrada, 2003b; Salvador, 2007), y que además, es un método directo de observación de anticuerpos treponémicos que se utiliza como confirmación cuando una de las pruebas no treponémicas es positiva (Gao, 2006; Lautenschlager, 2006; Contreras, 2008).

El herpes genital (HG) es una infección viral común causada por el Virus Herpes Simple (VHS), se distinguen dos tipos: VHS-1 y VHS-2. Aunque ambos pueden expresar las mismas lesiones, el VHS-1 está mayoritariamente asociado a lesiones faciales y bucales; y el VHS-2 está principalmente asociado a lesiones genitales. La transmisión se produce por contacto directo con el virus, frecuentemente, por contacto sexual o por autoinoculación. Así, el virus entra por alguna lesión en la piel como un corte, una herida o a través de la mucosa. El VHS-2, usualmente, se inocula durante el sexo vaginal o anal, mientras que el VHS-1 lo hace vía sexo oral-genital. La localización de las lesiones, en las mujeres, suele ser la vulva y la entrada de la vagina; en los hombres, las lesiones son más comunes en el glande, el prepucio y el cuerpo del pene. Los síntomas de la infección inicial son los más severos y comienzan con hormigueo, picazón, quemazón o dolor, seguido por la aparición de dolorosos puntos rojos que en uno o dos días evolucionan hacia una fase de ampollas claras, llenas de líquido, que rápidamente se tornan de color blanquecino-amarillento. Las ampollas se rompen, dejando úlceras dolorosas, que secan, producen una costra y curan en aproximadamente 10 días (Salvador *et al.*, 2007).

El diagnóstico clínico por infección de VHS-2 se confirma mediante cultivo o pruebas serológicas específicas, estas últimas se basan en la detección de anticuerpos IgG contra la glicoproteína G2 del VHS-2 (CDC, 2006); sin embargo, es poco sensible en la infección primaria por VHS, debido al retraso en la aparición de anticuerpos (Salvador *et al.*, 2007). Las pruebas serológicas que detectan anticuerpos IgM, son las empleadas en los pacientes que cursan por un episodio primario de herpes genital (Page *et al.*, 2003). Estos tipos de pruebas, realizadas mediante la técnica de ELISA, presentan una sensibilidad y especificidad de 95% después de dos semanas del contagio (Olmos *et al.*, 2001).

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), indica que en el manejo de pacientes con úlceras genitales, el diagnóstico etiológico de las úlceras basados sólo en la historia clínica del paciente, frecuentemente, es inexacto, siendo obligatorio que todo paciente con úlcera genital debe ser evaluado con una prueba de laboratorio apropiada (CDC, 2006).

Se calcula que en el mundo existen 333 millones de casos de infecciones de transmisión sexual (ITS) en adultos, con edades comprendidas entre los 15 y los 49 años. Los casos nuevos de sífilis ascienden a 12,20 millones. El herpes genital es la primera causa de úlceras genitales en países desarrollados y en vía de desarrollo y existen en todo el mundo, aproximadamente, 20 millones de casos (Vázquez *et al.*, 2008).

La Organización Mundial de la Salud (OMS), señala que para el año 1999 se registró un total de 3 millones de casos de sífilis en América latina y el Caribe (WHO, 2001). En Colombia esta infección ocupa un quinto lugar entre las enfermedades transmisibles (Bernal *et al.*, 2006). En Venezuela es la ITS más frecuente, con un repunte alarmante en los últimos 5 años (Montiel *et al.*, 2008). En el estado Sucre, para el año 2002, se reportó un total de 526 casos reactivos para VDRL, siendo la

población masculina el grupo más afectado. A nivel mundial, el incremento de VHS-2 en las últimas dos décadas ha sido de un 30% (Carrero *et al.*, 2006). Registros oficiales sobre la frecuencia de herpes genital en el estado Sucre no existen (MSDS, 2002; MSDS, 2007).

La mayoría de las personas con úlceras, bien sea a nivel genital o extragenital, presentan un diagnóstico de sífilis o herpes simple, basado en un diagnóstico clínico, que no es confirmado con pruebas de laboratorio apropiadas (CDC, 2006) La sífilis comparte manifestaciones clínicas con otras enfermedades no treponémicas, como ocurre con las úlceras genitales debidas al virus del herpes simple, por lo que, el CDC (2006), señala que es esencial que todo paciente con úlcera genital debe ser evaluado con pruebas de laboratorio para sífilis y herpes genital para establecer un diagnóstico diferencial.

En el estado Sucre no existen cifras que reflejen la frecuencia y etiología de las lesiones ulcerativas genitales y extragenitales, de modo que la presente investigación, a través de la utilización de diversas pruebas de laboratorio como microscopía de campo oscuro, VDRL, FTA-ABS permitirá la confirmación clínica de las lesiones ulcerativas genitales y extragenitales por sífilis. Además, mediante la detección de anticuerpos VHS-2-IgM, se realizará el diagnóstico diferencial entre sífilis y virus herpes simple-2, determinándose así la etiología de las lesiones ulcerativas, aportando, por lo tanto, información sobre la frecuencia de estas enfermedades. El manejo etiológico de estas patologías en sus etapas tempranas, orientará al médico en la aplicación de un tratamiento inmediato y apropiado, que son medidas importantes dentro del control de las infecciones de transmisión sexual. Debido a lo anteriormente expuesto, se consideró conveniente realizar la evaluación de la frecuencia de úlcera genital y extragenital por *T. pallidum* y de úlcera genital por VHS-2 en pacientes que asistieron al área de infecciones de transmisión sexual (SIDA-ITS) del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGÍA

Muestra Poblacional

Se evaluó un grupo de 21 individuos masculinos y femeninos, con presencia de úlceras genital y extragenital, que asistieron a la consulta de infecciones de transmisión sexual (SIDA-ITS) del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano” de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el período comprendido entre los meses de agosto 2008 a marzo 2009.

A los pacientes que formaron parte de este estudio, se les solicitó por escrito su participación voluntaria (apéndice 1) en el mismo y se les realizó una encuesta clínica epidemiológica (apéndice 2).

Normas de Bioética

La presente investigación se realizó cumpliendo las normas de ética establecidas por la OMS para trabajos de investigación en seres humanos y la declaración de Helsinki ratificada por la 59^a Asamblea General de Seúl en 2008 (DoH, 2008). Este estudio no comprometió bajo ningún aspecto la salud o vida de los individuos que participaron en el mismo.

Obtención y Preparación de Muestras

Exudado de Úlcera Genital y Extragenital:

Esta muestra fue tomada por el jefe del área de SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”. Se limpió la úlcera con solución salina fisiológica estéril, y con los dedos se exprimió para obtener suficiente fluido seroso libre de eritrocitos y residuos de tejidos, el cual se colocó directamente en un portaobjeto y se

cubrió con un cubreobjeto, para su observación con el microscopio de campo oscuro (Lewis y Young, 2006).

Suero Sanguíneo:

A cada uno de los individuos analizados se le extrajo 10 ml de sangre completa por punción venosa, con jeringas estériles desechables y previa asepsia de la zona, con algodón y alcohol isopropílico al 70,00% (Bauer, 1986). La muestra de sangre se colocó en un tubo limpio y seco, luego de 10 minutos, aproximadamente, se centrifugó a 3 000 rpm, durante 10 minutos para separar el suero del coágulo retraído.

Detección de *T. pallidum* por Microscopía de Campo Oscuro

Este método es utilizado para la detección directa de *T. pallidum*, en donde, el exudado de la úlcera es examinado dentro de los 10 minutos de haber sido tomada la muestra, utilizando un microscopio de campo oscuro (Lewis y Young, 2006). La lámina con el fluido seroso, fue observada con objetivo de 40X por el jefe del área de SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano” y la identificación de *T. pallidum* se basó en la morfología y motilidad característica de la espiroqueta, siendo éstas muy delgadas, con espirales regulares y presentan un movimiento en tirabuzón (Ratnam, 2005).

Detección de Anticuerpos Reagínicos Inespecíficos Mediante la Prueba de Floculación VDRL (Wiener lab.)

Las reaginas presentes en individuos infectados por *T. pallidum* se detectan en suero por la reacción con un antígeno cardiolipínico purificado y estabilizado. Si la muestra contiene reaginas, éstas se unirán al antígeno produciendo una floculación visible en microscopio. Para esta prueba se emplearon sueros controles positivo

(suero humano con reaginas) y negativo (suero animal) adquiridos comercialmente. Antes de realizar la prueba, los reactivos, sueros controles y muestras, se llevaron a temperatura ambiente.

Prueba Cualitativa en Suero

En anillos diferentes de la placa para VDRL, se colocaron 50 μ l de suero control positivo, suero control negativo y muestras, luego a cada uno se le añadió una gota de antígeno. Se agitó horizontalmente la placa a 180 rpm, durante 4 minutos, observándose inmediatamente al microscopio con objetivo de 10X. La observación de floculación se consideró como un resultado reactivo y la ausencia como no reactivo.

Prueba Semicuantitativa en Suero

Aquellas muestras reactivas por la prueba cualitativa fueron diluidas con solución fisiológica en las siguientes proporciones: 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:512 y 1:1024, y se le realizó a cada dilución la prueba como se describió arriba. El título estuvo dado por la inversa de la última dilución que se observó reactiva.

Detección de Anticuerpos Específicos Treponémicos, Mediante el Método FTA-ABS IgG (Hemagen Diagnostic)

Este ensayo utiliza el método indirecto de tinción de anticuerpos fluorescentes, descrito por primera vez, por Weller y Coons, en 1954. El procedimiento se lleva a cabo en dos pasos básicos de reacción. En el paso uno, el suero humano se pone en contacto con el sustrato antigénico. El anticuerpo, si está presente en el suero, se fija al antígeno, formando un complejo antígeno-anticuerpo. Si el suero no contiene anticuerpos para este antígeno, el complejo no se forma y todos los componentes de

suero son eliminados en el paso de lavado. El segundo paso involucra la adición a los pozos de la prueba, de una anti-inmunoglobulina humana marcada con fluoresceína. En los pozos donde se forma el complejo antígeno-anticuerpo, el anticuerpo marcado con fluoresceína se unirá a dicho complejo, una reacción positiva se evidencia por una fluorescencia verde manzana, la cual se observa con la ayuda de un microscopio de fluorescencia.

Inactivación de Controles y Muestras:

Las láminas y reactivos requeridos, se dejaron alcanzar la temperatura ambiente (15 a 30 minutos). Todos los sueros (control reactivo, control no específico y pacientes), se inactivaron por 30 minutos a 56°C, en un baño de María, antes de la prueba. Los sueros inactivados se dejaron enfriar a temperatura ambiente antes de proceder al paso siguiente.

Preparación de los Controles Reactivos y no Específicos:

Estos controles se diluyeron en una proporción 1:5. Las diluciones fueron preparadas colocando 200 µl del diluyente en un tubo de prueba y agregando 50 µl del control. Se prepararon dos (2) controles reactivos, el primero utilizó buffer fosfato salino (PBS) a pH $7,4 \pm 0,2$ y el segundo se diluyó con un concentrado de extracto estandarizado de cultivo de *Treponema Reiter* (absorbente). Se emplearon dos (2) controles no específicos, diluyéndolos, uno con PBS y el otro con el absorbente.

Preparación del Control Reactivo Mínimo y Controles no Específicos de Coloración:

Se elaboró un control reactivo mínimo con una reacción de fluorescencia 1+, diluyéndolo en una proporción 1:500 con PBS.

Se emplearon como controles no específicos de la coloración el PBS (control conjugado) y el absorbente (control sorbente) sin ningún suero de prueba o suero control, añadidos directamente a la lámina control.

Preparación de las Muestras de Prueba:

Las muestras de los pacientes se diluyeron en una proporción 1:5, agregando a los tubos, apropiadamente marcados, 200 μ l del absorbente, seguidamente 50 μ l de muestra, incubándose a temperatura ambiente, por 15 minutos. Durante la incubación, los tubos se agitaron algunas veces.

Reacción Antígeno-Anticuerpo:

Se emplearon láminas fijadas con *T. pallidum*. Cada pozo de la lámina se cubrió bien con 20 μ l de los controles (control reactivo en PBS, control reactivo en absorbente, control no específico en PBS, control no específico en absorbente, control reactivo mínimo, control sorbente y control conjugado) y sueros preparados de los pacientes. La lámina se incubó en cámara húmeda a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos, luego se lavó con un chorro estable de PBS por 5 segundos. Posteriormente, se enjuagó a fondo por 5 minutos en un recipiente que contenía PBS. El buffer se cambió y se lavó nuevamente la lámina por 5 minutos adicionales, enjuagándose luego con un chorro de agua destilada por 5 segundos. La lámina se dejó secar a temperatura ambiente por, aproximadamente, 10 minutos y cada pozo se cubrió bien con 20 μ l del conjugado FITC (anti-inmunoglobulina marcada con fluoresceína). Luego, se incubó en cámara húmeda a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 30 minutos, protegiéndose de luz intensa. A continuación, se repitieron los pasos de enjuague mencionados anteriormente. Se agregó una gota pequeña del buffer glicerol (medio de montaje) en cada pozo, cubriéndose con un cubreobjeto de 22 x 50 mm. La lámina se leyó inmediatamente con un microscopio de epifluorescencia, marca Olympus BX60, con filtro de excitación de banda azul de 450-480 nm y de emisión de 520 nm, con objetivo de 40X. Se usó el control reactivo mínimo 1 + como estándar, para comparar

la intensidad de fluorescencia del treponema de acuerdo al anexo 1.

Detección de Anticuerpos IgM Específicos Anti-VHS-2 por el Método Inmunoenzimático ELISA-IgM (Ridascreen)

Este es un ensayo inmunoenzimático para el diagnóstico *in vitro*, que identifica semicuantitativamente anticuerpos IgM contra el virus herpes simple-2 en el suero humano.

La microplaca de titulación y reactivos se dejaron alcanzar la temperatura ambiente (20-25°C). Luego, se realizó la precipitación de anticuerpos IgG y factores reumatoides (RF), que pudieran interferir en el método, causando falsos positivos. Para ello, se realizó una dilución 1:10 del absorbente que contiene antisuero contra IgG humana, con el buffer de muestras del Ridascreen ELISA, utilizando 100 µl del absorbente con 900 µl del buffer de muestras, obteniéndose un buffer de absorción listo para el uso en las determinaciones de IgM. Inmediatamente, se realizó una dilución 1:100 de las muestras de suero con el buffer de absorción, diluyendo 10 µl de la muestra de suero con 990 µl del buffer de absorción e incubándose por 15 minutos a temperatura ambiente, para que ocurra la absorción.

Preparación del Buffer de Lavado:

Se realizó una dilución 1:10 del buffer fosfato salino (PBS) a pH $7,4 \pm 0,2$ con agua destilada, empleando 2 ml del PBS con 18 ml de agua destilada.

Realización del Método:

Se introdujeron en el marco de la placa pozos para el blanco, estándar, control positivo, negativo y las muestras absorbidas. El pozo del blanco permaneció vacío durante la primera incubación. Se agregaron 100 µl de estándar de control IgM positivo por duplicado, control negativo y muestra a los pozos respectivos de la

microplaca de titulación. Se cubrió la placa y se sometió a 30 minutos de incubación a $37 \pm 1^\circ\text{C}$, transcurrido el tiempo se vació la microplaca y se lavó 4 veces con 300 μl de buffer de lavado.

Posteriormente, se añadieron 100 μl de conjugado (anti-IgM secundario unido a peroxidasa) en todos los pozos, incluyendo al blanco, se procedió a cubrir la placa y se sometió nuevamente a 30 minutos de incubación a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Posteriormente, se vació la microplaca y se lavó 4 veces con 300 μl de buffer de lavado.

En todos los pozos se añadieron 100 μl de sustrato (H_2O_2 y cromógeno), seguidamente, se cubrió la placa y se sometió a 30 minutos de incubación a $37 \pm 1^\circ\text{C}$. Por último, se agregaron 100 μl de reactivo de parada (ácido sulfúrico) a los pozos y se evaluaron fotométricamente a 450/620 nm. Las concentraciones de anticuerpos IgM anti-VHS-2 en los sueros estudiados se hallaron en la curva estándar Ridascreen VHS-2 (anexo 2) a partir de las absorbancias obtenidas fotométricamente. La positividad o negatividad de los anticuerpos se evaluó de acuerdo al anexo 3.

Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva, expresados en tablas de frecuencia y calculados mediante porcentajes. Además, se aplicó la prueba de Chi-cuadrada de Pearson para una muestra, con un nivel de confiabilidad de 95%, con la finalidad de asociar frecuencia de úlcera por *T. pallidum* con parámetros epidemiológicos (Lewis, 1969).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron 21 pacientes con edad promedio de $38,68 \pm 16,14$ años, con presencia de úlcera genital y extragenital, que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, hallándose 20 casos de úlcera extragenital, localizadas en manos y pies, y uno de úlcera genital, representando el 95,24% y 4,76%, respectivamente.

El porcentaje de frecuencia de úlcera genital determinado en el presente estudio, no se corresponde con los encontrados por otras investigaciones, quienes citan cifras de frecuencia superiores. En Pweto, República Democrática del Congo, en el año 2004, a partir de 6 972 individuos con úlceras, se encontró un 39,60% de pacientes con esta lesión a nivel genital (Luque *et al.*, 2008). Igualmente, en Uganda en el año 1999, la frecuencia de úlcera genital fue de 36,00%; y en Etiopía para el año 2002 de 28,90% (Kamali, 1999; Luque, 2008).

Datos reportados en 20 países de Latinoamérica y el Caribe, ubican a Venezuela dentro de uno de los primeros, con casos de úlceras genitales, con registros de 18 mil (55,39%) del total (32 494), durante los años 2003 a 2007 (Galban y Benzaken, 2007). De acuerdo a la revisión bibliográfica realizada, no se encontraron publicaciones que reporten datos de frecuencia de lesiones ulcerativas extragenitales.

La baja frecuencia de úlcera genital observada en este estudio, puede explicarse por la razón de que son pocos los pacientes que asisten a la consulta médica en etapa temprana, cuando hay presencia de úlcera, localizada mayormente en la zona genital, esto quizás, porque las úlceras así como aparecen, desaparecen con los días y pasan

desapercibidas por parte de ellos, tal vez por falta de conocimientos con relación al tema.

La tabla 1 expresa la frecuencia de infección ulcerativa por *T. pallidum* diagnosticada por microscopía de campo oscuro, VDRL (apéndice 3) y FTA-ABS (apéndice 4), obteniéndose que en el 100,00% de las lesiones ulcerativas se observaron espiroquetas, con morfología y motilidad, compatible con *T. pallidum*. Por otra parte, se encontró por medio de la prueba serológica no treponémica, VDRL, que el 100,00% de los casos evaluados con úlcera, fueron reactivos, no obstante, a través de la prueba serológica treponémica, FTA-ABS, el 80,96% de los casos arrojaron un resultado reactivo.

La frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, fue de 80,96%, diagnosticada sobre la base de la presencia de lesiones ulcerativas genitales y extragenitales, con campo oscuro positivo y pruebas serológicas reactivas.

Tabla 1. Frecuencia de infección ulcerativa por *T. pallidum* diagnosticada por microscopía de campo oscuro, VDRL y FTA-ABS, en pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

Método	Campo oscuro		VDRL		FTA-ABS				
	n	%	n	%	n	%			
Resultado	Positivo	21	100,00	Reactivo	21	100,00	Reactivo	17	80,96
	Negativo	0	0,00	No reactivo	0	0,00	No reactivo	4	19,04
Total	21	100,00	21	100,00	21	100,00	21	100,00	

n = número de casos % = porcentaje de casos

Del total de pacientes que resultaron no reactivos por el FTA-ABS, el 100,00% (4/4) fue del sexo masculino, el 75,00% (3/4) presentaron lesiones ulcerativas múltiples, correspondiendo, principalmente, a lesiones extragenitales, el 50% (2/4)

estuvieron ubicadas sólo en manos, el 25% (1/4) en mano y pies, y la genital, estuvo presente en el pene, con 25,00% (1/4). Los títulos de anticuerpos no treponémicos por VDRL fueron bajos, entre 2 y 16. Además, presentaron evolución de las lesiones con un período entre los 7 días y menos de 30 días, y el 50% (2/4) expresó que el último contacto sexual lo mantuvieron dentro de los 90 días previos al desarrollo de las lesiones, por lo que, dichos pacientes epidemiológica y clínicamente se corresponden con sífilis primaria.

Los CDC (2006), así como Larsen *et al.* (1995), señalan dentro de las consideraciones de laboratorio y uso de pruebas serológicas, que la examinación por campo oscuro y anticuerpos fluorescentes directos de lesiones exudativas o tejidos, son los métodos definitivos de sífilis primaria y secundaria. Aunque, también se ha señalado, que la sensibilidad de la microscopía de campo oscuro, varía de 79% a 97%, su especificidad es alta en lesiones extragenitales, no debiéndose emplear, a nivel oral y anal, por la presencia de treponemas saprófitos (Jethwa *et al.*, 1995; Ratnam, 2005).

Por otra parte, es importante destacar, que la prueba FTA-ABS, varía en la reactividad en la sífilis primaria, con valores de sensibilidad que oscilan entre 70-100%, estando relacionado al tiempo de colección de la muestra después del desarrollo de la lesión. Usualmente, los anticuerpos no treponémicos y treponémicos aparecen entre la primera y cuarta semana después de la formación del chancro (Larsen *et al.*, 1995). De modo que, es posible que los resultados de FTA-ABS no reactivos, en los pacientes evaluados con lesiones primarias, sea a consecuencia, del retraso en la aparición de estos anticuerpos. Con respecto a los títulos bajos de VDRL encontrados en estos pacientes con reactividad negativa al FTA-ABS, es soportado por el estudio realizado por García *et al.* (2008), quienes obtuvieron que en el 100,00% de los pacientes con sífilis primaria, los títulos de VDRL fueron bajos, oscilando entre 1 y 16. Así pues, con todos estos

reportes bibliográficos, se podría establecer, que la frecuencia de sífilis en pacientes con lesiones ulcerativas, corresponde al 100,00%, sin embargo, al no realizarse como parte del presente estudio, la prosecución de la evolución clínica después del tratamiento y al no hacer el seguimiento serológico de los casos no reactivos por FTA-ABS, la frecuencia de úlceras por *T. pallidum*, se basó en la presencia de úlcera genital y extragenital con diagnóstico positivo de campo oscuro y pruebas serológicas.

En el presente estudio no se encontraron casos positivos de úlcera genital por VHS-2, ya que, el paciente con lesión genital resultó negativo a la detección de anticuerpos IgM específicos anti-VHS-2, por el método inmunoenzimático (ELISA), resultado contrario a lo obtenido por Page *et al.* (2003), quienes hallaron una frecuencia de 45,23% de úlcera por VHS-2, mediante la prueba de inmunotransferencia western blot para VHS-2-IgM, a partir de una población de 126 pacientes con úlceras genitales, sugestivas de infección por VHS-2.

La tabla 2 muestra la frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS, según la edad, donde no se encontró relación estadísticamente significativa ($p < 0,05$), siendo los más afectados, los pacientes con edades comprendidas entre los 17 a 42 años con 58,82%.

Tabla 2. Frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la edad. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

Grupo etario	N	%
17 – 29	5	29,41
30 – 42	5	29,41
43 – 55	2	11,77
56 – 68	5	29,41
Total	17	100,00

n = número de pacientes % = porcentaje de pacientes $\chi_0^2 = 1,59 < \chi_{(0,95)(3)}^2 = 7,81$

Estos resultados semejan con los reportados por Contreras *et al.* (2008) y García *et al.* (2008), quienes indican que la población más afectada por ITS es la que va de 15 a 30 años, por ser ésta la población con mayor actividad sexual, sin embargo, estudios realizados por el Instituto de Salud Pública de México, entre los años 2001 y 2002, en 12 010 sueros de pacientes con úlcera, entre 20 y 80 años, indicaron, para la variable edad una frecuencia creciente de anticuerpos antitreponémicos a medida que ésta aumentaba (Conde *et al.*, 2007).

En la tabla 3 se observa la frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS, según el sexo, donde no se encontró asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) entre los 2 grupos de datos.

Tabla 3. Frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según el sexo. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

Sexo	n	%
Masculino	11	64,71
Femenino	6	35,29
Total	17	100,00

n = número de pacientes % = porcentaje de pacientes $\chi_0^2 = 1,54 < \chi_{(0,95)(1)}^2 = 3,84$

Los resultados encontrados en el presente estudio se corresponden con los obtenidos por Rodríguez (2006), quien no encontró relación alguna entre el sexo y la presencia de *T. pallidum*, indicando que, la sífilis afecta a hombres y mujeres de igual manera, ambos sexos tienen la misma posibilidad de contagio por esta ITS. A diferencia de los datos epidemiológicos reportados por la Coordinación del VIH/SIDA e ITS del Instituto de Salud de Chiapas, indican que, las mujeres son las más afectadas por ITS, tan sólo en el año 2004, 40 de 180 mujeres resultaron con ITS de nueve variedades, mientras que los hombres infectados apenas llegaron a 11 de 653 (Tondopó *et al.*, 2006). La tabla 4 presenta la frecuencia de úlcera por *T. pallidum* de los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS, según la ocupación,

donde se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los grupos estudiados, siendo los grupos más afectados las amas de casa y obreros, con iguales frecuencias (29,41%).

Tabla 4. Frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la ocupación. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

Ocupación	n	%
Ama de casa	5	29,41
Obrero	5	29,41
Comerciante	2	11,77
Estudiante	2	11,77
Taxista	1	5,88
Pescador	1	5,88
Vigilante	1	5,88
Total	17	100,00

n = número de pacientes % = porcentaje de pacientes $\chi_0^2 = 17,86 > \chi_{(0,95)(6)}^2 = 12,59$

Se puede explicar, que las amas de casas y obreros fueron los más afectados, debido a que, en el primer grupo, posiblemente, tienen poco o ningún conocimiento sobre las ITS, y en el segundo grupo, quizás, porque demandan mayores servicios sexuales con mujeres de la calle.

Tabla 5. Frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según el tipo de lesión. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

Tipo de lesión	n	%
Vesículas	7	41,18
Úlceras múltiples	7	41,18
Úlcera única	3	17,64
Total	17	100,00

n = número de pacientes % = porcentaje de pacientes

En la tabla 5 se muestra la frecuencia de úlcera por *T. pallidum* en los pacientes que asistieron a la consulta SIDA-ITS, según el tipo de lesión que presentaron,

en la cual se observa que las úlceras múltiples y vesículas fueron el tipo de lesión predominante en los pacientes, con 41,18% cada una, encontrándose en menor proporción la úlcera única (17,64%).

La sífilis primaria se caracteriza por una lesión que se inicia como una pápula, que luego se ulcera, denominándose chancro, éste aparece entre los diez y noventa días después del contacto sexual, siendo indoloro, indurado y redondeado, pudiendo medir de 1 a 2 cm de diámetro.

Desaparece espontáneamente de una a seis semanas sin dejar cicatriz, suele ser único, pero entre el 20,00 y 47,00% de los casos puede ser múltiple, localizándose en el hombre, principalmente, en el glande, prepucio y frenillo, y en la mujer, en los labios, vagina y cervix. Extragenitalmente, la lesión se puede localizar en la mucosa oral, faringe, manos, pies y recto (Tondopó *et al.*, 2006).

La tabla 6 señala la distribución de los pacientes con úlceras por *T. pallidum*, que asistieron a la consulta SIDA-ITS, de acuerdo con la ITS diagnosticada al último contacto, en la que se aprecia que 5 (29,41%) de los 17 pacientes estudiados, manifestaron que su último contacto sexual padecía sífilis, sin tomarlo en cuenta al momento de tener relaciones con su pareja.

Tabla 6. Frecuencia de úlcera por *T. pallidum*, en pacientes, que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, según la ITS diagnosticada al último contacto sexual. Agosto, 2008 – marzo, 2009.

ITS	n	%
Sífilis	5	29,41
Ninguna	12	70,59
Total	17	100,00

n = número de casos % = porcentaje de casos

El porcentaje de pacientes evaluados, infectados por *T. pallidum*, y con contacto sexual con diagnóstico de sífilis, fue menor al obtenido por Ballesteros (2007), quien expresa que, entre 40,00 y 60,00% de las parejas de pacientes con sífilis precoz, probablemente, están contagiadas y sugiere que, una vez aparecido el chancro sifilítico o las lesiones secundarias de la sífilis, la situación ideal es ubicar a aquellas personas con las que se tuvo contacto sexual, para realizar un diagnóstico clínico y serológico correcto.

CONCLUSIONES

Los tipos de úlceras manifestadas fueron genitales y extragenitales, de las cuales las más frecuentes fueron las extragenitales, localizándose en manos y pies.

La frecuencia de sífilis, por *T. pallidum*, fue de 80,96%, diagnosticada sobre la base de la presencia de lesiones ulcerativas genitales y extragenitales, con campo oscuro positivo y pruebas serológicas reactivas.

En el presente estudio no se encontraron casos positivos de úlcera por VHS-2.

La infección por *T. pallidum*, estuvo relacionada con la variable epidemiológica ocupación, no así, con la edad y el sexo.

RECOMENDACIONES

Llevar a cabo jornadas informativas por parte de los entes de salud, y en la población en general sobre las formas de transmisión, síntomas y prevención de las ITS.

Confirmar con pruebas de laboratorio apropiadas como: microscopía de campo oscuro, VDRL, FTA-ABS, detección de anticuerpos IgM específicos anti-VHS-2, el diagnóstico clínico para sífilis y herpes simple en fase precoz.

Realizar microscopía de campo oscuro a todos aquellos pacientes que presenten úlceras tanto genitales como extragenitales, con la finalidad de orientar al médico en la aplicación de un tratamiento inmediato y apropiado. Así mismo, en pacientes con lesiones ulcerativas, VDRL reactivo con diluciones entre 1:2–1:16 y sin reactividad en el FTA-ABS, no descartar una posible infección por *T. pallidum* y repetir las pruebas serológicas.

Fomentar la realización de estudios en diferentes grupos poblacionales del estado Sucre, con la finalidad de aportar datos que reflejen la frecuencia y etiología de las lesiones ulcerativas genitales y extragenitales; y evaluación de pruebas serológicas.

BIBLIOGRAFÍA

Ballesteros, J. 2007. Enfermedades de transmisión sexual: actualización de su abordaje. *IT Sist. Nac. Sal.*,31(2): 39-53.

Bauer, J. 1986. *Análisis clínico, métodos de interpretación*. Novena edición. Editorial Reverte S.A. Barcelona.

Bernal, M.; Zúñiga, M.; Guzmán, M.; Gordillo, M. y Álvarez, M. 2006. Frecuencia de sífilis en una población altamente vulnerable. Evaluación de dos tipos de antígenos para su diagnóstico. *Rev. Col. Fac. Med.*,11(1): 56.

Carrada, T. 2003a. Sífilis: actualidad, diagnóstico y tratamiento. *Rev. Fac. Med. U.N.A.M.*, 46(6): 236.

Carrada, T. 2003b. El diagnóstico de laboratorio de la sífilis. *Rev. Méx. Patol. Clin.*,50(2): 82-93.

Carrero, Y.; Callejas, D.; Estévez, J.; Gotera, J.; Núñez, J.; Atencio, R.; Porto, L. y Monsalve, F. 2006. Relación entre el herpes simple tipo 2 y las lesiones preinvasivas de cuello uterino. *Rev. Peru. Med. Exp. Sal. Public.*,23(4): 254.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2002. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2002. *M.M.W.R. Recomm. Rep.*,51: 1-78.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). 2006. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. *M.M.W.R. Recomm. Rep.*,55: 1-94.

Conde, C.; Valdespino, J.; Juárez, L.; Palma, O.; Olamendi, M.; Olaiz, G. y Sepúlveda, J. 2007. Prevalencia de anticuerpos antitreponémicos y características sociodemográficas de la población mexicana adulta en el año 2000. *Sal. Public. Méx.*,49(3): 412-419.

Contreras, E.; Ximena, S. y Ocampo, V. 2008. Sífilis: La gran simuladora. *Asoc. Col. Infectol.*,12(2): 340-346.

Declaración de Helsinki (DoH). Asociación Médica Mundial. 59^a Asamblea General, Seúl, Corea, Octubre 2008.

Ferreiro, M.; Rodríguez, M. y Pérez, C. 2004. Análisis del comportamiento de las ITS en Venezuela durante los últimos 10 años. *Dermatol. Ven.*,42(3): 14.

Galvan, E. y Benzaken, A. 2007. Situación de la sífilis en 20 países de Latinoamérica y el Caribe: Año 2006. *DST-J Bras. Doenças Sex. Transm.*,19(3-4): 166-172.

Gao, X. 2006. China's syphilis epidemic: A systematic review of seroprevalence studies. *Sex. Transm. Dis.*,33: 726-736.

García, S.; Olamendi, M.; Méndez, A.; Velásquez, M.; Portugal, C.; Bahena, S.; Guerrero, V.; Sánchez, M. y Conde, C. 2008. Sensibilidad y especificidad de dos pruebas treponémicas para el diagnóstico serológico de la sífilis. *Enf. Inf. Microbiol.*,28(2): 47-48.

Jethwa, H.; Schmitz J.; Dallabetta, G.; Behets, F.; Hoffman, I.; Hamilton, H.; Lule, G.; Cohen, M. y Folds, J. 1995. Comparison of molecular and microscopic techniques for detection of *Treponema pallidum* in genital ulcers. *J. Clin. Microbiol.*,33(1): 180-183.

Kamali, A. 1999. Seroprevalence and incidence of genital ulcer infections in a rural Ugandan population. *Sex. Transm. Inf.*,75: 98-102.

Larsen, A.; Steiner, B. y Rudolph, A. 1995. Laboratory diagnosis and interpretation of test for syphilis. *Clin. Microbiol. Rev.*,8(1): 1-21.

Lautenschlager, S. 2006. Diagnosis of Syphilis: Clinical and laboratory problems. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.*,4: 1058-1075.

Lewis, A. 1969. Bioestadística. Compañía Editorial Continental S.A. México D.F.

Lewis, D. y Young, H. 2006. Syphilis. *Sex. Transm. Infect.*,82: 13-15.

Luque, M.; Bauernfeind, A.; Palma, P. y Ruiz, I. 2008. Frecuencia de infecciones de transmisión sexual y factores relacionados en Pweto, República Democrática del Congo, 2004. *Gac. Sanit.*,22(1): 32.

Ministerio de Salud Pública. 2000. Informe de la situación epidemiológica del VIH/SIDA en Cuba, ciudad de la Habana, MIN.SA.P.

Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS). 2002. Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria, Dirección Técnica de Programas de SIDA-ITS. Estado Sucre, Venezuela.

Ministerio de Salud y Desarrollo Social (MSDS). 2007. Dirección General de Salud Ambiental y Contraloría Sanitaria, Dirección Técnica de Programas de SIDA-ITS. Estado Sucre, Venezuela.

Montiel, M.; Arias, J.; Pozo, E. y Mogollón, A. 2008. Importancia de las pruebas específicas e inespecíficas para el diagnóstico de sífilis en donantes de sangre. *Kasmera*,36(2): 169 – 176.

Norris, J.; Pope, V.; Jonson, E. y Larsen, A. 2003. Treponema and other human host-associated spirochetes. En: Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, editors. *Manual of clinical microbiology*. Octava edición. Washington: ASM Press; 2003.

Olmos, E.; Furman, P. y Torres, B. 2001. Herpes Genital. *Guías Man. Urgen.*,4: 1080.

Page, J.; Taylor, J.; Tideman, R.; Seifert, C.; Marks, C.; Cunningham, A. y Mindel, A. 2003. Is HSV serology useful for the management first episode genital herpes?. *Sex. Transm. Infect.*,79: 276-279.

Pickering, L. 2000. *American Academy of Pediatric*. Vigésima quinta edición. Red Book. Washington.

Planes, M. 2002. Evaluación y control de sífilis en el municipio Guantánamo. *Bol. Epidem. Sem. Inst. "Pedro Kouri"*,12: 3-5.

Quattordio, L.; Milani, P. y Milani H. 2004. Diagnóstico serológico de sífilis. *Acta Bioquím. Clín. Latinoam.*,38(3): 301-306.

Ratnam, S. 2005. The laboratory diagnosis of syphilis. *Inf. Dis. Med. Microbiol.*,16(1): 45-51.

Rodríguez, S. 2006. Estudios de prevalencia y factores de riesgo de la enfermedad producida por VIH y *Treponema pallidum* en individuos de edad reproductiva de Carúpano, municipio Bermúdez, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Salvador, L.; Sidro, L.; Pérez, G.; Freixenet, N.; Balanzá, A. y Bort, P. 2007. Úlceras genitales. *Guías Clín.*,7(30): 1-12.

Sanguineti, A. y Rodríguez, J. 2004. Actualización en el diagnóstico de la sífilis. *Dermatol. Perú*,14(3): 192-199.

Tondopó, B.; Cautiño, M.; Estrada, L.; Dávila, M.; Jiménez, D.; Cano, J. y Arroyo, L. 2006. Frecuencia de *Treponema pallidum* en adultos. *Enf. Inf. Microbiol.*,26(4): 110-114.

Vázquez, F.; Lepe, J.; Otero, L.; Blanco, M. y Aznar, J. 2008. Diagnóstico microbiológico de las infecciones de transmisión sexual. *Enf. Inf. Microbiol. Clín.*,26(1): 32-37.

Vuylsteke, B. 1993. High prevalence of STD in a rural area in Mozambique. *Geniturin Med.* 69: 427-430.

Weller, T. y Coons, A. 1954. Fluorescent antibody studies with agents of varicelle and herpes zóster propagated *in vitro*. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*,86: 789-794.

World Health Organization (WHO). 2001. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted diseases: overview and estimates, Geneva.

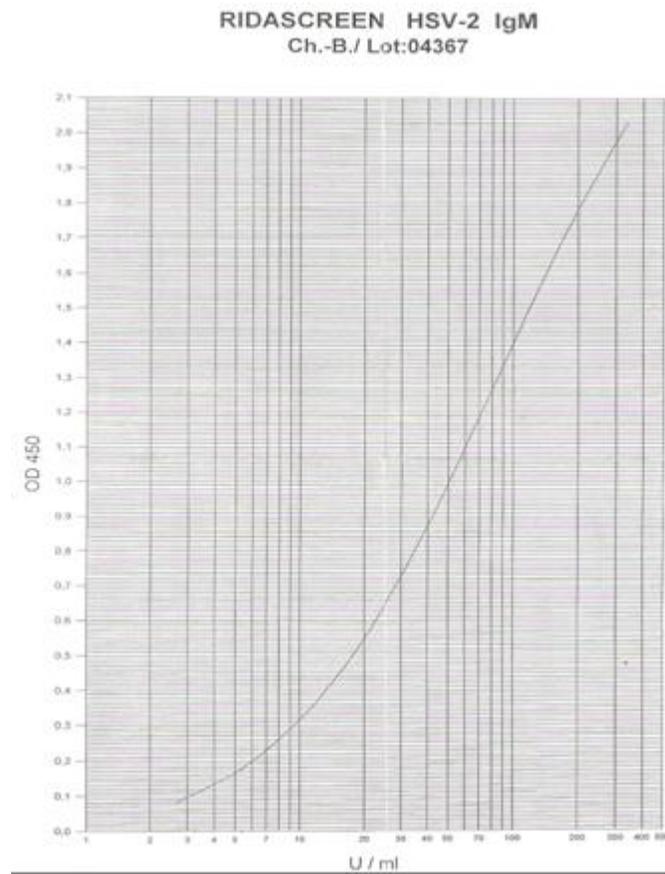
ANEXOS

ANEXO 1

Valores de referencia de anticuerpos treponémicos específicos por el método FTA-ABS IgG (Hemagen Diagnostic).

Lectura inicial	Lectura de prueba repetida	Reporte
4+, 3+, 2+		Reactivo
1+	> 1+	Reactivo
1+		Reactivo mínimo
< 1+		No reactivo

ANEXO 2



Curva estándar Ridascreen VHS-2 para la detección de anticuerpos IgM anti-VHS-2.

ANEXO 3

Valores de referencia para las concentraciones de anticuerpos específicos anti-VHS-2 por el método inmunoenzimático VHS-2 – IgM (Ridascreen).

Negativo	Limite	Positivo
< 16,0 U/ml	(16,0 – 20,0) U/ml	> 20,0 U/ml

APÉNDICES

APÉNDICE 1

AUTORIZACIÓN

Por medio de la presente autorizo a la Br. Evegñis Virginia López Ortíz, cédula de identidad N° 15 935 629, para que mi persona sea incluida, voluntariamente, en el grupo de individuos a los cuales se les tomará muestra sanguínea y de secreción de úlcera genital y extragenital para su posterior procesamiento, con el fin de determinar la presencia de *T. pallidum* y virus herpes simple-2, cuyos resultados serán evaluados como parte del trabajo de grado intitulado “FRECUENCIA DE ÚLCERA POR *Treponema pallidum* Y VIRUS HERPES SIMPLE-2 EN PACIENTES QUE ASISTEN AL ÁREA DE INFECCIONES DE TRANSMISIÓN SEXUAL (SIDA-ITS) DEL AMBULATORIO “Dr. ARQUÍMEDES FUENTES SERRANO”, CUMANÁ, ESTADO SUCRE”. AGOSTO 2008-MARZO 2009.

En Cumaná, a los _____ días del mes de _____ de 200__.

Nombre:
C.I.:

APÉNDICE 2
ENCUESTA CLÍNICA-EPIDEMIOLÓGICA

Fecha:

Hora:

Datos personales del paciente

Edad _____

Sexo: F () M ()

Ocupación

Características clínicas de las úlceras:

Localización: _____

Lesión:

Vesículas: _____

Úlceras múltiples: _____

Úlcera única: _____

Induración:

No indurada: _____

Indurada: _____

Secreción:

Serosa, moderada: _____

Serosa, escasa: _____

Purulenta, abundante: _____

Dolor:

Dolorosa: _____

Indolora: _____

Picor:

Frecuente: _____

Raro: _____

Bordes:

Lisos: _____

Difusos: _____

Base:

Eritematosa, lisa: _____

Lisa, regular: _____

Irregular, necrótica: _____

Adenopatía:

Bilateral, dolorosa: _____

Bilateral, no dolorosa: _____

Unilateral, dolorosa, fluctuante: _____

Tiempo con la úlcera: _____

Tiempo transcurrido después del último contacto sexual: _____

Al último contacto sexual se le ha diagnosticado alguna de las siguientes ITS:

Sífilis: _____

VHS: _____

Ninguna: _____

Tiene antecedentes de las ITS:

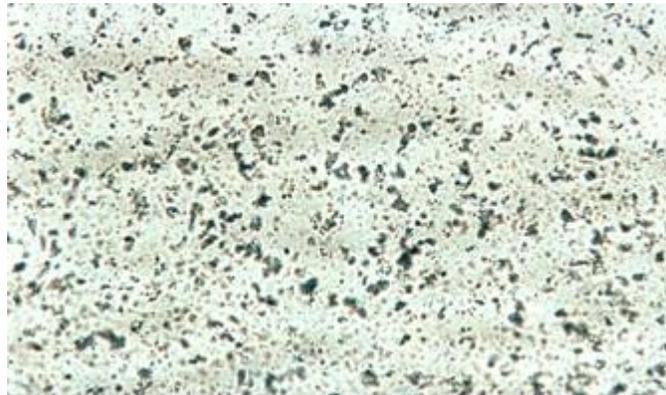
Sífilis: _____

VHS: _____

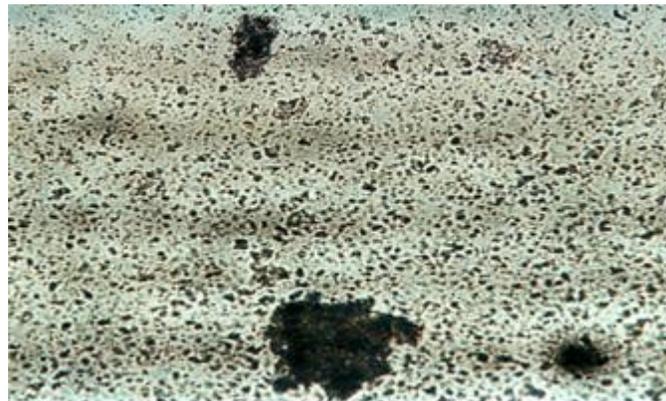
Ninguna: _____

APÉNDICE 3

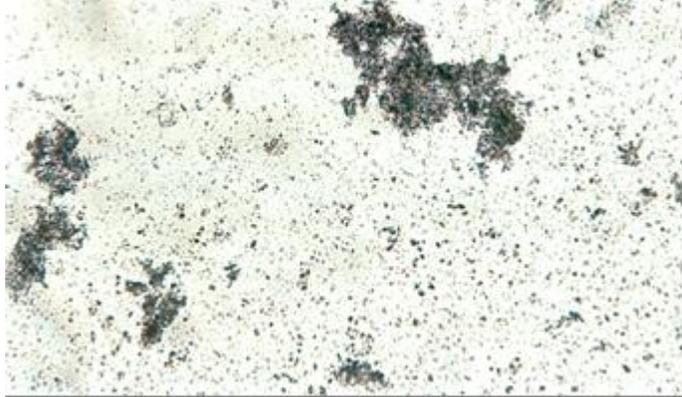
Reacciones de floculación con el método de VDRL



Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/4 por el método de VDRL con objetivo de 40X.



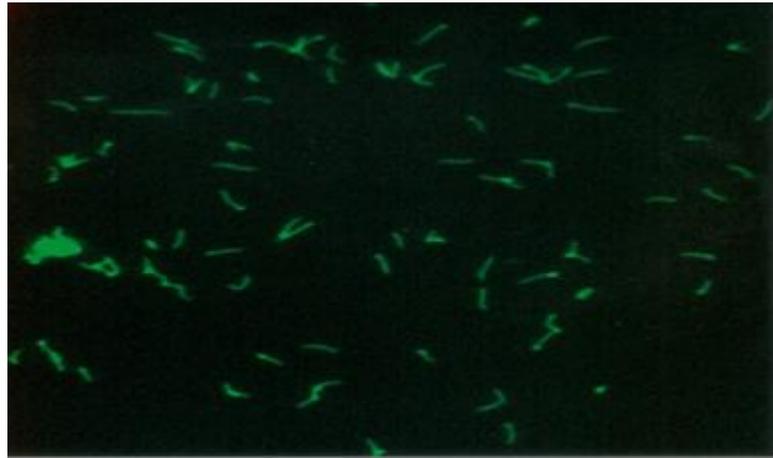
Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/128 por el método de VDRL con objetivo de 40X.



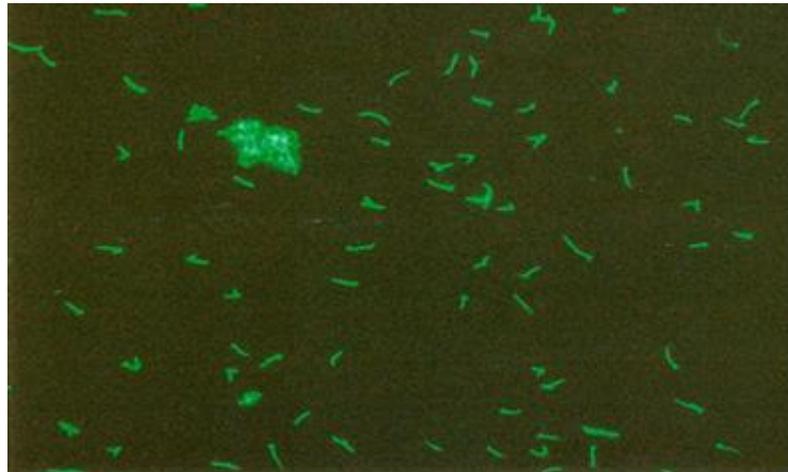
Fotomicrografía de la reacción de floculación a una dilución 1/1024 por el método de VDRL con objetivo de 40X.

APÉNDICE 4

Reactividad de fluorescencia por el método de FTA-ABS IgG



Fotomicrografía de una reacción 4+ FTA-ABS del control reactivo en PBS con objetivo de 40X.



Fotomicrografía de una reacción FTA-ABS con tinción de 4+ de las espiroquetas, a partir de suero de paciente con anticuerpos treponémicos específicos con objetivo de 40X.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

Título	Frecuencia de úlcera por <i>Treponema pallidum</i> Y Virus Herpes Simple-2 En Pacientes Que Asisten Al Área De Infecciones De Transmisión Sexual (SIDA-ITS) del Ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado sucre. Agosto 2008-Marzo 2009 (Modalidad: Investigación)
---------------	---

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
EVEGNIS VIRGINIA LÓPEZ ORTÍZ	CVLAC	15935629
	e-mail	evegnisl_26@hotmail.com
	e-mail	

Palabras o frases claves:

Úlcera, <i>T.pallidum</i> , VHS-2, campo oscuro, VDRL, FTA-ABS
--

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencias	Bioanálisis

Resumen (abstract):

Con la finalidad de evaluar la frecuencia de úlcera genital y extragenital ocasionada por la infección con *Treponema pallidum* y de úlcera genital por virus herpes simple-2 (VHS-2), se estudiaron 21 individuos masculinos y femeninos, con edades comprendidas entre 17 y 68 años, que asistieron a la consulta SIDA-ITS del ambulatorio “Dr. Arquímedes Fuentes Serrano”, Cumaná, estado Sucre, durante el período comprendido entre los meses de agosto 2008 a marzo 2009. A cada paciente se le aplicó una encuesta clínico-epidemiológica, con el propósito de establecer la asociación entre los parámetros epidemiológicos y etiología de las lesiones ulcerativas. Además, se le tomó una muestra de exudado de la úlcera y se le detectó directamente *T. pallidum*, por microscopía de campo oscuro, y una muestra sanguínea, la cual fue procesada mediante la prueba de floculación VDRL y confirmada, posteriormente, por el método para la detección de anticuerpos treponémicos específicos FTA-ABS. Aquellas muestras de pacientes con úlcera genital, se les aplicó el método ELISA para la detección de anticuerpos IgM anti-VHS-2. En el presente estudio no se encontraron casos positivos de úlcera por VHS-2, obteniéndose, por microscopía de campo oscuro que en el 100,00% de las lesiones ulcerativas se observaron espiroquetas, con morfología y motilidad, compatible con *T. pallidum*. Por otra parte, se encontró por medio de la prueba serológica no treponémica, VDRL, que el 100,00% de los casos evaluados con úlcera, fueron reactivos, y a través de la prueba serológica treponémica, FTA-ABS, el 80,95% de los casos arrojaron un resultado reactivo. La frecuencia de sífilis temprana fue de 80,95%, diagnosticada sobre la base de la presencia de lesiones ulcerativas genitales y extragenitales, con campo oscuro positivo y pruebas serológicas reactivas. Además, se encontró asociación estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre sífilis y ocupación, no siendo así con la edad y el sexo ($p < 0,05$). Así mismo, se recomienda que en pacientes con lesiones ulcerativas, VDRL reactivo a diluciones de 1:2 a 1:16 y sin reactividad en el FTA-ABS, no descartar una posible infección por *T. pallidum* y repetir las pruebas serológicas.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
EVELIN FLORES	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/>
	CVLAC	11825759
	e-mail	evelflores@cantv.net
	e-mail	
ELSA SALAZAR	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	10460717
	e-mail	elsazul2003@cantv.net
	e-mail	
MIREYA ACUÑA	ROL	CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/>
	CVLAC	2642180
	e-mail	mireyaacuña@hotmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2009	10	07

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis_EVLO.doc	Application/word

Alcance:

Espacial : Universal

Temporal: _____

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

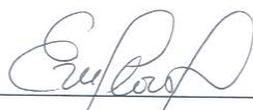
Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/5

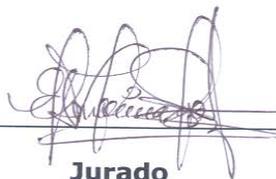
Derechos:

El autor garantiza en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de archivar y difundir, por cualquier medio, contenido de esta tesis. Esta difusión será con fines estrictamente científicos y educativos, pudiendo cobrar a la Universidad de Oriente una suma destinada a recuperar parcialmente los costos involucrados. El autor se reserva los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales o comerciales.

Autor
López. O Evegñis. V



Asesora
Flores, Evelin



Jurado
Salazar, Elsa



Jurado
Acuña, Mireya

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS: