

UNIVERSIDAD DE MÁLAGA



**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
(FACULTAD DE MEDICINA)**

**“ESTUDIO DE LA SEROLOGÍA INFECCIOSA Y
CRIBADO PRENATAL COMBINADO DE
TRISOMÍA 21 (PAPP-A Y β hCG-libre) EN EL
CONTROL SEROLÓGICO DE LA EMBARAZADA
EN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN”
(2008-2012)**

TÉSIS: Luis Calbo Caballos



Publicaciones y
Divulgación Científica

AUTOR: Luis Calbo Caballos

 <http://orcid.org/0000-0002-1577-7395>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es

Universidad de Málaga

Departamento de Microbiología

JUAN JOSE BORREGO GARCÍA, CATEDRÁTICO DE MICROBIOLOGÍA, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE MÁLAGA, COMO DIRECTOR DE LA TESIS

CERTIFICA

QUE la TESIS DOCTORAL que presenta el Licenciado en Medicina y Cirugía, **DON LUIS CALBO CABALLOS** CON DNI 31.697.553-B, con el Título, **“ESTUDIO DE LA SEROLOGÍA INFECCIOSA Y CRIBADO PRENATAL COMBINADO DE TRISOMÍA 21 (PAPP-A Y β hCG-libre) EN EL CONTROL SEROLÓGICO DE LA EMBARAZADA EN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN (2008-2012)”**, ha sido realizada en los Laboratorios de Análisis Clínicos del Hospital del SAS-Jerez de la Frontera, y bajo nuestra dirección ha sido codirigida y revisada finalmente. Reúne los requisitos que la hacen válida para optar a su exposición y defensa como Tesis Doctoral, para obtener el Grado de Doctor, para lo que así se somete a juicio del Tribunal que a tales efectos designe la Universidad de Málaga.

Lo que se firma en Málaga a cinco de Octubre de dos mil quince.


Fdo. Prof. Dr. J.J Borrego García.

Universidad de Málaga

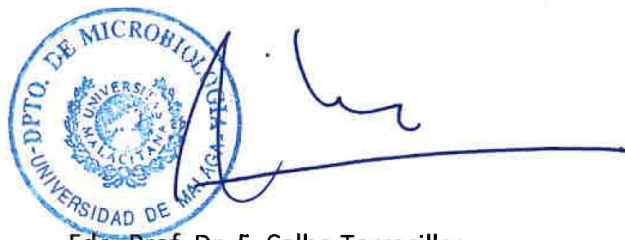
Departamento de Microbiología (Facultad Medicina)

FRANCISCO CALBO TORRECILLAS, CATEDRÁTICO DE MICROBIOLOGÍA (situación jubilado), que lo ha sido en la Facultad de Medicina de esta Universidad de Málaga, como CO-DIRECTOR,

CERTIFICA

QUE la TESIS DOCTORAL que presenta el Licenciado en Medicina y Cirugía, **DON LUIS CALBO CABALLOS** CON DNI 31.697.553-B, con el Título, **“ESTUDIO DE LA SEROLOGÍA INFECCIOSA Y CRIBADO PRENATAL COMBINADO DE TRISOMÍA 21 (PAPP-A Y β hCG-libre) EN EL CONTROL SEROLÓGICO DE LA EMBARAZADA EN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN (2008-2012)”**, ha sido realizada en los Laboratorios de Análisis Clínicos del Hospital del SAS-Jerez de la Frontera, y bajo nuestra co-dirección ha sido codirigida y revisada finalmente. Reúne los requisitos que la hacen válida para optar a su exposición y defensa como Tesis Doctoral, para obtener el Grado de Doctor, para lo que así se somete a juicio del Tribunal que a tales efectos designe la Universidad de Málaga.

Lo que se firma en Málaga a cinco de Octubre de dos mil quince.



Fdo. Prof. Dr. F. Calbo Torrecillas

Luis **Calbo Caballos**, con DNI: 31697553-B, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, que realizó el Programa de Doctorado y con DEA en la Universidad Autónoma de Madrid y que en la actualidad es Médico con la Especialidad de Análisis Clínicos (vía MIR), con destino en el Laboratorio de Análisis Clínicos en el Hospital del SAS en Jerez, presento el trabajo que he realizado con el Título ,
“ESTUDIO DE LA SEROLOGÍA INFECCIOSA Y CRIBADO PRENATAL COMBINADO DE TRISOMÍA 21 (PAPP-A Y β hCG-libre) EN EL CONTROL SEROLÓGICO DE LA EMBARAZADA EN EL PRIMER TRIMESTRE DE GESTACIÓN (2008-2012)”, bajo la CO-DIRECCIÓN de los Catedráticos de Microbiología de la Universidad de Málaga, Profesores F. Calbo Torrecillas, y J.J Borrego García.

Revisado el trabajo, firmo el presente, con el que opto al Grado de Doctor por la Universidad de Málaga, en la que soy alumno del Tercer Ciclo desde Diciembre de 2012, Ud. Administrativa: Servicio de Doctorado, Expediente académico de tesis nº : 900001946.

Lo que firmo en Málaga a uno de Octubre de 2015.

Fdo.



Dedicatoria.

A mis padres, Carmen y Luis, que me lo han dado todo.

A mi tío Curro, el motor de esta tesis.

A Leti, y a mis hermanos Rocío y Gonzalo.

Agradecimientos.

Esta tesis empezó a fraguarse el día que comencé la carrera de Medicina, allá por el año 1994, en la Facultad de Medicina de Cádiz, precisamente la misma Facultad en la que años antes habían estudiado mi padre y mi tío Curro. Son ellos dos los que desde entonces me hablaban de la importancia como médico de ser “DOCTOR”, entendido tal, no ya como Licenciado en Medicina, sino por haber obtenido la “Tesis Doctoral”, el prestigio profesional que ello te otorgaba y la satisfacción personal que me iba a proporcionar después del esfuerzo que conllevaba obtenerla. Es sin duda alguna, gracias a ellos dos, por lo que puedo escribir ahora estas líneas. Han sido muchos años desde entonces, obtuve la Licenciatura en Medicina, realicé la Especialidad de Análisis Clínicos en el Hospital de La Paz de Madrid, y fue allí, donde, al matricularme en los Cursos de Doctorado en la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, empecé definitivamente el camino hasta aquí.

A lo largo de todos estos años, no pocas veces he tenido la tentación de dejar la tesis, he pensado que no merecía la pena tanto esfuerzo, pero papá y tío Curro siempre estaban detrás empujando, ayudando y animándome para que no desistiera. Gracias de verdad a los dos, esta tesis es tan vuestra como mía.

A mi madre por su paciencia en estos años con mi padre y conmigo, por tantas horas dedicadas a esta tesis.

A mis directores de Tesis, Dr. Juan José Borrego García y Dr. Francisco Calbo Torrecillas por las enseñanzas recibidas en metodología de la investigación.

A los hermanos Torrents de Reference Laboratory y a todo el personal que trabaja con ellos, por su colaboración en esta Tesis.

Al Dr. Francisco Javier Barrón, Bioestadístico de la Facultad de Medicina de la UMA.

A Sofía de Tena, por su colaboración en la recopilación de los datos de esta tesis.

A Bernardo Cabeza, por toda la ayuda que me ha prestado en esta tesis, incluso en su tiempo libre.

A todos mis compañeros del Hospital de La Paz en Madrid y del Hospital del SAS de Jerez.

INDICE

| | |
|---|------------|
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 13 |
| 1.1. ESTUDIO DE ANOMALÍAS CONGÉNITAS | 15 |
| 1.2. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS. | 17 |
| 1.3. CRIBADO COMBINADO DEL 1º TRIMESTRE..... | 23 |
| 1.4. SÍNDROME DE DOWN. | 28 |
| 1.5. INFECCIÓN CONGÉNITA Y/O PERINATAL. | 34 |
| 1.6. RUBÉOLA..... | 36 |
| 1.7 RUBÉOLA CONGENITA..... | 40 |
| 1.8. TOXOPLASMOSIS..... | 45 |
| 1.9 TOXOPLASMOSIS Y GESTACIÓN (RIESGO DE TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA)..... | 54 |
| 1.10. VIRUS DE LA HEPATITIS B..... | 60 |
| 1.11. VIRUS HEPATITIS “B” EN GESTANTE. | 64 |
| 1.12. SÍFILIS..... | 67 |
| 1.13. SÍFILIS EN GESTANTE. | 72 |
| 1.14. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH). | 83 |
| 1.15. VIH EN GESTANTES..... | 98 |
| 1.16. VIRUS DE LA HEPATITIS C..... | 102 |
| 1.17. VHC EN GESTANTES. | 107 |
| 2. OBJETIVOS..... | 112 |
| 2.1. “CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE”. | 112 |
| 2.2. “ ESTUDIO DE SEROLOGÍA INFECCIOSA”. | 114 |
| 3. MATERIAL Y METODO..... | 118 |
| 3.1 MATERIAL..... | 118 |
| 3.1.1 POBLACIÓN ESTUDIADA Y DETERMINACIONES. | 118 |
| 3.1.2 PLAN DE TRABAJO. | 119 |
| 3.2 METODO..... | 126 |
| 3.2.1 MARCADORES BIOQUÍMICOS EN GESTANTES..... | 126 |
| 3.2.1.1 β-hCG Libre..... | 132 |
| 3.2.1.2 PAPP-A | 134 |
| 3.2.1.3 Programa de Cálculo de Riesgo: PRISCA 4.0. | 139 |
| 3.2.1.4 Preparación para envío al Centro de Referencia del material biológico para realización de Cariotipo..... | 152 |
| 3.2.1.4.1 Cariotipo | 152 |
| 3.2.1.4.2 QF-PCR (Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction) | 159 |
| 3.2.2 MARCADORES DE SEROLOGÍA INFECCIOSA. | 162 |
| 3.2.2.1 RUBÉOLA IgG | 165 |
| 3.2.2.2 TOXOPLASMOSIS | 175 |
| 3.2.2.2.1 Toxoplasma IgG | 175 |
| 3.2.2.2.2 Toxoplasma IgG Avidez..... | 185 |

| | |
|--|------------|
| 3.2.2.2.3 Toxoplasmosis IgM | 192 |
| 3.2.2.3 VIRUS DE LA HEPATITIS B..... | 194 |
| 3.2.2.3.1 HBsAg | 194 |
| 3.2.2.3.2 HBeAg..... | 205 |
| 3.2.2.4 SÍFILIS | 211 |
| 3.2.2.4.1 RPR..... | 211 |
| 3.2.2.4.2 FTA-Abs. Técnica de Confirmación para gestantes en la Tesis.... | 217 |
| 3.2.2.5 VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH). | 221 |
| 3.2.2.5.1 ELISA VIH..... | 221 |
| 3.2.2.5.2 Western-BLOT VIH. Test confirmatorio. | 232 |
| 3.2.2.6 VIRUS DE LA HEPATITIS C(VHC). | 238 |
| 3.2.3 MÉTODO ESTADÍSTICO. | 249 |
| 4. RESULTADOS..... | 250 |
| 4.1. CRIBADO COMBINADO DE TRISOMÍA 21 | 250 |
| 4.1.1 GLOBAL DEL PERIODO DE ESTUDIO (2008-2012)..... | 253 |
| 4.1.2 RESULTADOS DE CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE CON RIESGO BAJO..... | 255 |
| 4.1.3 RESULTADOS DE CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE CON RIESGO ALTO | 258 |
| 4.1.4. RESULTADOS EN EMBARAZADAS SIN CRIBADO REALIZADO..... | 261 |
| 4.1.4.1 Embarazadas sin Cribado pero con Cariotipo realizado..... | 261 |
| 4.1.4.2 Embarazadas sin cribado y sin cariotipo realizado..... | 262 |
| 4.1.5. DISTRIBUCIÓN ANUAL DE LOS RESULTADOS CON CRIBADO DE INDICE DE RIESGO ALTO, CARIOTIPOS Y RESULTADO FINAL DEL RECIEN NACIDO. | 264 |
| 4.1.6. DISTRIBUCIÓN ANUAL DE LOS RESULTADOS DE EMBARAZADAS SIN CRIBADO REALIZADO, CON CARIOTIPOS REALIZADOS Y RESULTADO FINAL DEL RECIÉN NACIDO..... | 266 |
| 4.1.7 VALORACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE FALSOS POSITIVOS. | 267 |
| 4.1.8 VALORACIÓN DEL EFECTO BENEFICIOSO QUE HUBIÉSEMOS OBTENIDO EN LAS GESTANTES QUE NO ACCEDIERON AL CRIBADO, SI HUBIESEN ACCEDIDO AL PROGRAMA..... | 267 |
| 4.2. RESULTADOS DE SEROLOGIA INFECCIOSA | 269 |
| 4.2.1 RESULTADOS DE RUBÉOLA..... | 269 |
| 4.2.2 RESULTADOS DE TOXOPLASMOSIS. | 273 |
| 4.2.3 RESULTADOS VIRUS HEPATITIS B..... | 282 |
| 4.2.4. RESULTADOS SÍFILIS. | 291 |
| 4.2.5 RESULTADOS VIH..... | 297 |
| 4.2.6. RESULTADOS VHC..... | 301 |
| 5. DISCUSION..... | 306 |
| 5.1. CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE | 306 |
| 5.2. RUBÉOLA..... | 311 |
| 5.3. TOXOPLASMOSIS..... | 322 |
| 5.4. VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB). | 327 |
| 5.5. SÍFILIS..... | 334 |
| 5.6. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA (VIH). | 342 |

| | |
|---|------------|
| 5.7. VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC)..... | 350 |
| 6. CONCLUSIONES..... | 355 |
| 6.1. CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE..... | 355 |
| 6.2. RUBÉOLA..... | 358 |
| 6.3. TOXOPLASMA..... | 359 |
| 6.4. VIRUS HEPATITIS B..... | 360 |
| 6.5. SÍFILIS..... | 362 |
| 6.6. VIH..... | 363 |
| 6.7. VIRUS HEPATITIS C (VHC)..... | 364 |
| 7. BIBLIOGRAFIA..... | 384 |

INDICE DE TABLAS:

| | |
|---|-----|
| Tabla 1. Estudio SURUSS. (Wald,2003)..... | 18 |
| Tabla 2. Resultados de diferentes Estrategias de cribado en uso, de acuerdo con datos poblacionales de 2002 en Andalucía (<i>sobre 157 casos esperados de Síndrome de Down</i>)* | 20 |
| Tabla 3. La Incidencia del Síndrome de Down, relación con la edad de la Madre (<i>directamente proporcional</i>)..... | 32 |
| Tabla 4. Vías de transmisión del virus. | 96 |
| Tabla 5. Material empleado para estudio en esta Tesis. Determinaciones analíticas realizadas, distribuidas por año. | 125 |
| Tabla 6. Distribución anual de los resultados de Cribado con Informe de Índice de Riesgo Alto, Cariotipos, y resultado final del recién nacido. | 265 |
| Tabla 7. Resultados de Embarazadas con Trisomía 21 en 3 grupos diferenciados. | 265 |
| Tabla 8. Distribución anual de los resultados de embarazadas Sin Cribado realizado, Con Cariotipos realizados, y resultado final del recién nacido. | 267 |
| Tabla 9. Serología Rubéola IgG (2008-2012). | 271 |
| Tabla 10. Serología Toxoplasmosis (2008-2012)..... | 276 |
| Tabla 11. Serología Virus Hepatitis B (2008-2012)..... | 286 |
| Tabla 12. Serología Sífilis (2008-2012). | 293 |
| Tabla 13. Resultados de Serología VIH en gestantes a solicitud por pertenencia a grupo-práctica de riesgo (2008-2012). | 298 |
| Tabla 14. Porcentaje serología de VIH “realizadas (a solicitud de Obstetricia)” sobre el total de embarazadas.(2008-2012)..... | 299 |
| Tabla 15. Serología VHC (2008-2012). | 302 |

INDICE DE FIGURAS:

| | |
|--|-----|
| Figura 1. Estructura VIH | 86 |
| Figura 2. <i>Inmulite-2000 XPi</i> | 127 |
| Figura 3. Programa Prisca 4.0 | 149 |
| Figura 4. Informe de Resultado del Cribado Combinado de Cromosopatías del Programa Prisca 4.0 | 151 |
| Figura 5. Cultivos celulares del Cariotipo | 154 |
| Figura 6. Incubador | 155 |
| Figura 7. Tubos de Falcon | 156 |
| Figura 8. Flaskette | 157 |
| Figura 9. Architect i2000 | 162 |

INDICE GRÁFICAS:

| | |
|---|-----|
| Gráfica 1. Número “Cribado Combinado 1º trimestre”-año/partos-año. 2008-2012.. | 253 |
| Gráfica 2. Cribado de Índice de Riesgo de Cromosomopatías en el 1º Trimestre. | 254 |
| Gráfica 3. Resultados de cariotipos en cribados con Índice de Riesgo Bajo. | 256 |
| Gráfica 4. Resultados de Embarazadas con Índice de Riesgo Bajo y sin cariotipo realizado..... | 257 |
| Gráfica 5. Resultados de cariotipos en Cribados con Riesgo Alto. | 259 |
| Gráfica 6. Embarazadas con “Alto Riesgo” que se realizan Cariotipo. | 259 |
| Gráfica 7. Recién nacidos con Trisomía 21 en Embarazadas con Índice de Riesgo Alto y sin cariotipo realizado..... | 260 |
| Gráfica 8. Resultados de cariotipos en embarazadas sin Cribado realizado. | 262 |
| Gráfica 9. Recién Nacidos con trisomías en embarazadas Sin Cribado y Sin Cariotipo realizados. | 263 |
| Gráfica 10. Serología Rubéola IgG (2008-2012) | 271 |
| Gráfica 11. Línea de tendencia y significación estadística porcentaje Rubola IgG (-) (2008-2012). | 272 |
| Gráfica 12. Serología Toxoplasmosis IgG (2008-2012). | 276 |
| Gráfica 13. Serología Toxoplasmosis IgG/IgM (2008-2012). | 277 |
| Gráfica 14. Línea de tendencia y significación estadística Toxoplasmosis IgG (+) (2008-2012). | 278 |
| Gráfica 15. Línea de tendencia y significación estadística de Toxoplasmosis IgM (+) en muestras IgG(+) (2008-2012). | 279 |
| Gráfica 16. Línea de tendencia y significación estadística de Toxo avidéz baja sobre Toxoplasmosis IgG (+) (2008-2012). | 280 |
| Gráfica 17. Línea de tendencia y significación estadística de Toxo Avidéz Baja (+) sobre Toxoplasmosis IgM (+). | 281 |
| Gráfica 18. Serología HBsAg (2008-2012). | 286 |
| Gráfica 19. Serología HBsAg (+) y HBeAg (+/-) para VHB. | 287 |
| Gráfica 20. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de HBsAg (+). | 288 |
| Gráfica 21. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje HBeAg (+) sobre HBsAg (+). | 289 |
| Gráfica 22. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de gestantes que conocían ser portadoras.(2008-2012). | 290 |
| Gráfica 23. Serología Sífilis. Prueba No Treponémica (RPR). (2008-2012). | 294 |
| Gráfica 24. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de RPR (+). Período 2008-2012. | 295 |
| Gráfica 25. Serología Sífilis. Prueba Treponémica confirmatoria (FTA-Abs IgM). 2008-2012. | 295 |
| Gráfica 26. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de FTA-Abs-IgM(+), sobre RPR(+). | 296 |
| Gráfica 27. Resultado Serología Ac.VIH(1/2) en gestantes (2008/2012). | 299 |
| Gráfica 28. Línea de tendencia y significación estadística Serología Ac.VIH(1/2) (+). | 300 |
| Gráfica 29. Resultados Serología VHC en gestantes (2008-2012). | 303 |
| Gráfica 30. Carga viral VHC en gestantes seropositivas VHC (2008-2012). | 303 |
| Gráfica 31. Línea de tendencia y significación estadística de porcentaje Ac.VHC (+). | 304 |

| | |
|--|-----|
| Gráfica 32. Línea de tendencia y significación estadística de porcentaje de carga viral RNA sobre Ac.VHC (+)..... | 305 |
|--|-----|

INDICE ANEXOS:

| | |
|---|-----|
| Anexo 1: Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo (BOE 4/10/2010) | 365 |
| Anexo 2: Ley Orgánica 11/2015, de 21 de septiembre, para reforzar la protección de las menores y mujeres con capacidad modificada judicialmente en la interrupción voluntaria del embarazo (BOE 22/09/2015)..... | 380 |

CODIGO DE ABREVIATURAS

ADN = Acido Desoxirribonucleico

AFP = Alfa Fetoproteína

AntiHBc = Anticuerpo frente al “*core*” del virus de la hepatitis B

AntiHBe = Anticuerpo frente al “*antígeno e*” del virus de hepatitis B

AntiHBs = Anticuerpo frente al antígeno de superficie (HBsAg)

ARN = Acido Ribonucleico

BCIP = 5 Bromo-4 cloro-indol fosfato

BOE = Boletín Oficial del Estado (España)

β -hCG = Beta-gonadotropina corionica humana

CCI = Control de Calidad Interno

CDC = Center for Disease Control and Prevention

CIE-9^a = Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades, 9^a edición (1975)

CIE-10^a = Clasificación Estadística Internacional de Enfermedades, 10^a edición (1992)

CLSI = Clinical Laboratory Standart Institute

CMIA = Inmunoanálisis quimioluminiscente de partículas

CPNI = Cribado Prenatal No Invasivo

CR = Cubeta de Reacción

CRL = Longitud cráneo-caudal

CRTS = Centro Regional de Transfusion Sanguínea

CV = Coeficiente de Variación (Estadístico)

CVP = Carga Viral Plasmática

CUSUM = Cumulative sum control chart

DE = Desviación Estándar (Estadístico)

ECEMC=Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas

ECDC = European Center for Disease Prevention and Control

EDO = Enfermedad de Declaración Obligatoria

EDTA = Etililen Diamino Tetra Acético

ELFA = Enzyme Linked Fluorescent Assay

ELISA = Enzyme Linked Immunosorbent Assay

ETS = Enfermedad de Transmisión Sexual

FASTER = First and Second Trimester Study

FCR = Fuerza Centrifuga Relativa

FDA = Food and Drug Administration

FISH = Hibridación fluorescente in situ

FIV = Fecundación In Vitro

FP = Falso Positivo

FTA = Fluorescent Test Antibody "*Treponema pallidum*"

FUR = Fecha Última Regla (En mujer Gestante)

HAMA = Anticuerpos Humanos Anti Ratón

hCG = Gonadotropina Coriónica Humana

HBsAg = Antígeno de Superficie del virus de la hepatitis B

HBeAg Antígeno e del virus de la hepatitis B

HTLV = Human T Lymphotropic Virus

hSOD = Superóxido Dismutasa Humana

INF = Interferon

IP = Inhibidor de la proteasa

IRES = Internal Ribosome Entry Site

IVE = Interrupción Voluntaria del Embarazo

LAV = Lymphadenopathy-associated Virus

LCR = Liquido Ceforraquideo

MMR = Measles mumps Rubella

MoM = Múltiplo de la Mediana

MSM = Men Sex Men

NBT = Nitro Azul Tetrazolium

NS = No Estructural

OMS = Organización Mundial de la Salud

PACAC = Programa Andaluz Cribado Anomalías Congénitas

PAI = Proceso de Atención Integral

PAPP-A = Proteína A Asociada al embarazo

PBS = Solución Salina amortiguadora por Fosfato

PCR = Reacción en Cadena de la Polimerasa

PMT = Fotomultiplicador Tubo

PNT = Procedimientos Normalizados de Trabajo

proMBP = Protina Basica Mayor Eosinófila

QF-PCR = Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction

RENAVE = Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica

RFV = Relative Fluorescence Value

R.N. = Recién Nacido

R.L.U = Unidades Relativas de Luz

R.P.R. = Reagina Plasmática Rápida (Test no treponémico para sífilis)

RSH = Gestor Tridimensional de Muestras

SAS = Servicio Andaluz de Salud

SC = Sífilis Congénita

S/CO = Standard /Cutoff

SD = Síndrome de Down

SG = Sífilis Gestacional

SEGO = Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia

SNC = Sistema Nervioso Central

SRC = Síndrome de la Rubéola Congénita

SSPA = Sistema Sanitario Público de Andalucía

STR = Short Tandem Repeats

SURUSS = Serum Urine and Ultrasound Screening Study

SVEA = Servicio de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía

TAC = Tomografía Axial Computarizada

TAR = Terapia Antirretroviral

TARGA = Terapia antirretroviral de gran Actividad

TD = Tasa de Detección

TPHA = Aglutinación de Partículas de Treponema Pallidum

TFP = Tasa Falsos Positivos

TN = Translucencia Nucal (parámetro ecográfico)

UDVP = Usuario de Drogas por Vía Parenteral

UK-NEQAS = United Kingdom National External Quality Assessment

UPRL = Unidad Prevencion riesgos Laborales

URL = Unidad Relativa de Luz

VDRL = Venereal Disease Research Laboratory

VHB = Virus de la Hepatitis B

VIH = Virus de la Inmunodeficiencia Humana

VHC = Virus de la Hepatitis C

WHO = World Health Organization

1. INTRODUCCIÓN

La posibilidad de recibir una atención sanitaria integral y continua se enfrenta a grandes dificultades, debidas fundamentalmente a la tipología de las Organizaciones Sanitarias de nuestra época, caracterizadas por la complejidad organizativa, la segmentación departamental, la súper especialización de tareas, la escasa coordinación interniveles, la variabilidad en la ejecución de procesos repetitivos y las ineficiencias de los mismos, y la poca capacidad de adaptación de los Servicios a las necesidades cambiantes.

Son indiscutibles los cambios sociales que se están produciendo en nuestro Sistema Sanitario y el papel que juegan hoy día los ciudadanos en relación con los Servicios sanitarios, satisfacción, necesidades, demandas y expectativas. Por todo ello y muchas otras razones, desde el sector sanitario público andaluz se ha revisado el proceso denominado “*Proceso Asistencial Integrado. Embarazo, Parto y Puerperio*”[1]

En el año 2000 la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía hace una apuesta por la “calidad” de la atención sanitaria, entendida como un concepto integral donde intervienen múltiples variables, entre las cuales la satisfacción de los ciudadanos es elemento irrenunciable, para ello se define que el modelo de gestión de los servicios debe basarse en la “*Gestión por Procesos*”. Estos permitirán abordar los problemas de salud de una manera sencilla, ágil y entre ellos uno estará centrado en la gestante y de una forma coordinada, garantizando la continuidad de la asistencia de la gestante.

Hoy día no nos podemos olvidar poner al servicio de los ciudadanos, las normativas y recomendaciones de Sociedades Científicas, para con las embarazadas, relativas al “*control serológico durante el embarazo*” y respecto a “*cribado prenatal combinado*”.

Es por ello que hemos estudiado durante el periodo 2008 -2012, el estado inmunológico de las embarazadas, al tiempo que realizábamos el cribado prenatal de las gestantes que acudían a la consulta de Obstetricia del Hospital de Jerez, Área Sanitaria Norte de Cádiz, Provincia en Andalucía.

Para el estudio de nuestro trabajo nos apoyaremos en las bases descritas en el “PACAC: “Programa Andaluz para el cribado de Anomalías Congénitas”. Servicio Andaluz de Salud 2009” y en el “Proceso Asistencial Integrado: Embarazo, parto y puerperio”. Teniendo en cuenta los elementos fundamentales de estos y aprovechando el trabajo en equipo de los profesionales que desarrollan su actividad en diferentes espacios de la Atención Especializada y las expectativas e impacto de las gestantes y profesionales y teniendo siempre como centro de la actividad la gestante y el recién

nacido, hemos aprovechado los flujos de trabajo ya establecidos en nuestra Área Sanitaria Norte de Cádiz para el desarrollo de esta Tesis.

1.1. ESTUDIO DE ANOMALÍAS CONGÉNITAS.

Se define Anomalía Congénita como: *cualquier anomalía morfológica, estructural, funcional o molecular, presente al nacimiento*. Aproximadamente el 2-3% de los recién nacidos (R.N.) tiene algún defecto congénito grave y éstas son causa del 20% de las muertes en el periodo postnatal.

La Aneuploidías son los trastornos cromosómicos más frecuentes, se presentan en el 3-4 % de los embarazos clínicamente reconocidos y pueden afectar “a cualquiera de los cromosomas”.

El término aneuploidía se refiere clínicamente a la “*anomalía cromosómica numérica*” caracterizada por la existencia de un número impar de cromosomas, como consecuencia de la pérdida (monosomías) o del incremento (trisomías) de uno de ellos.

Es la variedad más frecuente de “*anomalía cromosómica*” detectada en la clínica y su trascendencia social viene determinada por el hecho de que muchos fetos que la presentan, si no hay muerte fetal, son viables hasta el nacimiento, y que una proporción significativa de ellos, sobreviven hasta edad avanzada, presentando retraso mental, disfunciones vitales, u otras anomalías congénitas asociadas, e importante discapacidad.

El origen más frecuente de las aneuploidias es un error en la disyunción durante la división celular, que puede producirse en la meiosis o en la mitosis. Para el SD (Síndrome de Down) se ha demostrado que, en la mayoría de los casos, esta falta de disyunción es de origen materno, produciéndose en general, en la primera división meiótica y con una clara dependencia de la edad materna. [2]

El Síndrome de Down [3], también conocido como “*trisomía 21*”, es un trastorno genético frecuente, causado por “*una copia extra de todo el material genético del cromosoma 21*”. Representa el trastorno cromosómico más frecuente, el síndrome malformativo más común y la primera causa de retraso mental en nuestro entorno.

Dentro de los programas de salud materno-infantil está actualmente bien establecida la posibilidad, de que las futuras madres puedan someterse a la “*detección prenatal de las anomalías congénitas*” y muy especialmente, dentro de estas, al “*cribado de las aneuploidías*” para poder la mujer decidir, con toda la información necesaria, sobre la continuación o no de la gestación, cuando se presenta una anomalía fetal severa.

El “*diagnóstico invasivo*” del SD, mediante técnica como la amniocentesis o biopsia corial, implica cierto riesgo en la interrupción prematura del embarazo.

Cualquiera de los parámetros relacionados con el embarazo, que presente diferencias entre los fetos normales y los afectados de una aneuploidía, constituyen un

marcador de la misma y será tanto más eficaz cuanto mayor sea la proporción de fetos que lo manifiesten. La valoración de los marcadores (biológicos, serológicos, materno-fetales y morfológicos o funcionales fetales) constituye actualmente, la base de la detección prenatal de las aneuploidías, mediante los “*métodos no invasivos*” denominados de “cribado” y pueden ayudar a seleccionar mejor las pacientes que deben someterse a “*pruebas invasivas*” en un segundo paso diagnóstico.

El objetivo y al mismo tiempo reto del “*cribado-prenatal para detectar el síndrome de Down*”, es conseguir un Alto índice de detección, con un Bajo índice de falsos positivos.

Lo ideal, como toda prueba diagnóstica basada en su exactitud, sería detectar con ella todos los “fetos afectados” (100 %), mientras que todos los “fetos no afectados” darían un resultado negativo.

La posibilidad de que un recién nacido presente algún tipo de Defecto Congénito es de un 2-3% al nacimiento, de éstos un 1-1,5 % se deben a “*Malformaciones*” (un 60 % del total de defectos) y un 0,6 % (un 12-15 % del total de defectos) se deben a “*Cromosomopatías*”. [4,5]

1.2. CRIBADO DE CROMOSOMOPATÍAS.

Desde los años 1970 se han intentado aplicar “métodos de cribado” de anomalías cromosómicas (especialmente de SD) en las gestantes, ya que 1 de cada 500 embarazos se estima pueda ser para recién nacido afecto de una de estas patologías. Los primeros métodos de cribado se basaron en la edad materna (mayor de 35 ó 38 años). Este método produjo unas “tasas de diagnóstico” bajas (alrededor del 30%) con una alta TFP (tasa de falsos positivos), y por lo tanto requerirían de técnicas invasivas.

En los años 1980, se introduce el “*cribado bioquímico del segundo trimestre*“, con una tasa de detección del 60% para una tasa de falsos positivos (TFP) del 5%-10%. Posteriormente, como expresión del desarrollo de técnicas diagnósticas, se introducen los “*marcadores ecográficos de cromosomopatías*” y aparecen los “*marcadores bioquímicos del primer trimestre*”.

La creciente necesidad de valorar la Sensibilidad y Especificidad de los diferentes métodos de cribado impulsaron los estudios: FASTER (First and second trimester study (Malone, 2005)[6] y SURUSS (Serum Urine and Ultrasound Screening Study) (Wald, 2003)[7].

El estudio FASTER [6] se realizó en 15 centros de Estados Unidos investigando a 38.167 mujeres gestantes (33.546 aportaron datos completos), con gestaciones simples, edad gestacional entre 10semanas + 3días y 13semanas + 6días mediante “*cribado prenatal combinado*” de primer trimestre y “*prueba cuádruple de 2ª trimestre*”. Los autores de este estudio destacan:

- Los mejores resultados para síndrome de Down, se obtienen mediante la “combinación del 1º y 2º trimestre”.
- Los resultados obtenidos apoyan también el uso del “Cribado combinado del 1º trimestre”, obteniéndose los resultados más favorables, cuando esta prueba se realiza a las 11 semanas de gestación.
- El cribado de 2º trimestre presenta mayores Tasa de Falsos Positivos (TFP) que el del “1º trimestre”.

El estudio SURUSS (Wald 2003)[7] se trata de un estudio publicado en 2003, cuyo objetivo fue identificar la mejor estrategia de cribado de Síndrome de Down (estudio de coste-eficacia) dentro de las posibles combinaciones de pruebas realizadas, tanto en el primer como segundo trimestre (Tabla 1).

Tabla 1. Estudio SURUSS. (Wald,2003).

| Test (todos incluyen edad materna) | Medidas | Eficacia | Seguridad |
|------------------------------------|--|----------------------------------|---|
| | | Tasa de falsos positivos (TFP) % | Nº de pérdidas fetales por 100.000 cribados |
| Test Integrado | -TN y PAPP-A a las 10-13 sem. completas. -AFP, Estríol no conjugado, β -hCG e Inhibina A a las 14-20 sem. completas | 0,9 | 6 |
| T. Integrado Serológico | - PAPP-A a las 10-13 sem. completas, - AFP, Estríol no conjugado, β - hCG e Inhibina A a las 14-20 sem. completas | 3,9 | 28 |
| T. Combinado | TN, β -hCG y PAPP-A a las 10-13 sem. completas | 4,3 | 35 |
| Cuádruple Test | AFP, Estradiol no conjugado, β -hCG o hCG e Inhibina A a las 14-20 sem.completas | 6,2 | 45 |
| Triple Test | AFP, Estradiol no conjugado, B-hCG o hCG a las 14-20 sem. completas | 9,3 | |
| Doble Test | AFP, β -hCG a las 14-20 sem. completas | 15,1 | |
| Medida TN | TN a las 12 sem. | 15,2 | |

Resultados de SURUSS [7] revisados para el hallazgo de que los valores de las medianas de los MoMs de TN en fetos afectados con S. de Down, aumentan linealmente desde la 10 a la 14 sem. Cálculos para una tasa de detección fija del 85%.

Los autores del estudio concluyen que, globalmente en términos de eficacia y seguridad la Estrategia que presenta mejores resultados es la “prueba integrada”. La introducción de otros marcadores, no aumenta el rendimiento de ninguna de las estrategias.

Como refiere la Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO) en su “*Propuesta de screening combinado de cromosopatías en el primer trimestre de la gestación para todo el territorio nacional (año 2005)*”, en España no ha habido una política uniforme y global para el cribado y diagnóstico de las anomalías cromosómicas para todo el territorio, y existe una gran diversidad respecto a lo que se aplica en las distintas Comunidades y, dentro de éstas, en las distintas Áreas Sanitarias.

Las prácticas más extendidas como indicación, para ofrecer la utilización de técnicas invasivas para el diagnóstico prenatal de anomalías cromosómicas son:

- Utilizar la edad materna “avanzada” (35-38 años), con o sin marcadores ecográficos o bioquímicos. Entre las semanas de gestación 10semanas+0días y 13semanas+6días.
- Utilizar marcadores bioquímicos del segundo trimestre y edad materna en un cálculo combinado del riesgo.
- Utilizar sólo marcadores ecográficos.
- Utilizar el método combinado del primer trimestre (Translucencia Nucal (TN) + marcadores bioquímicos del primer trimestre, PAPP-A y fracción libre de β - hCG).

En Andalucía la evolución del cribado de cromosopatías no ha sido distinta, existiendo grandes diferencias de accesibilidad a este recurso entre las mujeres embarazadas de nuestra Comunidad Autónoma.

Citamos en las páginas siguientes, lo contenido en el Documento Técnico PACAC 2009 de la Junta de Andalucía.

La situación de falta de equidad entre Áreas Sanitarias indicó, que se debía acercar en Andalucía a una propuesta común de cribado de cromosopatías para toda el Sistema Sanitario Público de Andalucía. Esta propuesta debería reunir las características siguientes:

- Todas las gestantes tienen acceso a un Programa de Cribado homogéneo y de calidad, que permita seleccionar a aquellas que, por presentar alto riesgo de alteraciones cromosómicas, son candidatas a pruebas diagnósticas invasivas (Tabla 2). El “**Cribado combinado del primer trimestre**” (test combinado), es el que en estos momentos cumple mejor dichas condiciones.
- El “test integrado ecográfico-bioquímico en el 2º trimestre”, pese a sus prometedores resultados en cuanto a Sensibilidad y Especificidad, tiene desventajas: mayor coste, dificultades organizativas (inherentes a la obligada visita de la paciente en dos momentos diferentes para que sea posible realizar el programa) y otras de carácter ético, dado que en ocasiones debería aplazarse la información sobre hallazgos significativos, ecográficos o de laboratorio en el primer trimestre, a la espera de completar el cribado en el segundo trimestre.

Tabla 2. Resultados de diferentes Estrategias de cribado en uso, de acuerdo con datos poblacionales de 2002 en Andalucía (sobre 157 casos esperados de Síndrome de Down)*

| Tipo de cribado | FP(%) | Número de T. Invasivas | Tasa de Detección | Nº de casos detectados | Nº de T. Invasivas por caso detectado | Nº de abortos secundarios (por caso detectado) | Nº de R.N. con S. Down |
|------------------------|-------|------------------------|-------------------|------------------------|---------------------------------------|--|------------------------|
| Edad Materna ≥ 38 años | 6,41 | 5.254 | 31,26% | 49 | 107 | 52 (0,49) | 108 |
| Edad Materna ≥ 35 años | 18,78 | 15.376 | 52,36% | 82 | 187 | 154 (1,87) | 75 |
| Doble Test | 5 | 4.094 | 54% | 85 | 48 | 41 (0,85) | 72 |
| Test combinado | 6,1 | 4.994 | 85% | 133 | 38 | 50 (0,37) | 24 |

* Ramos-Corpas D et al. Cribado del síndrome de Down en Andalucía: se precisa una estrategia más eficaz. Prog. Obstet. Ginecol 2004;47:446-51. [9]

FP: Falsos Positivos

Por todo ello, hoy es recomendado un método de cribado de cromosopatías para toda Andalucía y que no es otro que el “Cribado Combinado del Primer Trimestre”, por las razones siguientes:

1. *Sensibilidad* adecuada (70-90%) según diferentes grupos de estudio ajustado a una TFP del 5%. En estudios prospectivos de intervención, los índices de detección son de entre 80-92%, para TFP entre 3,4 y 5,2%.
2. Menor coste que el cribado integrado, para una efectividad similar.
3. La determinación precoz del nivel de riesgo, permite anticipar las actitudes Diagnósticas y propuestas terapéuticas, lo que beneficiarán a la madre y/o al feto.
4. La reducción del tiempo de espera en obtener información diagnóstica, conlleva menor repercusión psicológica y morbilidad materna, en caso de la toma de decisión para realización de la interrupción voluntaria del embarazo (IVE).

Para la correcta implementación de un programa como el propuesto, son necesarias las condiciones siguientes:

- Equidad en acceso para todas las embarazadas.
- Integración dentro del Proceso Asistencial “Embarazo, Parto y Puerperio”.
- Desarrollo y aplicación de un programa informático común para el SSPA, para la integración de los datos del cribado combinado y otras variables necesarias.

- Asegurar una tasa de diagnóstico y de falsos positivos, ajustada a criterios de calidad.
- Garantizar una oferta de procedimientos invasivos, segura y adecuada al objetivo perseguido.

Para garantizar estos dos últimos puntos es trascendental definir el “punto de corte” de la prueba como positiva. Se trata de establecer un compromiso entre un nivel de riesgo aceptable y la efectividad, en función del balance entre “*índice de detección*” y de “*falsos positivos*”.

Convencionalmente se ha establecido como “punto de corte en el cribado del síndrome de Down”, 1/250 - 1/300, que es, el riesgo que presenta una gestante de 35 años de tener un recién nacido afecto de SD.

Actualmente hay políticas de cribado con puntos de corte de 1/270, como la realizada en el Hospital Universitario Virgen de Valme de Sevilla ó en nuestro Hospital (es el valor asumido como punto de corte en esta Tesis), que reducen significativamente el número de técnicas invasivas, a un 2%, y que presentan una tasa de diagnóstico adecuada del 70%. También existen propuestas de cribado, que realizan en una primera fase un cribado combinado del primer trimestre con un punto de corte de 1/100, y posteriormente una segunda valoración, bien ecográfica o bioquímica, en un grupo de riesgo cercano al punto de corte, y que consiguen mantener, tasas de diagnóstico por encima del 80-90% con TFP del 2-3%.

Por todo ello, parece que actualmente puntos de corte mayor o iguales a 1/270 no aportan ventajas, y elegir un punto de corte con una adecuada tasa de diagnóstico y con una baja TFP, mejora la implementación de un cribado prenatal de cromosopatías.

Las pruebas de detección de malformaciones congénitas del primer trimestre son una combinación de exámenes que se realizan entre la semana 11 y 13 del embarazo. Se utilizan para identificar ciertos defectos de nacimiento en el corazón del feto en gestación, alteraciones cromosómicas, y el estado inmunitario de la gestante.

El principal Objetivo del “Screening Prenatal del Primer Trimestre”, es detectar precozmente el síndrome de Down (SD), que es el trastorno cromosómico más frecuente.

En los últimos años, los resultados aportados por relevantes estudios prospectivos, han impulsado la aplicación, de forma generalizada, de pruebas de cribado prenatal basadas en “*marcadores ecográficos*” (TN), y en la determinación en suero materno de “*marcadores bioquímicos*” (β -hCG-Libre y PAPP-A). Estas pruebas

permiten “*determinar el riesgo de presentar una malformación congénita durante el embarazo*”, sin incrementar el riesgo de pérdida fetal.

1.3. CRIBADO COMBINADO DEL 1º TRIMESTRE.

Hemos aprovechado el desarrollo e implementación de un cribado de Cromosopatías en el Sistema Sanitario de Andalucía, en el primer trimestre de embarazo, para poder estudiar en nuestra Área Sanitaria, Jerez Costa Noroeste (Cádiz), el riesgo de cromosopatías, al tiempo que la condición serológica infecciosa concretada de principal interés en nuestro medio (Rubéola, Toxoplasmosis, VHB, Sífilis, VIH y VHC)

En nuestro estudio hemos tenido presente una serie de premisas:

- a) Todas las gestantes de nuestra Área Sanitaria han tenido acceso al Programa, como Cartera de Servicios del Servicio Andaluz de Salud.
- b) Todas las gestantes tienen asesoramiento precibado adecuado, a través de personal entrenado y documentos de acogida que le explican el procedimiento y sus resultados. Un elemento esencial de un Programa de cribado como el llevado a cabo, es una información clara a la gestante y su familia, apoyada en unos documentos de Consentimiento Informado adecuados para cada situación clínica.
- c) Provisión de procedimientos invasivos adecuados a sus objetivos, con suficiente volumen y para garantizar su seguridad.
- d) Disponibilidad de Unidades Asistenciales Hospitalarias, que lleven a cabo el consejo genético y el estudio de anomalías cromosómicas.
- e) Calidad de todos los componentes del cribado, tanto analíticos como ecográficos. Es aquí donde se debe incidir, no solo en un adecuado control de los “*parámetros bioquímicos*”, práctica habitual en el Laboratorio Clínico del Hospital, sino también en un adecuado control de los “*marcadores ecográficos*”, siendo aquí fundamental un adecuado adiestramiento del Obstetra/ecografista para una correcta medición de la TN, parámetro con gran peso en el “*cálculo del índice de riesgo*”.

Es así que una parte crítica para la implementación adecuada de un “*Programa de cribado prenatal de anomalías fetales en población de bajo riesgo*”, está relacionada con la formación continuada de los profesionales, la calidad del equipamiento disponible, la retroalimentación derivada de una relación estructurada y flexible con los Centros de Referencia, la exploración en edades gestacionales diferentes, y la información sobre los resultados finales del embarazo.

El “*cribado combinado de 1º trimestre*” es una buena técnica para la “*determinación del riesgo*” de tener un feto en el embarazo en estudio, con alguna anomalía cromosómica de trisomía 21. El cribado bioquímico tradicional, consiste en la determinación en sangre materna de los marcadores séricos β -hCG-libre (fracción libre de la gonadotropina coriónica humana, producida por la placenta) y PAPP-A (Proteína A asociada al embarazo), teniendo en cuenta, la edad de la paciente, gestación única o gemelar, y valor de la TN.

Hay que destacar que estos marcadores pueden estar influenciados, por enfermedades maternas como la diabetes u otras enfermedades que afectan al sistema inmunitario (como ejemplo no habitual). Se ha constatado que las mujeres infectadas por el VIH tienen una tasa de cribados positivos superior a la población general, que podría estar relacionada con la carga viral, la propia inmunodeficiencia o por los fármacos que se administran. Parece ser que las gestantes con poblaciones de linfocitos CD4 más bajas, tienen una tasa de falsos positivos mayor, y al parecer la cifra de β hCG-libre, está relacionada de forma inversamente proporcional con las cifras de CD4. De todo esto podemos deducir, que no parece que un “Cribado Combinado de 1º trimestre” (por su componente bioquímico) sea la mejor indicación en las gestantes infectadas por VIH, y por ello habrá que ofrecer a las gestantes VIH (+), el “*test combinado bioquímico/ecográfico en el 1º y en el 2º trimestre*”.

La valoración del riesgo de cromosopatía en el primer trimestre, se obtiene combinando tres marcadores: PAPP-A, β -hCG libre, ambas presentes en la sangre de la madre, detectables en el laboratorio de análisis clínicos del Hospital y la TN medida por ecografía en consulta de Obstetricia. [8]

Debemos aclarar antes algo muy importante. El “Cribado Combinado de 1º trimestre”, llevado a cabo en esta Tesis, no representa un diagnóstico, sino que es una prueba estadística basada en marcadores bioquímicos presentes en la sangre materna y en marcadores ecográficos, con los que se establece un “Índice de Riesgo” en el laboratorio por el especialista, que emite un resultado validado.

No es una prueba concluyente, sólo da orientación, con una fiabilidad de entre el 65 y el 90 % y puede arrojar tanto falsos positivos (que el resultado indique una alteración cuando no la hay), como falsos negativos (que haya una alteración y no sea detectada por la prueba).

Valores anormales del Cribado Combinado de 1º trimestre:

- Valores “bajos de PAPP-A” y valores “altos de β - hCG libre”. pueden indicar una alteración cromosómica.

- Los valores “patológicos de la TN = translucencia nucal (no pliegue nucal), suelen oscilar entre 1,8 – 2 MoM (múltiplos de la mediana) o una medida superior a 3 mm (independientemente de los MoM).

En esta Tesis, hemos seguido las Recomendaciones del Proceso Asistencial Integrado (PAI) Embarazo, parto y puerperio 2ª edición, editado por la Consejería de Salud en el año 2005.

Con posterioridad se ha editado la 3ª edición en el año 2014 por la Consejería de Igualdad, Salud y Políticas Sociales de la Junta de Andalucía.

Según el Proceso Asistencial Integrado (PAI) del Embarazo, Parto y Puerperio del año 2005:

1. Se debe realizar la primera visita antes de la 12 semana de gestación (según PAI Embarazo, Parto y Puerperio del año 2014, antes de la semana 8 preferentemente). Esta 1ª visita es realizada por la Matrona o Médico de Atención Primaria en la cual se debe informar sobre el diagnóstico prenatal y se solicitan los marcadores bioquímicos (PAPP-A y β -HCG libre) para el “Cribado Combinado de 1º trimestre” al Servicio de Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital.
2. En la 2ª visita, realizada en la consulta de Atención Especializada o Atención Primaria en la semana 12, se realiza la analítica de los marcadores bioquímicos (preferentemente se recomienda entre la semana 8-10), y se realiza la exploración ecográfica donde se mide la translucencia nucal.

En nuestro Hospital realizamos en esta 2ª visita (sem 12 aproximadamente), la analítica y la exploración ecográfica, en un mismo día, es decir, en un solo paso, son excepción las embarazadas de la Sierra, en las cuales se realizan la ecografía, y al día siguiente la analítica de marcadores bioquímicos por motivos organizativos del Centro de Salud.

El PAI aconsejaba en 2005 “sustituir el cribado combinado del segundo trimestre por el **combinado en el primer trimestre** en aquellos centros que ya lo realicen y, si no se realiza ninguno, instaurar el cribado combinado de aneuploidias en el primer trimestre”. También “se aconseja abandonar las indicaciones de Amniocentesis basadas únicamente en la edad materna avanzada (igual o mayor de 35 años)”.

Iniciada esta Tesis en el año 2008 se siguieron las recomendaciones del PAI 2005 iniciando el “cribado combinado de 1º trimestre”.

En este documento PAI se indica que entre las “competencias” que debe tener el médico que realiza el seguimiento del embarazo se encuentra: un “Nivel básico en diagnóstico prenatal” (COD C-0255) entre las habilidades, “Capacidad de realización de ecografía obstétrica” (COD H-0307), y entre las actitudes “Orientación a resultados” (COD A-0040). En nuestra opinión, estos tres aspectos

se concretan en que el Obstetra que participa en el “Cribado Combinado de 1º trimestre” debe tener formación en cribado de cromosopatías, saber realizar correctamente la ecografía de la semana 12, y según resultado del Cribado, orientar a la embarazada a la realización de una prueba diagnóstica invasiva ó no.

3. En la 3º visita, entre la semana 16-18, este documento PAI indica que se deben evaluar y registrar los marcadores bioquímicos.

En nuestro Hospital, cuando el riesgo de un Cribado Combinado de Cromosopatías es *Alto*, se le cita inmediatamente por teléfono en consulta de Obstetricia-Alto Riesgo, mientras que si el riesgo es *Bajo*, se le manda el resultado del Cribado por correo a su domicilio, y se comenta con ella en la 3ª visita (semana 16-18) por el Obstetra

Igualmente en este documento, se indica que las consultas de seguimiento del embarazo, tanto las de Obstetricia como las realizadas por profesionales de Atención Primaria, se realizarán en los Centros de Salud; en nuestra Área Sanitaria, la 2ª visita se realiza en el Hospital de Jerez, excepto las embarazadas de la Sierra, que la realizan en su Centro de Salud correspondiente, además de aplicar el PAI-2005 de Andalucía.

Así mismo, en nuestro estudio, seguimos las recomendaciones del Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC) año 2009, el cual nos sirve de guía en nuestra Tesis y desarrollamos su Plan de Trabajo en el apartado 3.1.2 de esta Tesis. Literalmente lo transcribimos.

Deseamos resaltar que en este trabajo de Tesis ha habido concordancia con lo que con posterioridad ha publicado el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad en el año 2014 en su “*Guía de práctica clínica de atención en el embarazo, parto y puerperio*”. Según esta, la Estrategia de Cribado de Cromosopatías debe intentar seleccionar a las mujeres con un “alto riesgo”, que justifique la realización de procedimientos diagnósticos invasivos, para realizar un estudio de cariotipo fetal. Considera la Guía que el cribado debe combinar los datos “*clínicos*” y “*bioquímicos*” de la gestante con “*técnicas ecográficas*” (como la traslucencia nuchal), para conseguir los mejores resultados, y dependiendo del resultado de esta prueba de cribado, se deberá ofrecer una prueba invasiva según el Riesgo Estimado.

Para esta Guía del Ministerio, el Cribado Combinado de Cromosopatías en el 1ª Trimestre, como evidencia tiene un Calidad Moderada y pese a ello, concluye esta Guía de Práctica Clínica que: “*El Cribado Combinado del Primer Trimestre es una prueba eficaz en la detección del síndrome de Down, mostrando mejores resultados que el cribado del segundo trimestre (Wapner, 2003; Wald, 2003; Malone, 2005; Nicolaidis, 2005). La combinación de la edad materna, la medición de la traslucencia nuchal y la determinación de la PAPP-A y fracción libre de β -hCG entre las semanas 11+0 y la*

13+6, contribuye a una tasa de detección del 87 %, con una tasa de falsos positivos del 5 % (Fabre, 2011).”

Además, finalmente, el grupo elaborador de esta Guía, determinó formular Recomendaciones a favor de la intervención del test combinado. Se concluye como Recomendación Fuerte:

| | |
|---------------|--|
| FUERTE | “Se recomienda ofrecer un test combinado (edad materna, medición de la translucencia nucal, PAPP-A y fracción libre de β -hCG) entre las semanas 11 y 13+6 para determinar el riesgo de síndrome de Down.” |
|---------------|--|

1.4. SÍNDROME DE DOWN. (CIE-9^a MC.758.0);(CIE-10^a MC.Q-90)

El síndrome de Down (SD) es un problema de salud importante, ya que representa el trastorno cromosómico más frecuente, el síndrome malformativo más común, y la primera causa de retraso mental en nuestra sociedad hoy día. Se asocia a una combinación de malformaciones que afectan a diferentes órganos y aparatos, siendo la patología más frecuente la cardiopatía congénita que se presenta en el 40-50% de los afectados y aumenta claramente el riesgo de mortalidad precoz. Aparece con igual frecuencia en todas las razas humanas.

Debemos significar que el médico inglés que da nombre a esta enfermedad, fue el Doctor John Langdon DOWN, quien en **1866** definió e individualizó este síndrome. Nació en 1828 y murió en 1896.

Así también significamos que en **1959**, los 3 doctores J.LEJEUNE, M.CAUTIER y R.TURPIN demostraron que esta afectación se debía a una aberración cromosómica, que definen como la trisomía 21.

Así mismo, expresamos que los progresos científicos y técnicos en **1952** de los 2 autores HSU, y LEVAN, llevaron a la observación precisa de los cromosomas humanos previamente; y en **1956** de los otros 2 autores TJIO, y LEVAN, descubren que el número exacto de cromosomas en los seres humanos sanos era de 46.

Podemos distinguir:

1. **Trisomía del cromosoma 21.** En todas las células (presencia de material extra) que es observado en el 90% de los pacientes. Los 3 cromosomas 21 aparecen libres. La célula cuenta con 47 cromosomas en lugar de 46. Es producida por la “no-disyunción durante la meiosis”.
2. **Translocación 21.** Aparece en el 5% de los casos y en ellos el material del cromosoma 21 está translocado en otro cromosoma, habitualmente, en el 13 o 15 la mitad son nuevas y en la mitad hay un padre portador. Uno de los cromosomas 21 aparece incorporado a un cromosoma acrocentrico del grupo D ò G.
3. **Mosaico 21.** Aparece en el otro 5% de los pacientes y se encuentran 2 o más poblaciones de células habitualmente normales y trisomía del 21. En estos pacientes la clínica es más leve.

No existen diferencias fenotípicas entre los 3 diferentes tipos de síndrome de Down. Afecta más a los varones con una relación entre sexos de 4/3.

La trisomía puede ser heredada o “*de novo*”. El riesgo de tener un hijo con este síndrome aumenta a partir de los 35 años y a medida que avanza la edad de la gestante, de forma que entre los 20 y 24 años el riesgo es de 1/1500 embarazos, mientras que a los 48 años, el riesgo es de 1/20 embarazos.

Respecto a datos de interés clínico reflejamos lo siguiente.

Se encuentran comprometidos los sistemas nervioso, cardiovascular y cutáneo/exocrino. En más del 90% de los casos proviene el cromosoma extra de la madre.

Se cita incidencia de cada 800 nacimientos, aumentando con la edad materna e identificándose casi siempre la enfermedad al nacimiento.

Los así nacidos presentan menor expectativa de vida que la población normal. Se ha estimado en razón a la edad materna del parto que la incidencia sería:

- Con 20 años de la madre = 1/2000
- Con 35 años de la madre = 1/250
- Con 37 años de la madre = 1/100
- Con 45 años de la madre = 1/20

Las manifestaciones de signos y síntomas pueden resumirse según la edad del paciente y según el Profesor de Pediatría Nelson serían:

Lactantes y niños.-

Braquicefalia (100%), hipotonía (80%), tercera fontanela posterior, occipucio aplanado, orejas pequeñas con baja implantación, rasgo mongoloide en los ojos (90%), epicanto (90%), moteado el iris (Síndrome de Brushfield) (50%), esotropía (50%), puente nasal deprimido, macroglosia, lengua escrotal (75%), mejillas pequeña, cuello corto, soplo cardíaco 50%, dermatoglifos anormales, pliegue palmar único con palmar distal y alteración plantar retraso del crecimiento, que puede pasar desapercibido el primer año de vida, piel marmórea, acroniquia con crinodactilia (manos cortas y gruesas), estatura baja y laxitud ligamentosa.

En la edad adulta.

Permanece la braquicefalia y el coeficiente intelectual es bajo (CI= 40-45) con actitud agradable y cooperante requieren un medio protegido y controlado pues hay oligofrenia, hipotonía muscular y luxación atlanto-axial.

Diagnostico Diferencial.

Debe hacerse respecto a anomalías familiares menores con rasgos mongoloides, epicanto y depresión del puente nasal, en especial en niños con hipotonía. La presencia del pliegue espiral plantar generalmente indica que el niño es normal.

Es característica en Anatomía Patológica la observación de placas de Alzheimer en el cerebro de los pacientes (100 %) después de los 20 años.

Posibles complicaciones

Se han descrito obstrucciones intestinales (fístula, anomalías en el 10 %) u otras malformaciones, entre ellos Enfermedad de Hirschsprung (3%)

- Enfermedad tiroidea (hipo e híper, 5-8 %)
- Leucemia (0.5 %)
- Cardiopatía congénita (50 %)
- Enfermedad de Alzheimer

Respecto a la evolución

El crecimiento se hace más lento después del primer año y el lenguaje y la cognición evidencian un retraso moderado.

La longevidad puede depender de una cardiopatía congénita o de las complicaciones intestinales. El hipotiroidismo suele iniciarse al 6º mes de vida con significativo retraso del crecimiento. El envejecimiento es prematuro con expectativa de vida entre 50-60 años o menor si hay cardiopatía de base.

La Medicina ha conseguido en su especialidad Genética practicar el diagnóstico en las primeras semanas-meses del embarazo observando los cromosomas de las células de descamación del feto, contenidas en el Líquido Amniótico de la mujer embarazada afectada, o en sus propias vellosidades coriales (biopsia coriónica), y hoy más recientemente, se puede diagnosticar en sangre de la gestante afectada (CPNI: Cribado Prenatal No Invasivo).

En muchos Países, la presencia de la trisomía 21 en el embarazo, autoriza legalmente el aborto terapéutico.

En España, hemos de referirnos a la vigente **“Ley Orgánica 2/2010, de 3 de Marzo, de Salud Sexual y Reproductiva y de la Interrupción Voluntaria del Embarazo”**. Esta Legislación española, la acompañamos como anexo (**Anexo I**). (BOE 04-03-2010). El 22 de Septiembre de 2015 se publica la Ley Orgánica 11/2015, de 21 de Septiembre (BOE 22-09-2015), para reforzar la protección de las menores y mujeres con capacidad modificada judicialmente en la interrupción voluntaria del embarazo (**Anexo II**).

La Prevención Primaria, en el caso del Síndrome de Down se basa por un lado, en la información a las parejas sobre el riesgo de malformaciones congénitas asociadas

a la “edad avanzada” o a los “antecedentes de los progenitores”, y por otro, en el apoyo institucional para que se alcancen las condiciones sociales y económicas necesarias para que la edad gestacional materna disminuya.

En cuanto a la Prevención Secundaria del síndrome de Down, la realización del diagnóstico prenatal es importante para ofrecer información y alternativas a los padres cuando se detecta un Alto Índice de Riesgo congénito que puede comprometer gravemente la supervivencia o la calidad de la vida de su descendencia.

Hitos en el cribado del síndrome de Down:

- Año 1966.- Se consigue el primer análisis cromosómico en células del líquido amniótico.
- En la década de los 70, se ofrece el diagnóstico mediante amniocentesis a mujeres de edad avanzada, para identificar fetos con anomalías cromosómicas. Se solía utilizar la edad limitada entre 35 y 37 años. Sin embargo, el cribado realizado con este método solo identificó el 30% de los embarazos con síndrome de Down, porque la mayoría de las embarazadas estaban excluidas del cribado debido a la edad.
- Año 1984.- Merkatz y sus colaboradores observaron una asociación entre embarazo con síndrome de Down y niveles Bajos en el suero materno de Alfa-fetoproteínas. Desde entonces se han identificado distintas proteínas séricas, como posibles marcadores para indicar embarazos con síndrome de Down.
- Año 1988.- Introducción de una estrategia de cribado completamente nueva. Tres marcadores bioquímicos (Alfa-fetoproteína, Gonadotropina coriónica humana y Estriol conjugado) junto con la edad materna, que fueron utilizados como pruebas de cribado para el síndrome de Down.
- Año 1990.- Se evalúan unos cuantos marcadores más. Además, los datos ecográficos demostraron ser de gran ayuda.
- A partir del año 2000, el abordaje de la “*valoración del riesgo con múltiples marcadores*” se está utilizando ampliamente en la atención prenatal de rutina.

Consideramos de interés especificar lo hoy fijado, como “Cálculo de riesgo de la Trisomía 21 (Síndrome de Down) en el Cribado Combinado del 1º trimestre”.

Para calcular el riesgo de trisomía 21 se combina el Índice de Riesgo según la “*edad materna*” (Tabla 3), con el índice de “*riesgo bioquímico*”, lo cual arroja como resultado un “índice de riesgo combinado” que es el que se tiene en cuenta. Por debajo

del fijado como punto final de corte (1/270) se considera “*Alto Riesgo*” y por encima se considera “*Bajo Riesgo*”.

Tabla 3. La Incidencia del Síndrome de Down, relación con la edad de la Madre (*directamente proporcional*)

| Edad de la madre (Años) | Valor Incidencia del Síndrome de Down |
|-------------------------|---------------------------------------|
| < 30 años | < de 1 sobre 1.000 emb. |
| 30 | 1 de 900 |
| 35 | 1 de 400 |
| 36 | 1 de 300 |
| 37 | 1 de 250 |
| 38 | 1 de 180 |
| 39 | 1 de 135 |
| 40 | 1 de 105 |
| 42 | 1 de 60 |
| 44 | 1 de 35 |
| 46 | 1 de 20 |
| 48 | 1 de 16 |
| 49 | 1 de 12 |

A mayor edad de la gestante, mayor riesgo de presentación de S.D.

(Fuentes: Down syndrome in live births by single year maternal age interval in a swedish study: Comparison with results from a New York State study. Hook, E.B et Lindsjö, A. .Am J Hum Genet 1978; 30:19-27)

Los investigadores han establecido que la probabilidad de que una célula reproductiva contenga una copia extra del cromosoma 21(trisomía del 21), aumenta drásticamente con la edad de las mujeres gestantes. Por lo tanto, una mujer de mayor edad tiene mayor riesgo que una mujer de menor edad a tener un hijo con síndrome de Down. Las gestantes añosas aportan sólo el 9% de los nacimientos vivos cada año, pero probablemente el 25% de los nacimientos con síndrome de Down.

En España se ha reducido la tasa de defectos congénitos de un 2,2 % en la década de 1980 a un 1,1%, en 2014. Este descenso se debe a los Programas de diagnóstico prenatal; en concreto a la instauración del Cribado Prenatal de Malformaciones (Eco de 20 semanas) y al Cribado de Cromosomopatías (ECEMC: Estudio Colaborativo Español de Malformaciones Congénitas).

Las Anomalías Congénitas cumplen todos los requisitos, para ser patologías “*susceptibles de identificación precoz mediante cribado*”:

- Causan morbilidad y/o mortalidad significativa.
- Son relativamente frecuentes en la población.

- El método de cribado actual es válido, aceptable para la población y de fácil acceso.
- La aplicación es simple, con coste proporcional al beneficio a obtener.
- El método de cribado es aceptable en términos de Sensibilidad y Especificidad.
- Existen posibilidades diagnósticas y de actuación, una vez que el cribado identifica resultados positivos (Índice de Alto Riesgo).

Son dos los métodos de cribado que han demostrado ser útiles en la identificación de anomalías congénitas: el Cribado de Cromosopatías y el Cribado de Anomalías Congénitas estructurales.[9]

En nuestra Tesis valoramos durante cinco años, en nuestra población de gestantes asistidas en el Área Geográfica de influencia del Hospital de Jerez (Cádiz), la aportación analítica desde el Laboratorio tanto del Cribado de Cromosopatías como del Estudio Serológico Infeccioso de la población gestante seguida por la Unidad de Obstetricia de nuestro Hospital y Distrito Sanitario.

1.5. INFECCIÓN CONGÉNITA Y/O PERINATAL.

En la segunda parte de nuestra Tesis incorporamos el estudio de la serología infecciosa de mayor interés en las gestantes de nuestro medio respecto causantes de infecciones con referencias congénitas y/o perinatales.

La Prevención de la Infección Congénita y Perinatal, es sin duda un problema de Salud Pública reconocido en todo el mundo, lo que ha dado lugar a la implantación de programas de control por parte de las Autoridades Sanitarias. En España desde hace años, y dado que el conocimiento de la prevalencia en gestantes de infecciones que pueden ser transmitidas verticalmente (madre-feto) han cobrado gran importancia, desde el punto de vista de Salud Materno Infantil y por ello son motivo de gran interés.

Esto ha impulsado el desarrollo de Programas de prevención y control de dichas infecciones, en los que juega un papel primordial, el “*control serológico rutinario de la presencia o no de ciertos anticuerpos o antígenos específicos, durante el embarazo*”.

En España esta actividad comienza a realizarse a principios de 1980, aunque comienza a generalizarse sobre el año 1985. Actualmente se realizan de forma rutinaria las determinaciones de anticuerpos frente a *Toxoplasma gondii*, *Rubéola*, *Treponema pallidum*, *VHC* y *VIH* y de antígeno frente a *Virus de la Hepatitis B*, (*VHB*) a todas las embarazadas que acuden por primera vez a la consulta de Obstetricia. Hay otras determinaciones que se siguen realizando en algunos centros hospitalarios y que nosotros no hemos incluidos en el estudio, como *Virus Herpes 1 y 2*, *Citomegalovirus*, *Erytrovirus B19* y *Virus varicela-zoster*, porque hay controversia en su uso debido a la valoración de su utilidad práctica respecto a coste-beneficio en gestantes con carácter universal.

Entre las acciones a tomar, se encuentran sin lugar a duda los estudios serológicos en la mujer embarazada, que nos permitirán, según los resultados, tomar acciones preventivas y/o terapéuticas, y que sin lugar a duda, demuestran su utilidad en la actualidad y en nuestro medio.

Hemos estudiado las muestras serológicas orientadas respecto a las posibles infecciones de transmisión vertical en las que los estudios serológicos poseen significación clínica y/o epidemiológica, para microorganismos transmisibles durante el embarazo y posibles de detectar eficientemente.

El origen de infección fetal parte de la viremia, bacteriemia o parasitemia que en la mujer embarazada puede estar presente, durante una primoinfección o una infección preexistente.

La transmisión puede ocurrir por vía transplacentaria o por contacto directo con el patógeno. Una vez que esta sucede, la frecuencia de la aparición de la infección es modulada, entre otros factores por la edad gestacional.

Los estudios serológicos son procedimientos de Laboratorios Clínicos que proporcionan una gran información, para adoptar posibles medidas preventivas o terapéuticas o de abordaje actualmente.

Para establecer la mejor Estrategia dirigida a su prevención, a derivar de estudios serológicos, debemos conocer:

- Los mecanismos patogénicos.
- El momento en que la transmisión vertical/perinatal supone un mayor riesgo para el feto o neonato.
- La posibilidad de evitarla, tratarla o abordarla.

La transmisión más habitual es la vía transplacentaria (Toxoplasmosis, Rubéola, Sífilis), aunque también se describe por contacto directo en el momento del parto o postnatal inmediato (Hepatitis B).

Las pruebas de detección son pruebas o procedimientos para determinar, si la madre o el feto tienen algún problema específico. Las pruebas de detección en ocasiones no proporcionan un diagnóstico específico, para ello sería necesario, hacer otras pruebas diagnósticas. Las pruebas de detección pueden, en pocas ocasiones, arrojar un resultado anormal, aun cuando la madre o el feto no tengan problema. Es menos frecuente que los resultados sean normales y que un problema existente, pase inadvertido, pero en todo caso los test serológicos actuales que empleamos en los laboratorios poseen una muy alta Sensibilidad y Especificidad diagnóstica.

Vamos en los apartados siguientes a concretar aquellos aspectos de mayor relevancia en las enfermedades infecciosas de interés en las gestantes, al tiempo que reflejamos, lo más notable respecto a sus repercusiones en el futuro hijo como consecuencia de la transmisión madre-hijo.

1.6. RUBÉOLA. (CIE-9ª = 056);(CIE-10ª =B06)

La rubéola es una enfermedad infecciosa de poca gravedad (generalmente afecta a los niños) causada por el virus de la rubéola; un virus de ARN perteneciente al género *Rubivirus* de la Familia *Togaviridae* [10]. Es un togavirus que contiene una cadena genómica de ARN [11]. Se transmite por vía respiratoria y se replica en la nasofaringe y los nódulos linfáticos. El virus aparece en la sangre a los 5 o 7 días después del contagio y se dispersa por el cuerpo.

Se caracteriza por una erupción en la piel, la inflamación de los ganglios y, especialmente, dolores en las articulaciones. Por lo general la erupción en la piel dura unos tres días y puede presentarse acompañada de una ligera fiebre. Hasta la mitad de las personas afectadas no presenta ningún síntoma.

La importancia de la Rubéola radica en la capacidad del virus para producir efectos teratógenos, en una mujer gestante que sufriese una “*primoinfección en tal estado*”.

La enfermedad, si no se está inmune específicamente, se contrae generalmente durante la infancia. La infección postnatal rara vez conlleva complicaciones. La Rubéola contraída en el primer trimestre del embarazo, sí se relaciona con un 90% de riesgos de malformaciones congénitas como ceguera, sordera, cardiopatías, retraso mental, así como con abortos espontáneos, muerte fetal o malformaciones congénitas y el síndrome de rubéola congénita (S.R.C.) en el recién nacido. Este último, objetivo de control y erradicación por la O.M.S. A pesar de no ser una enfermedad muy frecuente en muchos países industrializados, debido a los programas de vacunación, la Rubéola continúa apareciendo en muchos países en desarrollo. Dado que el diagnóstico solo clínico de la Rubéola no es fiable, son necesarias “*determinaciones serológicas*” para el diagnóstico exacto, sobre todo en relación con el embarazo [12]. Debe prestarse especial atención a la mujer inmigrante gestante procedente de Países con menor desarrollo económico, si es seronegativa y en edad fértil, se ha de vacunar en el postparto, pero siempre dejando pasar varios meses sin quedar embarazada, pues la vacuna es de virus vivo. Sólo al ser contraída por la madre durante el embarazo, si previamente no estuviese inmunizada específicamente frente a Rubéola, supone una grave amenaza para el feto; con abortos espontáneos en el 20% de los casos [13].

Además el virus es capaz de cruzar la placenta e infectar al feto, cuando se está desarrollando y detener la multiplicación celular de las células del feto, provocándole la muerte [14] ó lesionándolo de tal manera que quedan secuelas muy importantes.

Generalmente es una enfermedad benigna que cursa con fiebre y exantema macopapular difuso. Clínicamente puede ser indistinguible de los exantemas febriles

que aparecen en otros procesos por virus como, Sarampión, Erytrovirus B19, Herpes virus 6, Coxsackie, ECHO, Adenovirus o bacteriana como escarlatina.

Patogenia.

Se transmite entre personas a través de estornudos, tos o el contacto con superficies contaminadas (pañuelos, vasos, o manos). La posibilidad de que una persona no vacunada adquiera la enfermedad, si convive con alguien que la tiene, es del 90%.

Cuando el virus se introduce en el organismo, pasa a la sangre atacando a los glóbulos blancos, que a su vez transmiten la infección a las vías respiratorias, la piel y otros órganos. Una vez que se padece la enfermedad, el paciente adquiere inmunidad permanente, por lo que no vuelve a ser atacado por el virus.

El período de incubación de la enfermedad (tiempo que transcurre desde que entra en contacto con una persona enferma, hasta que comienzan a desarrollarse los síntomas) suele oscilar entre dos y tres semana [15], de 14 a 17 días, con límites de 14 a 21 días.

A su vez, una persona enferma, que es siempre sumamente contagiosa, puede transmitir la enfermedad a otras personas, aproximadamente una semana antes y por lo menos cuatro días después de la aparición del exantema. En caso de nacer lactante con síndrome de rubéola congénita, puede eliminar el virus durante meses después del nacimiento, a través de las secreciones faríngeas y la orina. El mayor riesgo patogénico está cifrado en la infección durante la gestación en la mujer, por las graves consecuencias a su producto de la concepción.

Cuadro clínico.

La rubéola se caracteriza por la aparición de pequeñas erupciones en la piel, de un color rosáceo que se inician en la cabeza y progresan hacia los pies, haciéndose más intensa en el tronco, que en algunos pacientes puede producir picor y suelen desaparecer en pocos días.

Las erupciones suelen mostrarse uno o dos días después del contagio. Junto a las manchas rojizas, los síntomas de la rubéola son bastante similares a los de un síndrome gripal, con malestar general, fiebre poco intensa, enrojecimiento de los ojos, conjuntivitis, dolor de garganta (faringitis) e inflamación dolorosa de ganglios alrededor de la nuca y en la región posterior de las orejas.

En los niños, la rubéola suele revestir escasa gravedad, acompañándose algunas veces de otitis (infecciones de oídos). Es más frecuente la complicación de la enfermedad entre los adultos que la padecen, que pueden sufrir otras patologías asociadas más graves provocadas por bacterias, como neumonía; o provocadas por el

propio virus, como es la encefalitis (en uno de cada 1000 casos). Esta última consiste en una infección que afecta al cerebro y conlleva un riesgo inmediato de coma, retraso mental a largo plazo, epilepsia e incluso muerte del paciente.

Los síntomas incluyen:

- Adenopatías (ganglios inflamados).
- Fiebre (que rara vez excede los 38 °C.)
- Irritación (usualmente en el área de la cara, aunque también se extiende al tronco y extremidades). Tiene la apariencia de manchas rosadas debajo de la piel. Las manchas se manifiestan en el primer o tercer día de la enfermedad, pero desaparece al cabo de unos días, sin dejar daños permanentes).
- La señal de Forchheimer ocurre en el 20% de los casos, y se caracteriza por vesículas rojas pequeñas en el paladar.
- Piel reseca.
- Inflamación de los ojos.
- Congestión nasal.
- Dolor e inflamación en las articulaciones.
- Dolor en los testículos.
- Pérdida de apetito.
- Dolor de cabeza.

Los casos leves de R.N. que solo causan cardiopatía ligera o hipoacusia, pueden pasar inadvertidos hasta meses o años después del nacimiento. Incluso se cita diabetes tipo 1 como manifestación tardía.

Diagnóstico.

El diagnóstico solo clínico de la rubéola es difícil, ya que las erupciones en la piel suelen ser poco intensas y de escasa duración. Se puede conocer mediante un análisis de serológico, si la persona ya ha padecido la enfermedad o respondió bien a la vacuna y por tanto es inmune. Uno de los principales exámenes de laboratorio que se realizan son IgM e IgG específicas, que se maneja para el diagnóstico de confirmación indirecto.

Podemos deducir el gran valor que presenta el conocer que toda embarazada desde su primer embarazo, conozca su estado inmunitario frente a esta enfermedad.

Tratamiento.

No existe un tratamiento específico antiviral para la rubéola. La actuación durante la enfermedad suele centrarse en el control de los síntomas, y va dirigida a mitigar la fiebre y el malestar general, como si se tratara de un proceso gripal.

Normalmente, los síntomas son tratados con paracetamol hasta que la enfermedad termina por desaparecer.

Se recomienda reposo y el aislamiento del paciente para evitar nuevos contagios. Respecto a la gestante con infección aguda, debe ponerse especial atención ante cuadro con rubéola con dificultad respiratoria o si la tos dura más de cuatro o cinco días. Se administran antibióticos, de uso posible en gestantes, en caso de infecciones bacterianas asociadas (otitis o neumonía).

. Hay que especificar que, no hay tratamientos disponibles para la rubéola congénita que debe siempre valorarse en gestantes que se infectasen en su embarazo.

1.7 RUBÉOLA CONGENITA. (CIE-9ª=771.0);(CIE-10ª=P35.0)

La infección del virus de la rubéola durante el embarazo puede dar lugar al síndrome de la rubéola congénita, [16] enfermedad neonatal de gravedad variable, pudiendo producir aborto, muerte fetal o anomalías congénitas por afectación de varios órganos en desarrollo, dependiendo fundamentalmente de la edad gestacional en el momento de la gestación [17]. El riesgo mayor para el feto lo constituye la primo infección en el primer trimestre del embarazo, de aquí la importancia de la detección del estado inmunitario de la mujer en este periodo gestacional.

Los problemas más graves asociados a la rubéola suelen presentarse en mujeres embarazadas [16,17] que contraen la enfermedad en las 20 primeras semanas de embarazo o en los meses anteriores a la gestación. En estos casos existe un alto riesgo de que el embrión se contagie y desarrolle el "Síndrome de Rubéola Congénita"[12] que puede provocar la aparición de defectos congénitos en el niño, tales como pérdida de visión y ceguera, pérdida de audición, patologías cardíacas, discapacidad cognitiva y parálisis cerebral o dificultades a la hora de empezar a caminar[16].

Las primeras 8 semanas de gestación son las más susceptibles para el embrión, con mayor probabilidad de defectos congénitos, ya que es una época muy importante del desarrollo prenatal, con numerosos órganos y sistemas en plena formación, que pueden verse dañados por el virus.

Posterior a las 20 semanas de embarazo, al encontrarse el feto prácticamente desarrollado, los riesgos anteriores de malformaciones son casi nulos.

Los recién nacidos con este síndrome pueden presentar bajo peso al nacer, diarrea, neumonía y meningitis.

Es hoy nítida Recomendación institucional, el que las mujeres deben llegar a la edad fértil ya inmunes contra la Rubéola para evitar el "Síndrome de Rubéola Congénita" (S.R.C).

Deben todas someterse a un análisis antes del embarazo, y en todo caso en el primer trimestre de su gestación con el fin de detectar la presencia de anticuerpos contra la rubéola. La vacuna está contraindicada, durante la gestación en las seronegativas, por ser de virus vivo atenuado, así como en los tres meses anteriores a la concepción.

Las mujeres embarazadas seronegativas deben mantenerse alejadas de personas con rubéola especialmente niños no previamente vacunados, hecho raro hoy en España, salvo en ciertas poblaciones emigrantes.

Prevención.

La vacuna triple vírica[18], que protege frente a la rubéola, el sarampión y parotiditis, se muestra eficaz y segura en casi la totalidad de las personas a las que se les administra. La cantidad de casos ha disminuido desde que se desarrolló una vacuna en 1969. La disminución de la cantidad de personas que se aplican la vacuna MMR (Measles, Mumps, Rubella) (por ejemplo, en países como el Reino Unido), dan lugar a un posible aumento en la incidencia de la enfermedad. Es una vacuna de tres cepas de virus vivos atenuados combinada que se recomienda en la niñez a partir del 1º año de vida.

En España hoy 2015 es recomendable administrar la primera dosis (triple vírica) cuando el niño cumple “12 meses”, y una segunda dosis antes de la escolarización a los “3 años”. En cualquier caso, también se recomienda la vacunación en personas adultas que no recibieron la inmunización durante la infancia (pero en caso mujer asegurar siempre que no está en estado de gestación).

En la mayoría de los Países occidentales, casi la totalidad de la población (mujeres y hombres) está vacunada contra la rubéola. La vacuna provee de protección a lo largo de toda la vida, y entre sus efectos secundarios, se puede mencionar una artritis transitoria rara vez, que no debe justificar la no vacunación, la vacunación con los preparados actuales es segura de alto valor inmunógeno y facilitada gratuitamente por el Estado español en todas las Comunidades Autónomas.

En clínica los anticuerpos IgM específicos de la rubéola son detectables como muy pronto, a partir de los días 1 a 3 desde la manifestación de los síntomas y los títulos descienden rápidamente en 6 a 9 semanas, en la mayoría de los casos. La aparición de Ac IgM específicos de rubéola indica una infección reciente por este virus.

También la seroconversión de anticuerpos específicos de la Rubéola o un aumento significativo del título de IgG en muestras emparejada, contribuye eficazmente al diagnóstico de la infección reciente por rubéola.

El diagnóstico de la rubéola congénita adquirió importancia en 1941 cuando Gregg, un oftalmólogo Australiano, asocia la adquisición de la rubéola por el embrión durante el embarazo, con el desarrollo de cataratas y cardiopatías congénitas. En tales fechas aun no se había aislado el virus, pues este se aísla en 1962.

Desde entonces y gracias a nuevas técnicas de diagnóstico se reconoció la magnitud y el impacto de la infección de la rubéola en la mujer embarazada, aunque hoy sabemos que el riesgo de anomalías congénitas pasadas las 16 semanas de gestación es bajo.

En estudios de “medición de riesgos de infección fetal” en hijos de madres que padecieron rubéola confirmada por serología, se estableció que en el “*primer trimestre*” es alto, del 81% (90% antes de las “*11 semanas*” y 67% entre la 11 y la 12 semana de gestación respectivamente) Que disminuye al 39% en el “*segundo trimestre*”(67% a las 13 semanas y del 25% a las 26 semanas). Que en el “*tercer trimestre*” el riesgo se incrementa nuevamente al 53% (35%, 60% y 100% en los últimos tres meses, respectivamente). Sin embargo el “*riesgo de defectos congénitos secundarios a la infección*” es prácticamente nulo después de las diecisiete semanas de gestación y muy alto (cercano al 90%) en embarazos de menos de once semanas de gestación.

La gravedad de la infección fetal, depende de la edad gestacional en la que el feto es expuesto a la infección, y es mayor mientras más inicial es la infección respecto a semana de embarazo.

Es especialmente grave si se contrae durante los primeros cuatro meses de gestación. La infección en la mujer embarazada, llega por vía transplacentaria en el primer trimestre de la gestación. Si la mujer llega a la edad fértil sin una adecuada protección de anticuerpos y se ve afectada por la infección durante el embarazo, existe un elevado riesgo de daño del embrión o del feto.

La rubéola congénita provoca graves malformaciones en los recién nacidos, muchas de las cuales son permanentes e influyen negativamente en el desarrollo sucesivo, pudiendo aparecer cataratas, sordera, hepatoesplenomegalia, retardo psicomotor, alteraciones óseas, cardiopatías, microcefalia y lesiones del sistema nervioso central.

Las manifestaciones transitorias incluyen hepatomegalia, esplenomegalia, hepatitis aguda, ictericia, trombocitopenia, petequias o púrpura, anemia hemolítica, exantema, adenopatías, neumonía intersticial, miositis, miocarditis, diarrea, alteraciones óseas. Estas manifestaciones se asocian a retraso en el crecimiento intrauterino en el 50% de los casos. Son autolimitadas y se suelen resolver en un periodo de días o semanas.

Las consecuencias patológicas para el feto, dependen del poder teratógeno del virus y del momento del embarazo en el que se contraiga la enfermedad. De hecho, la edad de gestación en el momento de la infección materna es considerada la variable más importante para la transmisión intrauterina y para el daño del feto.

El virus de la rubéola se transmite al feto durante la infección primaria materna (si no está inmune), tanto aparente como inaparente, cuando el virus circulante infecta la placenta y el feto.

La transmisión intrauterina del virus asociada a anterior preinfección materna es sumamente rara.

La infección materna puede:

- No provocar infección del feto.
- Puede provocar reabsorción del embrión si la infección se verifica en las fases muy precoces de la gestación.
- Puede provocar aborto espontáneo.
- Muerte del recién nacido en el momento del parto.
- Infección de la placenta sin infección del feto.
- Infección de la placenta y del feto.

Los recién nacidos afectados pueden presentar lesiones microscópicas en varios órganos o, como se observa a menudo, ninguna lesión claramente evidente. Sin embargo, muchos de estos niños aparentemente sanos presentan a largo plazo sordera, lesiones del sistema nervioso central u otros defectos.

El virus de la rubéola contiene tres proteínas estructurales: dos glucoproteínas y una proteína de nucleocapside interna. Cada uno de estos polipéptidos es inmunológicamente activo, sin embargo ningún único sitio antigénico ha sido asociado con la infectividad del virus.

El diagnóstico de la rubéola se basa en la presencia de alguna de las manifestaciones clínicas descritas en el RN, especialmente cuando existen antecedentes maternos de infección por rubéola o contacto con pacientes con rubéola durante el embarazo.

La utilidad clínica del test, está más que demostrada en la embarazada:

- La determinación cuantitativa de Ac. IgG se utiliza como ayuda para determinar el estado inmunológico de la embarazada frente al virus de la rubéola.
- La detección de Ac IgG contra el virus de la rubéola es indicativa de una exposición previa a dicho virus,[12] sea por exposición anterior o por vacunación.
- Un aumento de los niveles de Ac IgG de una primera a una segunda muestra, puede indicar infección aguda de rubéola.

Partiendo del suero de las gestantes estudiamos la presencia de anticuerpos del tipo IgG frente a la rubéola, la determinación de anticuerpos IgG frente a rubéola nos

indica “Inmunidad permanente”, no siendo necesario determinaciones posteriores en ningún otro momento del embarazo, ni en sucesivos embarazos.

Las “*mujeres seronegativas*” tendrán que seguir una serie de recomendaciones y evitar en el primer trimestre de embarazo, convivencia estrecha con los niños con una enfermedad exantemática aguda.

Estas recomendaciones deben ser especialmente estrictas cuando la mujer gestante, por su profesión, tenga contacto diario con niños (personal docente, guarderías infantiles, personal sanitario etc.) La gestante seronegativa se le recomendará fuertemente la vacunación en el postparto inmediato y nunca durante su embarazo.

Si es seronegativa y se sospechara infección, se le realizaría una nueva toma a los 15 días y se haría la determinación en paralelo con el primer suero, para determinar si hubo seroconversión (incremento significativo del título de Ac.IgG de la segunda muestra respecto de la primera).

La infección aguda por el virus de la rubéola en un niño o en un adulto es en general una enfermedad benigna y autolimitada, pero las consecuencias en la mujer embarazada son variadas, impredecibles y graves. La infección del feto en el primer trimestre del embarazo, y mucho menos en el segundo, pueden producir defectos congénitos. La tríada típica de anomalías comprende, “cataratas”, “sordera neurosensorial”, cardiopatía congénita, retinitis, encefalitis y “microcefalia”.

Los defectos de la rubéola pueden, en ocasiones, no ser aparentes hasta semanas o meses después del nacimiento. Hay estudios que demuestran que se encontraron hallazgos anormales en el 71% de los que fueron seguidos, desarrollando enfermedad clínicamente aparente.

En nuestro Estudio tratamos de detectar el estado inmune específico de las embarazadas en el primer trimestre del embarazo detectando en el suero los anticuerpos del tipo IgG que son los que persisten de por vida y su presencia nos indica “estado inmune específico” de la embarazada.

Establecer el estado inmunitario de rubéola en el primer trimestre del embarazo y/o su diagnóstico, tiene gran importancia y puede influir en la decisión opcional de finalizar o continuar el embarazo.

Es de citar que en EEUU el último brote epidémico sucedió durante los años 1964 y 1965, en estos años nacieron más de 20.000 niños con defectos congénitos. En este brote epidémico se dieron al menos 10.000 abortos y numerosos partos de fetos sin vida.

1.8. TOXOPLASMOSIS. (CIE-9^a = 130);(CIE-10^a = B58)

La toxoplasmosis es una enfermedad infecciosa ocasionada por el protozoo *Toxoplasma gondii*, un parásito intracelular obligado.[19] La toxoplasmosis puede causar infecciones leves y asintomáticas, así como infecciones mortales que afectan mayormente al feto, ocasionando la llamada toxoplasmosis congénita. También puede revestir gravedad cuando afecta a recién nacidos, ancianos y personas vulnerables por su condición de déficit de inmunidad celular.

Se considera la enfermedad como una zoonosis, lo cual significa que, de modo habitual, se transmite desde los animales a los seres humanos a través de diferentes vías de contagio, siendo los hospedadores animales definitivos el gato y otras seis especies de felinos.

Las medidas de prevención son particularmente importantes en las mujeres embarazadas y consisten en normas generales de higiene para evitar la transmisión por: alimentos o agua contaminada, consumo de carne cruda o poco cocinada y por contacto con heces de gato.

Epidemiología.

La toxoplasmosis está presente en todo el mundo. El porcentaje de adultos que “han pasado la enfermedad a lo largo de su vida” es muy elevado, en torno al 50 %, dependiendo de la región geográfica, la edad, el sexo, el grupo étnico y las condiciones socioeconómicas y sanitarias, en especial por los hábitos alimenticios, y el contacto con gatos y la tierra.

En la mayoría de los casos, apenas aparecen síntomas o éstos son leves, por lo cual la población generalmente no es consciente de haber padecido la infección, que sólo se puede comprobar mediante un análisis de sangre que demuestre positividad para anticuerpos específicos de tipo IgG o IgM frente al parásito.

En Europa hay notable prevalencia de toxoplasmosis, probablemente por el alto consumo de carne cruda o mal cocinada. En el África occidental es conocida gran incidencia por estudios epidemiológicos de inmigrantes de esa zona del Continente.

Se ha encontrado una elevada prevalencia en Hispanoamérica: México, América Central y zonas del centro y norte de América del Sur con la excepción de las áreas más australes y las Islas del Caribe (por el número de adultos que presentan seropositividad, es decir, que presenta en su sangre anticuerpos que prueban que el individuo tuvo contacto con el parásito). Existe, incluso en estas grandes áreas geográficas, una considerable variación de seroprevalencia. Por ejemplo, en comunidades de baja salubridad pública, (criadores de camélidos), en la región andina de Cuzco (Perú), se

encontró una seroprevalencia de *Toxoplasma gondii* en alpacas del 35%, cuando la enfermedad en humanos en esa región es escasa.

En Colombia, según el Estudio Nacional de Salud realizado en 1982, la prevalencia en la población general es de 47 %. En Colombia, según estudios realizados en diferentes regiones, las frecuencias en el embarazo van de 0,6 a 3 %.

Actualmente, el Ministerio de Protección Social en Colombia no tiene reglamentación para la realización de pruebas durante el embarazo para la toxoplasmosis e igual situación ocurre en otros países de América Latina. En Colombia en la ciudad de Armenia (Quindío) se ha instaurado un programa de la Secretaria de Salud de Armenia para la población vinculada que cubre alrededor de 900 gestantes y se detectan entre dos a cinco casos cada año. En esta ciudad se ha encontrado que se presenta mortalidad neonatal, en la población no cubierta por el Programa, pero no en los hijos de madres detectadas y tratadas. En el resto del país en ausencia de intervención terapéutica, entre 800 a 3000 recién nacidos nacen infectados cada año, así en Sincelejo (departamento de Sucre, Colombia) en 100 gestantes se encontraron dos seroconversiones y entre los hijos de estas madres se presentó un mortinato.

En Brasil se han encontrado prevalencias en población general de 50 a 76 %. La frecuencia de toxoplasmosis congénita varía de 0,2 a 2 %. Las formas más graves pueden llevar a la muerte intrauterina o causar secuelas grave, si la infección de la madre ocurre en la primera mitad de la gestación. Un estudio en una población en Brasil demostró una mayor cantidad (13,9%) de mujeres embarazadas con toxoplasmosis activa (por la presencia de anticuerpos IgM), que con sífilis y la enfermedad de Chagas[20].

Fuentes de infección.

La realidad es que la fuente por la cual entra el parásito en los humanos con mayor frecuencia, es a través de los alimentos contaminados: la carne (cuando está poco cocinada, ya que un gran porcentaje está contaminada), las frutas y verduras mal lavadas y los animales de compañía, principalmente gato, como se cree popularmente.

El contagio interhumano de toxoplasmosis se ve en casos de la transmisión transplacentaria. Se sabe que el parásito por la placenta puede transmitirse al feto, si la madre se infecta por primera vez durante el embarazo.

Con muchísima menos frecuencia, el parásito puede ser transmitida por transfusión de sangre, o trasplante de órganos.

Una persona que consume con frecuencia verduras y frutas, puede consumirlas sin el adecuado lavado para eliminar el parásito en algún momento. También puede

consumir alimentos que han sido manipulados por terceros, sin poder supervisar si el lavado es suficiente (por ejemplo, en restaurantes con deficiencias higiénicas).

También esta descrita en personas que trabajan la tierra como vía de contagio las manos, agricultores, labores de jardinería. En los suelos suele estar presente el parásito en gran cantidad, en su forma de resistencia. Una persona que manipule la tierra con las manos sin protección, puede introducir restos de tierra bajo las uñas. Pese a un lavado de manos con agua y jabón, siempre puede quedar tierra bajo las uñas. Después, si se lleva la mano a la boca, es fácil infectarse de éste y/o de otros parásitos. Si es una persona que trabaja en el campo, no suele lavarse las manos cada vez que manipula esa tierra y en un descuido (o por mala costumbre) puede llevarse la mano sin lavar a la boca, con riesgo de contagio parasitario.

Para que un gato pueda producir heces infecciosas tiene que contagiarse. Es decir, un gato que no está infectado y vive en una casa sin acceso al exterior y comiendo pienso o carne cocinada controlada, no se infecta y por tanto no puede infectar a otros. Si el gato tiene acceso al exterior o es silvestre, o come carne cruda, o caza pájaros o ratones y se los come, entonces sí puede infectarse. Una vez infectado, incuba el parásito durante un período de entre 3 y 20 días (según la forma en la que lo ingiere, que determina la fase en la que se encuentra el parásito). Después libera los ooquistes en las heces. Para que esas heces con ooquistes (oocitos) sean a su vez infecciosas, necesitan un tiempo de exposición al medio, de entre 24 y 48 horas. Es necesario limpiar el arenero con frecuencia, impidiendo que esos ooquistes maduren y sean infecciosos. Hay que evitar manipular las heces con las manos sin guantes, y al terminar de limpiar el arenero, se deben lavar las manos inmediatamente, pues pudiera accidentalmente llevarse las manos a la boca. No sólo se puede introducir el *Toxoplasma gondii* en el organismo de esta manera, también otros parásitos, bacterias (*Escherichia coli enterotoxigenico*). y virus, mucho más peligrosos e incluso letales.

Por tanto, cualquier persona que conviva con un gato o varios como mascotas, incluso con acceso al exterior y hasta que coman a veces animales crudos cazados por ellos (es decir, gatos con riesgo de infectarse del parásito), con la más simple medida de higiene posible (el lavado de manos después de limpiar el arenero o usando guantes), puede evitar infectarse del parásito.

Ciclo de vida.

La toxoplasmosis es una zoonosis de distribución mundial. Se infectan animales herbívoros, omnívoros o carnívoros, incluyendo casi todos los mamíferos. En la carne destinada a consumo humano es frecuente la presencia de quistes tisulares. Los invertebrados como moscas y cucarachas, pueden contribuir a la difusión de los ooquistes, que van en la defecación de los gatos. Los ooquistes que salen con las heces no son de inmediato infectantes, deben pasar por un “proceso de diferenciación” en la

tierra, que dura hasta tres semanas y pueden mantenerse infectivos durante mucho tiempo en la tierra húmeda (aproximadamente un año).

Para *Toxoplasma gondii* el gato es el huésped definitivo (donde el parásito se reproduce), el gato se infecta y contagia a otros animales por los ooquistes. El ser humano se infecta ingiriendo ooquistes liberados con las heces del animal portador o bien al ingerir carne contaminada con ooquistes tisulares.

El parásito se presenta bajo tres distintas formas:

a) Taquizoito (un trofozoíto que puede encontrarse en casi cualquier órgano, principalmente el cerebro y músculos).

b) Bradizoito (son las formas latentes que permanecen en los tejidos como quistes tisulares). En caso de inmunocompromiso, se pueden reactivar desde el estadio de latencia y diseminarse como taquizoitos.

c) Esporozoito (esta forma se encuentra en los ooquistes y es la forma resistente en el medio ambiente). Los ooquistes no esporulados, requieren de unos 5 días en el medio ambiente para continuar el proceso y ser infectantes. Pueden sobrevivir en el medio durante meses y son resistentes a los desinfectantes, congelación y desecación. Temperaturas de 70°C o mayores los destruyen.

El ciclo vital de *Toxoplasma* tiene como huésped definitivo al gato o miembros de su familia, que tras ingerir el parásito, este sufre en las células epiteliales de su intestino, un ciclo asexual, y luego un ciclo sexual, eliminándose en sus heces millones de ooquistes. Cuando estos esporulan se vuelven infectivos pudiéndose infectar otros animales por su ingestión. Por debajo de 4 °C, o por encima de 37 °C, no se produce la esporulación y estos quistes no son infecciosos.

Los humanos sufren la transmisión del parásito fundamentalmente por vía oral a través de la ingesta de carnes, verduras, el agua, huevos, leche, u otros alimentos contaminados por ooquistes o que contienen quistes tisulares. De hecho, hasta un 25% de las muestras de carnes de cordero y cerdo presentan ooquistes, siendo menos frecuentes en la carne de vaca. Los gatos, sobre todo si se manipulan sus excreciones, pueden infectar al ingerirse los ooquistes a través de las manos contaminadas.

Se ha estudiado con cierto detalle el importante papel que juegan los gatos en la eliminación de los ooquistes en la tierra, como parte de la transmisión de la enfermedad.

En algunas islas del Pacífico, se ha demostrado que la ausencia de gatos está asociada a la ausencia de anticuerpos humanos frente a *Toxoplasma gondii* y, al

contrario, en regiones con alta prevalencia de anticuerpos, están en proporción directa con la población de gatos o el contacto con la tierra contaminada por heces felinas [19].

Los gatos se infectan al consumir roedores y aves, que son huéspedes intermediarios que contienen los quistes (con bradizoítos), que mantienen una infección crónica en estos animales.

Cuadro clínico.

Más del 80% de las infecciones son asintomáticas. La toxoplasmosis puede ser aguda o crónica, sintomática o asintomática. La infección aguda recientemente adquirida suele ser asintomática en niños mayores y adultos; y en caso de presentar síntomas y signos (enfermedad aguda) estos suelen ser de corta duración y autolimitados, como los de una gripe o mononucleosis, con dolor de cabeza, dolores musculares, inflamación de los ganglios linfáticos, e incluso presenta inflamación del hígado y mayoritariamente del bazo. En la mayoría de los casos, el parásito persiste como quistes en los tejidos y la persona no suele tener manifestaciones clínicas (infección crónica), pero en otros casos, se presenta con formas clínicas persistentes o recurrentes (enfermedad crónica).

Se suelen diferenciar cuatro grandes categorías clínicas en la toxoplasmosis humana:

1. *“Toxoplasmosis aguda adquirida en paciente inmunocompetente”*, pudiendo cursar con un cuadro subclínico y por lo tanto sin síntomas, haciendo que el paciente no tenga conocimiento de la infección. Cuando aparecen síntomas son generales, confundiéndose con una gran gama de posibles infecciones benignas y de rápido curso, pudiendo provocar: linfadenopatía, fiebre, mialgia y malestar general.
2. *“Toxoplasmosis aguda adquirida o reactivada en paciente inmunocomprometido”*, las formas clínicas más severas, pueden manifestarse en un 40% de pacientes con Sida, en pacientes con terapias inmunosupresoras y/o glucocorticoides, (para prevenir el rechazo de un órgano trasplantado o el tratamiento de una enfermedad autoinmune) o neoplásica, y pertenecen a este grupo de alto riesgo por deficiente inmunidad de tipo celular.
3. *“Toxoplasmosis ocular, como resultado de una infección congénita”* (aunque los signos aparezcan al cabo de varios años) son la retinitis necrosante, uveítis y muy frecuentemente retinocoroiditis.
4. *“Toxoplasmosis congénita”*. Es la forma más grave puede llevar a la muerte intra-uterina o causar secuelas graves si la infección de la madre ocurre en la primera mitad de la gestación.

Dentro de cualquiera de ellas las manifestaciones clínicas no son específicas y los métodos diagnósticos pueden prestarse a diferentes interpretaciones, teniendo a veces que ser no solo de laboratorio, sino de imagen y Anatomía Patológica.

Diagnóstico.

La toxoplasmosis es especialmente diagnosticada de forma: “*Directa*” al aislar el parásito por medio de inoculación de animales de laboratorio o visualizarse en Anatomía Patológica [21]. Es posible también demostrar la presencia del genoma del parásito con la técnica de PCR, un método importante debido a su alta sensibilidad y especificidad, pues siempre que es positivo, confirma el diagnóstico, pero si es negativo no siempre lo excluye.

El método de detección por PCR, se utiliza en el diagnóstico de toxoplasmosis a partir de líquido amniótico, del humor acuoso en toxoplasmosis ocular y en inmunocomprometidos. La detección directa del parásito en tejidos infectados puede también resultar difícil, por ejemplo, de placenta o cerebro, incluyendo la fijación de anticuerpos fluorescentes.

Es lo general basar el diagnóstico en analítica de laboratorio con pruebas capaces de detectar los anticuerpos serológicos, creados por el sistema inmune para combatir el parásito, especialmente al constatar un incremento en los niveles de IgG y/o la presencia de anticuerpos específicos tipo IgM. La evaluación clínica de recién nacidos durante el primer año de vida es, sin duda, necesaria en madres seropositivas o de alto riesgo.

Esto sumado a que la toxoplasmosis puede ser asintomática, implica que un análisis “puede indicar”: únicamente que el individuo nunca ha sido infectado por el parásito (seronegativo); o bien que el individuo ha tenido contacto o está actualmente infectado (seropositivo) con el parásito (sin distinción de uno u otro caso).

Los “*métodos indirectos*” incluyen reacciones de fijación de complemento, reacción con colorantes de Sabin y Feldman, pruebas de ELISA y la reacción de hemaglutinación indirecta.

Diagnóstico diferencial de cuadros clínicos con sintomatología.

De importancia en los casos más severos donde se ven los síntomas más notables, la toxoplasmosis debe diagnosticarse diferencialmente, con la leptospirosis [22], enfermedad de Hodgkin y otros linfomas, encefalitis, mononucleosis, miocarditis, neumonía, tuberculosis y tumor cerebral en inmunocomprometidos, y sarcoidosis.

Tratamiento.

1º.- El parásito “*Toxoplasma gondii*” es sensible a los fármacos Pirimetamina y las Sulfamidas, (Sulfadiazina 1 – 1,5 gr/6h. asociada a Pirimetamina 200 mgrs/día los dos primeros días, seguido de 75 mgrs/día y Ac. Folinico 10 mgrs/día durante 4-8 semanas), estos dos medicamentos son los que se usan en combinación para el tratamiento de la toxoplasmosis incrementando más de 6 veces el efecto de ellos individualmente [23].

Debido a que la Pirimetamina bloquea el uso del ácido fólico, se debe añadir al tratamiento el ácido fólico, el cual puede ser usado por la médula ósea del paciente, mas no por el parásito.

Los corticosteroides están contraindicados (excepto en casos de toxoplasmosis con sintomatología ocular, en cuyo caso se usan en concentraciones bajas). Aquellos pacientes alérgicos o que no toleran las sulfamidas, deben consultar con el médico en busca de otras opciones como la Clindamicina, a razón de 600mgrs/6h. asociada a Pirimetamina 200mgrs/24h los dos primeros días seguida de 75 mgrs/día y Ac. Folinico 10mgrs/día durante 4-8 semanas.

Las “madres embarazadas” con diagnóstico de infección reciente, deben ser también tratadas al ser diagnosticadas con certeza y, a través de ellas, al feto, balanceando los posibles efectos secundarios del tratamiento sobre el feto y su madre.

Una de las secuelas de hipersensibilidad asociada a medicamentos durante el tratamiento de la toxoplasmosis, es el síndrome de Stevens-Johnson, una reacción febril con lesiones en la piel y conjuntivitis purulenta, potencialmente letal.

Para pacientes inmunocomprometidos, en especial pacientes con Sida, el tratamiento debe continuarse de por vida para evitar la seria y frecuente posibilidad de reinfecciones o reactivación de una enfermedad parasitaria latente.

2º.- Otra alternativa es la Atovaquona, un antibiótico del grupo de las naftoquinolonas, que reduce el riesgo de encefalitis por *Toxoplasma gondii* y es alternativa al tratamiento convencional, (Pirimetamina + Sulfodiazina o Clindamicina). No se conoce exactamente cuál es su mecanismo de acción frente al toxoplasma, pero tiene el inconveniente del mayor costo. En personas con toxoplasmosis latente, los quistes resistentes a estos tratamientos, lo son debido a que los antibióticos, no llegan a los bradizoítos en suficiente concentración.

3º.- En la “toxoplasmosis aguda de la mujer embarazada” se puede prescribir Espiramicina 1gr/8h hasta el parto, y esto reduce la transmisión al feto en un 50%. Otra opción es la administración de Sulfodiazina o Clindamicina, aunque menos valorada.

La efectividad del tratamiento se basa:

- El tratamiento utilizado para toxoplasma en cultivos celulares y animales lo que elimina la replicación parasitaria y los signos de la enfermedad.
- En la toxoplasmosis ocular, toxoplasmosis en inmunocomprometidos y toxoplasmosis congénita, el tratamiento en los seres humanos mejora, los síntomas y los signos de infección activa.
- Cuanto más rápido sea diagnosticada y tratada la “toxoplasmosis congénita humana”, menos tiempo tendrá el parásito para destruir los tejidos y mejores serán los resultados.
- La detección de la infección del feto “adquirida durante la gestación” y su rápido tratamiento, se suele asociar con resultados favorables.

Profilaxis.

La transmisión de la toxoplasmosis se puede prevenir evitando: comer carne poco cocida o cruda (la carne se debe cocinar hasta que cambie de color), manipular o tener contacto con las heces de gatos que interactúen con otros animales infectados (lo que significa que no todos los gatos son sujetos de riesgo), contaminación de cuchillos, y otros utensilios al preparar carne infectada, beber agua contaminada, ingerir la leche no pasteurizada (especialmente de cabra), y aceptar la donación de órganos infectados.

Un brote epidémico en marzo de 1995 en Vancouver, Canadá, fue relacionado con la contaminación del depósito de agua de la ciudad por un félido salvaje.

En Brasil en 2004 una encuesta epidemiológica relacionó también el consumo de agua no filtrada, con infección en estratos socioeconómicos desfavorecidos. Es posible que, como en el caso de *Giardia o Cryptosporidium*, la cloración no sea suficiente para eliminar el *Toxoplasma* en aguas tratadas y se requiere la filtración para reducir la transmisión.

Estos nuevos datos colocan a la toxoplasmosis como enfermedad de transmisión hídrica, lo que puede explicar su gran diseminación y la gran cantidad de casos que no se pueden relacionar con factores de riesgo conocidos.

En un estudio en Colombia se encontró que en las gestantes del Quindío el 25% de los casos con toxoplasmosis en el embarazo, se atribuyó a tener gatos menores de 6 meses en la casa, 25% a consumo de carne poco cocida; y el tomar agua de bolsa o botella redujo el riesgo en un 50%. Es decir esto sugiere que hasta el 50% de los casos pueden ser debidos en algunas zonas, al consumo de agua contaminada. Estos datos

indican que la toxoplasmosis transmitida por agua, puede estar provocando la mayoría de casos, y por consiguiente, se requieren sistemas de monitoreo para la misma.

Hay que destacar que una vez que se produce la infección por el parásito este persiste en forma de quiste en el tejido muscular de la persona infectada, la inmunosupresión puede facilitar la rotura de los mismos y la reactivación de la infección, por lo que en las gestantes con algún tipo de inmunocompromiso (como pueden ser las pacientes infectadas por VIH), las recurrencias pueden constituir una posibilidad remota de transmisión vertical.

El riesgo de transmisión de la toxoplasmosis durante el embarazo se estima entre el 20 y 40% siendo la gravedad de las secuelas más importante en el “*primer trimestre*” del embarazo. La infección congénita adquirida en el útero de madres con infección aguda, pueden causar un síndrome con severas anomalías del sistema nervioso central y ocular que pueden ser fatales.

La prevalencia de la infección por toxoplasmosis en la mujer gestante y por tanto la incidencia de toxoplasmosis congénita, es muy diferente de unos Países a otros.

1.9 TOXOPLASMOSIS Y GESTACIÓN (RIESGO DE TOXOPLASMOSIS CONGÉNITA). (CIE-9^a = 771.2);(CIE-10^a = P37.1)

Se estiman que, de los más de 4 millones de nacimientos que hay en Estados Unidos cada año, entre 400 y 4.000 bebés nacen con toxoplasmosis (conocida como "toxoplasmosis congénita"). La infección puede ser leve o grave e incluso provocar el nacimiento de un bebé sin vida, o con problemas estructurales y neurológicos así como otros efectos devastadores. Hoy día, se puede hacer muchas cosas para evitar la infección por toxoplasma.

Los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades de Estados Unidos (CDC) calculan que solo alrededor del 15 por ciento de las mujeres en edad fértil son inmunes a la toxoplasmosis (es decir, no pueden contagiarse). Por suerte, son relativamente pocas las mujeres que contraen la enfermedad durante el embarazo y aun así, no todas transmiten la infección a sus bebés.

La "frecuencia" de infección fetal tiene una relación inversa con la edad gestacional: es más alta cuando la infección materna se presenta en el tercer trimestre (59%), que cuando sucede en el segundo (29%) o el primer trimestre (14%), pero la "gravedad" de la infección es mayor, a menor edad gestacional a la que se adquiera el parásito. Al nacer, la toxoplasmosis es asintomática en 75% de los casos y sólo en el 8% de los ellos se presenta con un compromiso severo a nivel oftálmico o del sistema nervioso central.

Si se adquiere durante la gestación, la toxoplasmosis puede causar graves consecuencias, tales como el aborto espontáneo, parto prematuro, y mortalidad del feto, dado que el agente patógeno puede transmitirse al feto por vía transplacentaria.

También existe un pequeño riesgo de infectar al bebé si se contrae la infección unos pocos meses antes de quedar embarazada. Si la mujer conoce que ha contraído la infección recientemente, es buena idea, según algunos expertos, que espere al menos 6 meses antes de intentar quedar embarazada.

La toxoplasmosis no se transmite de persona a persona, salvo en el caso de la transmisión de madre a hijo durante el embarazo o a través de una transfusión de sangre infectada, cosa muy rara hoy día, o de un trasplante de un órgano de una persona donante infectada.

La "toxoplasmosis congénita" tiene una presentación clínica distinta, en función del período de la gestación en la que se produjo la infección, siendo la "gravedad" del proceso inversamente proporcional al tiempo de embarazo. Parece ser que el mayor

riesgo está entre la semana 10 y la 26 en el que el tamaño de la placenta es importante y la inmadurez fetal favorecería la aparición de malformaciones.

El feto cuya madre ha contraído la infección por toxoplasmosis durante el “*primer trimestre*” del embarazo, desarrolla graves lesiones del sistema nervioso central que provoca en muchas ocasiones la muerte del feto. La infección en el primer trimestre del embarazo puede dar lugar a una infección grave con una tríada clásica (coriorretinitis, hidrocefalia y calcificaciones cerebrales).

Si la infección se produce durante el “*segundo trimestre*” de embarazo, el feto está expuesto a riesgos tales como la hidrocefalia, retraso mental o psicomotor, ceguera y calcificaciones cerebrales.

Sin embargo la toxoplasmosis fue común sobre todo en el “*tercer trimestre*” de embarazo. La “gravedad” de las secuelas es inversamente proporcional a la edad de la gestación.

Sin embargo, aunque el índice de transmisión de la infección es mayor en las últimas etapas del embarazo, la toxoplasmosis tiene más posibilidades de ser más grave para el bebé, si este se infecta durante el “*primer trimestre del embarazo*”.

La Toxoplasmosis se transmite al feto por vía placentaria, cuando una mujer embarazada, contrae la infección aguda (que generalmente es asintomática durante la gestación). Si la madre se infecta antes del embarazo el feto no resultará afectado. Aproximadamente el 40 % de los Recién Nacidos cuyas madres se infectaron precozmente, contraerán la Toxoplasmosis, que puede ser activa o inactiva en el momento del parto.

Activa al Nacer.

Algunos bebés tienen síntomas de toxoplasmosis al nacer, y estos pueden ser hepatomegalia, ictericia, esplenomegalia, bajo recuento de plaquetas, infección cardíaca o pulmonar y adenopatías.

La “gravedad” de la infección del feto varía según el momento de la gestación en que se produce la infección materna.

- “Muerte”, si la infección se produce “precozmente” durante el embarazo, el feto puede nacer muerto.

- “Aborto o alteraciones severas”. Si la infección se contrae en “la mitad” de la gestación, el feto puede ser abortado espontáneamente, o sufrir lesiones cerebrales graves tales como hidrocefalia, microcefalia o micro calcificaciones craneales.

- “Convulsiones”. Si la infección se produce durante la “última semana” del embarazo, el feto puede tener convulsiones generalizadas, parálisis, fiebre, lesiones viscerales y coriorretinitis. Las radiografías de cráneo pueden mostrar calcificaciones intracraneales.

Las tres “C” de la Toxoplasmosis congénita son : “*Convulsiones*”, “*Coriorretinitis*” y “*Calcificaciones*”.

Inactiva al Nacer.

Sin embargo, la gran mayoría de los bebés que sufren de toxoplasmosis congénita, especialmente aquellos infectados en la “última etapa” del embarazo, parecen normales al nacer pero, después de meses o incluso después de muchos años, pueden desarrollar problemas graves.

Igual que en la forma adquirida, la mayoría de los casos de Toxoplasmosis sistémica congénita son “*subclínicas*”. En estos niños se puede descubrir la existencia de las cicatrices coriorretinianas bilaterales en edades más avanzadas, y de forma casual durante un examen oftalmoscópico de rutina o al observar que el niño tiene una visión defectuosa. En el pasado estas cicatrices maculares, con frecuencia se denominaban incorrectamente “*colobomas maculares*”.

“*Retinocoroiditis Toxoplásmica Recurrente*”. Las recurrencias de la Toxoplasmosis ocular congénita antigua y curada son responsables del 50 al 75% de todos los casos de “*uveítis posterior*” en E.E.U.U. y Reino Unido. Las recurrencias generalmente tienen lugar entre los 10 y 35 años de edad (con una media de 25 años) al romperse los quistes y liberar cientos de parásitos (taquizoítos) hacia el interior de las células normales.

La lesión primaria es una retinitis, y se piensa que la “*reacción inflamatoria*” observada en la coroides, el iris y los vasos sanguíneos retinianos, tiene un origen por la respuesta inmunitaria, y no se debe a una infección directa, afectando generalmente al grupo de adultos jóvenes especialmente hombres.

Profilaxis.

Las futuras madres deben evitar el contacto con animales, principalmente gatos, y abstenerse de manipular carnes o vísceras con fines culinarios, así como ingerir carnes poco hechas.

Las carnes deberán ser cocinadas a temperatura superior a los 60°C, que es el límite de la tolerancia del parásito, que igualmente se inactiva por congelación a -20°C durante un periodo de tiempo no inferior a 24 horas.

Las gestantes deben lavar en abundancia las verduras, hortalizas y frutas y pelar adecuadamente la fruta.

Tras la manipulación de carne cruda, aves, marisco, frutas o verduras sin lavar, lavar abundantemente con agua y jabón las manos y los utensilios de cocinas.

Congelar la carne durante unos días y cocinarla bien para reducir en lo posible el riesgo de infección.

Evitar el contacto directo de las manos con los gatos o excremento de gatos.

Usar guantes y lavarse las manos adecuadamente después de realizar trabajos de jardinería o trabajar con tierra.

Los niveles de anticuerpos del tipo IgG anti-Toxoplasma, aumentan gradualmente y alcanzan un nivel máximo, entre dos y cinco meses después de que aparezca la sintomatología clínica. Por lo tanto el test sérico de la IgG, es útil para diferenciar a la población que ha contraído la enfermedad, de la no inmune. Esto es particularmente importante, para la adopción de medidas profilácticas adecuadas en las mujeres embarazadas.

La toxoplasmosis es una infección con posibilidad de transmisión vertical, en la que predominan las formas subclínicas. Solo la infección primaria en las madres se ha asociado con esta vía de transmisión.

En nuestro estudio tratamos de determinar el estado inmunitario, de las embarazadas, frente a *Toxoplasma gondii* para conocer de posible infección en las gestantes y del diagnóstico precoz de la primoinfección y adoptar medidas de tipo higiénico-dietéticas para evitar la infección en las seronegativas, y si fuera el caso, diagnóstico y tratamiento precoz y adoptar las medidas dirigidas a evitar la transmisión.

Hoy día se conoce de la utilidad clínica de la determinación del estado inmunológico de la gestante. La determinación de Ac IgG contra *Toxoplasma gondii* se utiliza, en la determinación del estado serológico respecto a este protozoo.

El estudio serológico nos permitirá determinar si la gestante es “susceptible” a la infección por toxoplasma, aunque actualmente existe controversia en nuestro país sobre la pertinencia o no de realizar este cribado, debido a las dudas surgidas respecto al impacto sanitario de dicho programa, al coste derivado de los mismos, y a los problemas diagnósticos que plantea la realización de pruebas serológicas encaminadas a descartar primoinfección en las pacientes seropositivas.

Estos últimos se fundamentan en los siguientes hechos:

1. No existe ningún marcador serológico que, con una sola determinación aislada, pueda distinguir entre una infección aguda/reciente y una infección pasada.
2. Ni siquiera la presencia de IgM específica es sinónimo de infección reciente, debido a que estos anticuerpos, puede persistir varios años después de producirse la primoinfección.
3. La IgA tampoco es sinónimo de infección reciente. Puede persistir hasta un año después de la primoinfección y en un 5 – 10% no se detectan.
4. Para el estudio de la Aidez, los Anticuerpos IgG de “Baja Aidez” pueden persistir más de 5 meses o incluso un año después de la primoinfección. Los anticuerpos IgG de “Alta Aidez” indican infección pasada (antigua).

El control serológico de la toxoplasmosis en el embarazo se basa en la investigación de anticuerpos IgG anti-Toxoplasma en el primer trimestre de gestación. El objetivo será detectar lo más precozmente posible las mujeres “susceptibles”, para evitar la primoinfección en gestantes seronegativas. En caso de una seronegativa, susceptible de contraer una infección, se procede a aconsejar medidas higiénicas, culinarias y seguimiento serológico trimestral en su caso.

Si en el líquido amniótico se demuestra que el bebé está infectado o si se descubre algún problema a través del ultrasonido, lo normal es que el especialista aconseje de los riesgos y de las posibles medidas a adoptar.

La “*toxoplasmosis congénita*” puede afectar el cerebro de la criatura, causando problemas como: retrasos mentales o trastornos motrices, parálisis cerebral y epilepsia. También es posible que se afecten otros órganos, generalmente los ojos, provocando alteraciones visuales y, en algunos casos, ceguera.

Si la analítica que se le practica al bebé al nacer da positivo, se le debe tratar con antibióticos durante aproximadamente un año, incluso si no presenta síntomas. Se le realizarán exámenes especiales de audición y de vista, una ecografía o una tomografía axial computarizada (TAC) de la cabeza y otras pruebas que los Pediatras consideren necesarias.

Como hemos descrito más arriba en los casos en que se detecta que una mujer gestante se ha infectado del parásito, existen medicamentos que como antiparasitarios pueden ayudar a detener la infección para evitar daños al feto.

Las investigaciones muestran que, si bien el tratamiento después del nacimiento no puede revertir todo el daño producido con anterioridad al mismo, si se puede lograr disminuir mucho, el riesgo que corre el bebé de desarrollar nuevos problemas durante la infancia y al crecer.

1.10. VIRUS DE LA HEPATITIS B. (CIE-9ª=070.3);(CIE-10ª=B-16)

El virus de la hepatitis B (descubierto en 1963 por Blumberg, premio Nobel de Medicina en 1976), pertenece a la familia de los “*Hepadnaviridae*”, tiene aproximadamente 42 nanómetros (nm) de diámetro y cuenta con una nucleocapside de morfología icosaédrica y una envoltura lipídica.

Es un virus de que pertenece a una nueva categoría de virus animales denominada Hepadnavirus[24], junto al virus de la marmota, el de la ardilla terrera y el de la hepatitis del pato de Pekín. Se caracteriza por tener una envoltura lipoproteica (antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y una nucleocápside (antígeno del core de la hepatitis B HBcAg). En el interior se sitúa una doble cadena helicoidal de DNA de 3,2 kb y una DNA-polimerasa.

Atendiendo a su organización se distinguen cuatro genes:

- Gen C, codifica para la proteína del core o HBcAg y la proteína precore que por proteólisis genera el HBeAg.
- Gen P, que codifica para la ADN polimerasa viral.
- Gen S, que cuenta con tres señales de iniciación de la transcripción que definen las regiones pre S1, pre S2, y S que codifica para el HBsAg.
- Gen X, que codifica una proteína no estructural HBsAg que es un potente transactivador de la transcripción, capaz de potenciar también la expresión de genes celulares, quizás implicados en la cronificación de la enfermedad y evolución a carcinoma hepatocelular.

La infección por el VHB determina no solo la producción en el hígado de viriones completos, sino también una gran producción de partículas incompletas (con capacidad inmunogénica) constituidas exclusivamente por “HBsAg” y la liberación a la sangre de un antígeno soluble, denominado Antígeno e (“HBeAg”). La presencia de éste en la sangre, indica la existencia de partículas víricas completas circulantes y alta infectividad del paciente.

Los cuatro genes, S, C, P, y X, (cada uno de los cuales) codifican la síntesis de una proteína vírica distinta: HBsAg, HBcAg, DNA-polimerasa y la proteína X, que interviene en los procesos de replicación viral.

HBsAg (Antígeno de Superficie del VHB).

Es la analítica a practicar en “todas las gestantes” en el 1º control de todos sus embarazos. Si fuera “gestante con prácticas de riesgo”, también se debe efectuar en su último trimestre de embarazo.

El antígeno de Superficie, antes llamado Antígeno Australia, expresión de la ORF S del gen S se sintetiza en el citoplasma del hepatocito, por la traducción de varios ARN-m de 2,1 a 2,4 Kb. Este antígeno se encuentra en el citoplasma unido a las membranas del retículo endoplásmico, desde donde se excreta al torrente sanguíneo.

El HBsAg es un marcador muy precoz, puede ser detectable incluso en el período de incubación, también en la fase aguda, y en la crónica de la enfermedad. En caso de evolución favorable de la enfermedad, desaparece a los 3 o 6 meses.

No todas las pruebas comerciales tiene la misma sensibilidad, la calidad viene dada, por poder detectar al menos 0,25 ng/mL de esta proteína en la muestra problema.

Antígeno “e” y anticuerpo Anti-e (HBeAg y Anti-HBe).

El HBeAg es una proteína no estructural del VHB. El HBeAg es más pequeño que la proteína HBcAg.

El valor diagnóstico de la detección de este antígeno, se fundamenta en la excelente correlación de su presencia, con la existencia de una “alta actividad replicadora” del virus y concentraciones elevadas de viremia, la sangre de estos pacientes se considera como altamente infecciosa. La determinación de su presencia (HBeAg) debe efectuarse en todas las muestras HBsAg positivo de las embarazadas, dada la relación existente entre su presencia (HBeAg+) y la alta frecuencia de transmisión perinatal de la enfermedad (doble antigenemia). En los casos de buena evolución su reactividad disminuye, haciéndose indetectable, siempre antes de la desaparición del HBsAg. El aclaramiento del HBeAg en la evolución de una hepatitis B, suele indicar un buen pronóstico y con cierta frecuencia el inicio de una fase de eliminación del virus. La aparición de antiHBe, en el curso de una infección aguda, indica un buen control de la infección y una disminución de la infectividad. En algunos casos puede coexistir el antiHBe con un HBsAg, lo que indica escasa actividad replicativa viral tras seroconversión anti-HBe.

Anticuerpos Anti-HBs.

El HBsAg induce la aparición de “anticuerpos neutralizantes específicos”, estos anticuerpos están dirigidos frente a varios lugares antigénicos del HBsAg y todos se denominan anti-HBs, es el último marcador en aparecer y su presencia indica “inmunidad de larga duración” frente a la reinfección. En las vacunadas como único marcador presente, se considera que está con “nivel de protección” si la concentración de este anticuerpo supera las 10 mUI/mL (seroprotección-inmune post vacunal).

Un cierto número de respondedores, tras la vacunación, pasados unos años y en relación con el título alcanzado, pueden presentar niveles indetectable o por debajo de 10 mUI/mL de anticuerpos. Estos pacientes permanecen protegidos frente a la reinfección, porque se mantendría la “memoria inmunológica”. Se elevaría el título de

anticuerpos, ante cualquier estímulo antigénico de nuevo (reinfección natural o revacunación), por tal memoria inmunológica conseguida en la primovacuncion completa y eficaz.

Para determinar el estado de susceptibilidad de las embarazadas se debe realizar determinación de anti-HBs. Si este marcador es positivo, es decir mayor de 10 mUI/mL se considerara a la gestante protegida frente al VHB. Estos anticuerpos pueden ser adquiridos de dos formas, tras la vacunación o tras pasar una infección viral natural.

Hay que tener presente que pacientes recientemente vacunados, como excepción, pueden dar HBsAg positivo (vacunal) durante algún tiempo, pudiendo crear alarma, la antigenemia transitoria y que se aclara al cabo de aproximadamente dos semanas. No debe realizarse valoración de antiHBs hasta al menos 1-2 meses postvacunal de la serie completa.

La presencia de anticuerpos protectores, antiHBs en el R.N., en la mayoría de los casos corresponde a la transferencia desde su madre inmune durante los meses de gestación y por ello transitorios y que desaparecen en unas semanas. No es determinación de tipo habitual en los recién nacidos, ni siquiera de madres portadoras HBsAg (+).

Anticuerpos Anti-HBc del tipo IgM e IgG.

Los anticuerpos anti-HBc producidos inicialmente tras una infección natural, son predominantemente del tipo IgM, con escasa concentración de IgG.

Los anti-HBc IgG son ya detectables en la fase inicial de la infección y persisten en el suero durante toda la enfermedad y más allá de la curación clínica, y persisten. Los antiHBc IgM solo serán detectables durante la “fase aguda” de la infección y van desapareciendo a medida que evoluciona hacia la curación clínica.

Las alteraciones bioquímicas más constantes en infección son la elevación de la Bilirrubina con incremento de ambas fracciones y el aumento de las transaminasas. Estas se hallan habitualmente 20-40 veces por encima de los valores de normalidad, con una mayor actividad de la GPT con respecto a la GOT. La actividad de la fosfatasa alcalina está moderadamente aumentada, así como la de la GGT.

El diagnóstico de hepatitis aguda suele establecerse con criterios clínicos, basándose en la historia y las alteraciones analíticas. El diagnóstico de la hepatitis B suele realizarse por la positividad del antígeno de superficie (HBsAg). No obstante los resultados de este examen pueden inducir a error en determinadas ocasiones, como sucede en los casos de hepatitis B que ya han depurado el HBsAg. Por esta razón tiene que investigarse en el suero la presencia de IgM anti-HBc que se halla en títulos elevados en la hepatitis B “aguda” y no en los portadores crónicos.

El antígeno de superficie (HBsAg) es uno de los primeros marcadores séricos que aparecen durante la infección y puede ser detectado 2-8 semanas antes de la evidencia bioquímica de disfunción hepática.

1. El antígeno de superficie (HBsAg) es el marcador más importante de infección por VHB. Para valorar con mayor exactitud se efectúa hoy detección de carga viral (PCR) cualitativa y cuantitativa, especialmente para ponderar respuesta terapéutica.
2. Sirve para el diagnóstico de la hepatitis aguda o crónica.
3. Útil en el seguimiento de la infección por VHB.
4. Muy útil en el “cribado durante el embarazo”.

Cierta variabilidad genética del virus de la Hepatitis B es el principal desafío para el diagnóstico de la infección por este virus. Es necesario conocer que los “virus mutados” pudieran escapar a la detección por los inmunoensayos de HBsAg. Es cierto que la sensibilidad de los test del HBsAg para la detección de virus con mutaciones mejora continuamente y hoy en España disponemos de reactivos capaces de detectar a VHB que incluyen a estas mutantes.

La OMS calcula que pueden existir en el mundo entre 200 y 400 millones de personas infectadas crónicas por virus de la hepatitis B. En España se calcula que pueden diagnosticarse entre 35 y 70.000 nuevos casos al año.

1.11. VIRUS HEPATITIS “B” EN GESTANTE.

La infección por el virus de la hepatitis B (VHB) es muy frecuente en el mundo. En España el número de portadores, en población general, de esta enfermedad es aproximadamente del 2%. “El marcador de hepatitis B (HBsAg) se solicita a todas las embarazadas en el primer trimestre del embarazo”, por el riesgo de transmisión de madre a hijo que existe y la posibilidad actual para evitar esta enfermedad en el recién nacido, si se diagnostica a tiempo y se aplica desde el nacimiento de un hijo de madre portadora, la inmunoprofilaxis mixta pasiva-activa.

La infección vertical por el virus de la Hepatitis B puede ocurrir por vía transplacentaria,[25] entre un 5% y 15% o más frecuentemente durante el parto (90%). La transmisión de la madre infectada, al hijo, se relaciona altamente con la presencia del HBeAg de la madre, pues esta condición representa una alta carga viral en la sangre y lógicamente alta infectividad posible al niño.

Se estima que el riesgo de que un RN adquiriera una hepatitis B desde su madre, es del 70% al 90% cuando la madre es HBsAg (+) y HBeAg (+), y este riesgo baja al 5% cuando la madre es solo HBsAg (+) y HBeAg (-).

La infección aguda por el virus de la Hepatitis B durante el embarazo, es muy infrecuente y no tiene tratamiento específico para la madre, realizándose en el recién nacido las mismas medidas preventivas para evitar su contagio, que en las madres con infección crónica por el VHB. Muy importante es conocer “antes del embarazo o diagnosticarse durante el primer trimestre de la gestación”, la existencia de una infección crónica por virus B en la gestante.

La hepatitis B crónica no influye en la capacidad de quedarse embarazada, ni provoca problemas de malformaciones en el niño. Únicamente está contraindicado el embarazo, si la mujer está en tratamiento antiviral para esta enfermedad.

Tampoco existe evidencia de que el embarazo, influya en la evolución de la enfermedad de la madre. Pero como se ha comentado antes, la infección por VHB tiene un alto riesgo de transmitirse al recién nacido en el momento del parto, especialmente en las madres portadoras del virus en fase replicativa, HBe Ag (+), (detecta que el virus esta multiplicándose activamente en la gestante). El riesgo de contagio al recién nacido es alto oscilando entre el 40 y 90% y no influye el que el parto se asista por vía vaginal o por cesárea. Una vez infectado, hasta el 90% de ellos pueden desarrollar una infección crónica.

Hay que diferenciar gestante con hepatopatía crónica, de la gestante solo portadora del VHB asintomática.

La hepatitis B en nuestro medio es rara vez un problema durante el embarazo. Cuando la hepatitis materna ocurre en el transcurso del tercer trimestre del embarazo o cerca del parto, la transmisión viral de la madre al hijo es del 76%. Cuando ocurre en el

transcurso del primer o segundo trimestre la tasa de transmisión baja al 10%. La mayoría de los niños con infección congénita son asintomáticos al momento del parto, mientras que solo unos pocos presentan hepatitis clínica al momento de nacer.

La "infección perinatal" es la vía más frecuente y ocurre "durante el parto" y en el periodo expulsivo. Los niños que se infectan por esta vía suelen presentar la hepatitis entre 30 – 120 días postparto, aunque la mayoría persisten asintomáticos por muchos años, y como portadores.

Hay que determinar el HBsAg durante el embarazo y caso de ser HBsAg (+) hacer determinación del antígeno HBe. Si es positivo, estar muy pendiente en el momento del nacimiento. Es una infección que se transmite de madre a hijo, y hay que estar pendiente de la "madre seropositiva, durante el embarazo", y del "niño en el momento de nacer", al que se le administrara gammaglobulina (IGHB) y la 1ª dosis de la vacuna anti-hepatitis recombinante genética en sus primeras horas de vida, para continuar con otras 2 dosis vacunales a los meses 1 y 6 de edad del niño.

La transmisión transplacentaria es infrecuente en los países nórdicos occidentales europeos y norteamericanos, pero sí tiene una gran importancia en Asia, África y lejano Oriente donde es responsable de más del 40% de las infecciones por VHB. No está asociado a teratogenicidad el virus de la hepatitis B.

Las complicaciones derivadas de la infección congénita o perinatal con VHB son a largo plazo. El 90% de los niños permanecen como portadores crónicos con HBsAg (+), un 25-30% desarrollan cirrosis hepática a edades más tempranas y/o cáncer hepatobiliar dentro de los treinta primeros años de vida.

Los niños con "infección congénita" tienen el antígeno positivo (HBsAg) en el momento de nacer, mientras que en los que se "infectan al momento del parto", el antígeno (HBsAg) se positiviza a los tres o seis meses del nacimiento, si no se conocía la serología de la madre y/o no se actuó correctamente al nacimiento con inmunoterapia mixta pasiva-activa.

La determinación de los anticuerpos (anti-HBc) y (anti-HBs) no son de utilidad para el diagnóstico del RN porque los anticuerpos protectores de tipo IgG maternos traspasan la barrera placentaria y los análisis en los niños resultarían positivos.

No está indicado el tratamiento específico de los niños con hepatitis aguda. Y en todo caso dependerá del grado de compromiso inflamatorio hepático, en cuyo caso se podría recomendar interferón alfa asociado a Lamivudina. El tratamiento con Lamivudina o nuevos antivirales VHB en la mujer embarazada con clínica en el último trimestre del embarazo estaría indicada en los casos en los que la carga viral esté muy elevada, en un intento de reducir el riesgo de transmisión vertical.

En recién nacidos de madres portadoras debe estudiarse la presencia de HBsAg junto con anti-HBs y su título, al término, del esquema de vacunación contra la Hepatitis B (0 - 1 y 6 meses) y no antes de los nueve meses de edad, para evitar la detección de anticuerpos aportados por la inmunoglobulina específica (IGHB) aplicada al R.N. Debe quedar como objetivo a alcanzar, negativizado el antígeno HBsAg y quedar positivo solo el anti-HBs a título protector, como expresión de su inmunidad artificial adquirida tras la inmunoprofilaxis mixta pasiva-activa aplicada.

La prevención de la infección perinatal en el “*recién nacido de una madre portadora de HBsAg*”, cualquiera que sea su peso al nacer, consiste en:

- A) Una dosis de inmunoglobulina hiperinmune de hepatitis B (IGHB) intramuscular en las primeras horas de vida a más tardar dentro de los primeros siete días postparto.
- B) Una primera dosis de vacuna anti-Hepatitis B recombinante genética pediátrica por vía intramuscular inmediatamente después del parto y dentro de las primeras doce horas de vida, continuando con las dosis 2ª y 3ª en los meses 1 y 6 de su vida.

Los prematuros con menos de 2.000 gramos de peso, nacidos de “*madres portadoras*”, recibirán una 4ª dosis de vacuna al cumplir séptimo mes de edad.

Todas estas medidas han demostrado su alta eficacia para la prevención de la infección por transmisión vertical/perinatal. Con la administración de esta terapia se ha reducido el riesgo de infección por VHB del RN en un 95 %.

1.12. SÍFILIS. (CIE-9^a=090-096);(CIE-10^a Sífilis Venérea(A-51-A52) Sífilis Congénita- (A-50)

La Sífilis venérea es una enfermedad infecciosa aguda o crónica cuyo agente bacteriano causal es la subespecie “*Treponema pallidum*” perteneciente, junto con otros Treponemas, (trepo= giro; nema=hebra) y *Borrelias*, a la familia “*Spirochaetaceae*”[26]. Es un microorganismo móvil enroscado que, dadas sus dimensiones 6-20 micras de largo por 0,2 de diámetro, se encuentra en el límite de resolución óptica de los microscopios convencionales. No es posible visualizarlo mediante tinciones normales y sí por contraste de fases, tinciones de plata que "engruesan la bacteria" o por anticuerpos fluorescentes. Tampoco es cultivable según el concepto tradicional, no realiza el ciclo de los ácidos tricarbónicos y depende de las células hospedadoras, para la obtención de purinas. Son microaerófilas y sensibles al oxígeno. Su movilidad se debe a 10 flagelos periplásmicos. Su tiempo de generación en los tejidos humanos es de unas 8 horas, por lo que su multiplicación es lenta.

Es una espiroqueta altamente transmisible, bastante frágil, que no soporta los climas secos o las temperaturas superiores a 42°C.

La enfermedad está clasificada como “venérea y de declaración obligatoria”, siendo su mecanismo de transmisión el contacto directo con una lesión productiva. Tras un período de incubación de 10 a 90 días (media de 21 días), aparece en el lugar de la inoculación una lesión primaria, rica en treponemas (el chancro), que desaparece espontáneamente a las pocas semanas.

Modo de transmisión.

Enfermedad de transmisión sexual (E.T.S.) La exposición sexual. Corresponden a cerca del 90% de las infecciones. La contagiosidad va disminuyendo hacia el segundo año de la infección. La mujer adquiere la sífilis durante las relaciones sexuales, por contacto directo con exudados infecciosos de lesiones (chancro) iniciales húmedas evidentes o no manifiestas (de la piel y de las mucosas); la exposición casi siempre tiene lugar durante el coito no protegido, y descrito en el sexo por vía vaginal, anal u oral. Otras formas de contraer la infección son citadas a continuación.

Por *transfusiones de sangre* contaminada con sífilis si el donante está en la fase temprana de la enfermedad, pero esto es raro hoy en día en nuestro medio, dada la búsqueda analítica obligatoria en todo donante y los controles rigurosos de los Centros de Transfusiones Sanguíneas, a los que son sometidas todas las sangres de donantes, conforme a la legislación vigente.

Es posible contraer la infección por *contacto con objetos contaminados*, pero esto es extraordinariamente raro [27]. Es más frecuente por compartir jeringas para

inyección de drogas intravenosas. Algunos profesionales de la salud han contraído lesiones primarias en las manos sin protección, después del examen clínico de lesiones infecciosas en la etapa temprana.

Prenatal (vertical): La “*sífilis congénita*” ocurre cuando la madre con sífilis durante la gestación, transmite la infección al futuro ser, ya sea por vía hematogena transplacentaria o durante el parto (por el contacto sanguíneo o con lesiones de los genitales de la madre).

En la mujer embarazada afectada de sífilis, la transmisión al feto se puede producir por vía transplacentaria. En ausencia de tratamiento de gestantes infectadas, antes del cuarto mes de embarazo, la infección fetal puede ser letal o provocar lesiones irreversibles (*sífilis congénita*).

Los niños infectados pueden tener lesiones mucocutáneas húmedas, más generalizadas que en la sífilis del adulto, y constituyen una fuente posible de infección.

La lactancia puede estar involucrada en la transmisión sólo, si existen lesiones sifilíticas en las mamas y la transmisión sería por inoculación directa.

Periodo de incubación de la enfermedad.

De 10 a 90 días, por lo común tres semanas.

Periodo de transmisibilidad.

La transmisión se produce cuando están presentes las lesiones mucocutáneas húmedas de la “*sífilis primaria*” y “*secundaria*”. Las lesiones de la sífilis secundaria pueden reaparecer con frecuencia cada vez menor, en un lapso de hasta cuatro años después de la infección. Sin embargo, la transmisión de la infección es rara después de los dos primeros años. Adicionalmente debe conocerse que es infectante hasta 24 horas después de iniciado el tratamiento específico.

La transmisión vertical de sífilis de la madre al feto, es más probable si ella está en fase temprana de la enfermedad, pero puede producirse durante todo el período de latencia, incluso después de cuatro años.

Susceptibilidad y resistencia.

La susceptibilidad es universal, aunque sólo cerca de 30% de las exposiciones culminan en infección.

La infección genera inmunidad contra “*Treponema pallidum*” en forma gradual. Es frecuente que no se genere inmunidad, si el paciente se ha sometido a tratamiento temprano en las fases primaria y secundaria. La infección concurrente por el VIH, puede disminuir la respuesta normal del huésped contra *T. pallidum*.

Complicaciones.

En esta enfermedad están claramente definidos varios estadios. Durante el “*primer estadio*”, conocido como “*sífilis primaria*”, el *T. pallidum* se multiplica en los linfáticos regionales, distribuyéndose por la sangre a todos los órganos del individuo (infección sistémica). Generalmente las pruebas serológicas se hacen positivas en este período pasadas 3-4 semanas de la infección.

En la Sífilis primaria aparecen úlceras llamadas chancros (usualmente unitarios aunque pueden ser múltiples), el tiempo que transcurre entre la infección por sífilis y la aparición del primer síntoma puede variar de 10 a 90 días (con un promedio de 21 días), úlceras indoloras en los genitales, recto o boca, e inflamación de ganglios linfáticos en el área adyacente a éstos. Es posible que algunas personas no se percaten de los chancros ni tengan síntomas asociados con los mismos, en especial si los chancros están ubicados en el recto o el cérvix. Dichas lesiones suelen desaparecer en un período de 4 a 6 semanas. Aproximadamente un tercio de las personas no tratada, progresan a la segunda etapa de la enfermedad.

En el paciente no tratado específicamente, el “*segundo estadio*” comienza con la aparición de una de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad: una erupción en piel, palmas y plantas, la roséola sifilítica, acompañada de síntomas generales y, frecuentemente de otros signos localizados (condilomas genitales). Las lesiones abiertas de este período son muy contagiosas. Tras la primera desaparición espontánea de la misma y durante el primer y segundo año, pueden aparecer brotes similares, cada vez de menor intensidad (“*fases de latencia precoz*”) hasta que desaparecen totalmente todos los signos y síntomas (“*fase de latencia tardía*”).

El SNC puede comprometerse hasta en 40% de los casos; esta invasión puede manifestarse por cefalea, meningismo y alteraciones de líquido cefalorraquídeo (LCR); esto se conoce como “*neurosífilis aguda*”. Esta etapa es la más contagiosa y aunque por lo general, se resuelve en unas cuantas semanas, en algunos casos puede perdurar por más de un año. La infección progresará hasta la fase latente y terciaria de la enfermedad, si no se administra ningún tratamiento, la cual puede prolongarse por años.

La Sífilis latente se da tras la involución de las lesiones de la sífilis secundaria. Si está dentro del primer año de la infección se habla de “*sífilis latente temprana*”, la cual puede ser contagiosa y es el periodo en el cual se presentan recaídas y cada recurrencia es menos florida. Después del primer año se habla de “*sífilis latente tardía*”, que es una enfermedad inflamatoria poco progresiva que puede afectar cualquier órgano y por lo general no contagiosa. El 60% a 70% de los pacientes infectados y no tratados permanecen en esta etapa por toda la vida. Se define como el periodo sin manifestaciones clínicas o asintomático, lo cual no implica que la enfermedad no progrese; sigue a la sífilis primaria y secundaria y sólo se detecta a través de pruebas serológicas positivas para sífilis.

En la mayoría de los pacientes es difícil definir el tiempo de evolución de la infección/enfermedad por lo cual se considera “*sífilis latente indeterminada o de duración desconocida*”.

El “**tercer estadio**” de la enfermedad, solo se presenta en unos pocos pacientes, se caracteriza por la formación de lesiones granulomatosas destructivas que curiosamente, tienen escasa carga treponémica. En este período pueden aparecer síntomas y signos de focalización de la enfermedad: neurosífilis, sífilis cardiovascular, etc. Es la etapa final, que sigue a la infección inicial después de 3 a 20 años si no fue tratada, y se caracteriza por lesionar los órganos internos comprometiendo el sistema nervioso central, cardiovascular con inflamación de la aorta (aortitis o aneurismas) y sífilis gomosa (lesiones destructivas de la piel y los huesos), provocando síntomas según la localización de la lesión. Esta es la razón por la cual se conoció como la enfermedad gran simuladora. Estas lesiones pueden ser lo suficientemente graves como para producir la muerte.

La Neurosífilis actualmente no se considera como parte de la sífilis terciaria, sino como una manifestación presente “en cualquier estadio de la enfermedad”, por lo que se clasifica en neurosífilis aguda y tardía (crónica). Esta última es una infección lentamente progresiva y destructiva del SNC que se presenta (cuando la sífilis no ha sido tratada), años después de la infección primaria.

Los síntomas son dolor de cabeza, cuello rígido, irritabilidad, confusión mental, depresión, trastornos visuales, reflejos anormales, incontinencia, demencia, debilidad, adormecimiento de las extremidades inferiores, contracciones y atrofia muscular. La neurosífilis ocurre en 15% a 20% de todas las infecciones tardías o sífilis terciaria y es una complicación progresiva y potencialmente mortal.

La *neurosífilis* es la complicación más grave del “*tercer estadio*” y existen cuatro formas diferentes:

- Asintomática
- Meningovascular
- Tabes dorsal y
- Paresia general.

La “**neurosífilis asintomática**” precede a la sífilis sintomática y se presenta en 15% de las personas con “*sífilis latente*”. En este caso, pueden encontrarse anomalías analíticas en el líquido cefalorraquídeo, sin que los síntomas estén presentes.

En la “**neurosífilis meningovascular**” pueden presentarse parálisis de los pares craneales y anomalías de la pupila, entre una amplia variedad de síntomas, y daño en los vasos sanguíneos, lo cual ocasiona ataques cerebro-vasculares.

En el “*tabes dorsal*”, se presenta degeneración progresiva de la médula espinal que ocasiona alteración o pérdida de la propiocepción, generando dificultad e incapacidad para caminar.

En la “*paresia general*” se presentan parálisis, temblores, convulsiones y deterioro mental como resultado del daño a las células del cerebro, y presencia de gomas sífilíticas en cualquier parte del SNC, lo cual causa una gran variedad de síntomas neurológicos.

En los estudios de evolución natural de la enfermedad, se ha visto que aproximadamente un 33% de los pacientes, curan de forma espontánea con negativización de las pruebas reagínicas. Otro 33% no desarrolla síntomas de progresión de la enfermedad aunque las pruebas no treponémicas permanecen positivas y otro 33% desarrolla una enfermedad tardía más o menos grave (17% sífilis tardía benigna, 8% neurosífilis y 8% sífilis cardiovascular).

1.13. SÍFILIS EN GESTANTE.

El treponema puede traspasar la barrera placentaria con suma facilidad a partir del tercer o cuarto mes de la gestación y producir “*enfermedad fetal*”. Por ello, en la mayoría de los Países, se realiza un estudio de anticuerpos frente a este patógeno para diagnóstico de sífilis en las gestantes (RPR/VDRL) e instaurar medidas preventivas y terapéuticas, en su caso.

La sífilis es una enfermedad sistémica con posibilidades de transmisión vertical, que se puede transmitir por vía transplacentaria en cualquier periodo de la gestación aunque, el mayor riesgo va de los 4 meses hasta el final de la gestación. El riesgo de la transmisión depende del estadio clínico de la sífilis de la gestante. Es más frecuente en estadios precoces, aunque existe la posibilidad de la transmisión durante el proceso del parto, por contacto con una lesión genital activa. En el primer caso, la transmisión solo ocurre en la fase de bacteriemia, situación posible hasta los 5-6 años posteriores a la adquisición de la infección y en ausencia de tratamiento. *T. pallidum* puede invadir el compartimento fetal en cualquier momento de la gestación, aunque se admite que el mayor riesgo es “*desde el cuarto mes hasta el final del embarazo*”.

La sífilis es una infección sistémica desde el inicio y la enfermedad se caracteriza por periodos latentes, que pueden durar más de veinte años.

Dada la trascendencia de la transmisión vertical y la tolerancia, seguridad y ausencia de efectos secundarios del tratamiento, se recomienda que:

- Ninguna “mujer embarazada” debería ser excluida del estudio de los marcadores de sífilis, al menos una vez durante el embarazo y si pertenece a alguno de los “grupos con prácticas de riesgo”, realizar otra determinación antes del parto.
- Durante el embarazo, es importante conocer que, las pruebas “*treponémicas*” y “*no treponémicas*” pueden producir resultados falsos positivos, siendo más frecuente, con las “*no treponémicas*”.
- Durante la gestación es posible una elevación de los títulos de las “*pruebas reagínicas no treponémicas*” (R.P.R. Reagina Plasmática Rápida) en paciente que haya padecido una sífilis. Esto no significa que exista necesariamente una reinfección o una recaída. En estos casos es fundamental una buena reevaluación clínica.
- La mejor muestra para el estudio del riesgo fetal de enfermedad sifilítica es el suero materno. Los resultados obtenidos con él, superan a los de la sangre de

cordón e incluso a los de sangre del recién nacido. La sangre de cordón no es una buena muestra para el diagnóstico analítico de sífilis.

- Sólo en el 20% de los niños infectados intraútero, los “títulos” de las “pruebas no treponémicas” son superiores a los de la madre. Por ello los títulos reagínicos inferiores a los de la madre, no descartan la infección congénita. También se debe tener presente que si la infección ocurrió en el tercer trimestre de la gestación, el VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) que es de tipo “*reagina no treponémica*” puede aún ser negativo en el recién nacido.
- Los anticuerpos (reagínicos y los treponémicos) transferidos al neonato, de clase IgG, deben volverse no detectables en el plazo de meses (vida media de 2-3 semanas). El incremento o mantenimiento del título de los “*anticuerpos reagínicos*” a lo largo de los primeros 6 meses de vida, indican “*infección congénita*” y no deberá esperarse más para tratar al niño si no se hizo ya previamente. Igualmente la detección positiva de IgM mediante técnicas de Captia, ELISA ó FTA-Abs IgM, confirmaría el diagnóstico.
- La mejor evaluación de “*sífilis congénita*” en el niño asintomático se puede realizar con el estudio del LCR, en el que detectaremos alteraciones celulares y bioquímicas con positividad del VDRL y, posiblemente, también con prueba FTA-Abs (“*treponémica*”) positiva.

Si el resultado de un test “*reagínico no treponémico*” fuese positivo, se debe realizar un estudio de anticuerpos específicos frente a “*antígenos treponémico*” FTA (*Fluorescent Test Antibody Treponema pallidum*) ó TPHA (*Aglutinación de Partículas de Treponema pallidum*) y caso de confirmarse la infección, se propondría para tratamiento y seguimiento de la gestante, y posteriormente del neonato.

De las técnicas “Treponémicas”comentamos que:

1º.- TPHA, poseen una serie de ventajas :

- Su especificidad,
- Sencillez de manejo,
- Permiten realizar determinaciones individuales,
- No necesitan equipamiento.

2º.-La de FTA-Abs posee igualmente una serie de ventajas:

- Por su Sensibilidad, permite detectar Ac. tanto del tipo IgG como IgM.

La sífilis es una infección sistémica desde el inicio y la enfermedad se caracteriza por periodos latentes, que pueden durar más de veinte años.

La sífilis se puede diagnosticar con diferentes test serológicos de laboratorio [28] El diagnóstico serológico se establece generalmente usando dos test estándar combinados, un “*test de anticuerpos No Treponemicos*” y un “*test de anticuerpos Treponemicos*” para fines de confirmación. El test que realizamos en nuestra Tesis es el test de RPR que es una variación simplificada del VDRL y de más fácil manejo y los casos positivos se confirmaron con una prueba treponémica FTA-Abs IgM.

Los Centros de Referencia contribuyen enormemente a la vigilancia activa y al seguimiento de este tipo de patologías [29].

Las consecuencias de la infección contraída durante el embarazo, está en relación con el estadio clínico de la sífilis en la gestante y con la edad gestacional.

La “*infección primaria*” ó “*secundaria*” adquirida en los primeros meses de gestación, presenta una frecuencia de infección fetal superior al 75%, con 25% de abortos y desarrollo de sífilis congénita en el 50% de los nacidos vivos.

Sin embargo, si el embarazo se produce en el seno de una “*sífilis latente tardía*”, el riesgo de transmisión estimado es del 10%, con un 10% de muerte fetal y menos de un 5% de sífilis congénita.

La infección congénita suele ser “*sintomática*” si la mujer se infecta durante el embarazo, y “*silente*” si el embarazo se produce durante una sífilis latente.

Es cierto que la incidencia de la enfermedad venérea en nuestro medio por *T.pallidum*, es baja, menor de 0.5%. No obstante, se aconseja continuar con el cribado serológico de la sífilis, debido al bajo costo de su tratamiento y de su diagnóstico, así como a considerar los cambios poblacionales y epidemiológicos, que se están produciendo actualmente.

Se aconseja el cribado serológico de la sífilis en la primera consulta prenatal, mediante la determinación de una “*prueba no treponémica*” (R.P.R.). Si existen factores de riesgos asociados a la gestación (drogadicción, antecedentes, promiscuidad, VIH, inmigrantes de zonas endémicas etc.) se recomienda además en casos positivos, repetir la determinación en el tercer trimestre del embarazo.

Un resultado negativo en la prueba de cribado, en ausencia de manifestaciones clínicas, puede descartar la infección por *T. pallidum*, teniendo siempre presente las limitaciones del ensayo.

A pesar de ser una enfermedad de transmisión sexual bastante simple de curar, la sífilis puede llegar a causar serios problemas de salud, tanto en la mamá como en el niño, si la misma no llegara a tratarse adecuadamente y en el momento preciso. Toda mujer embarazada e infectada con sífilis, debe averiguar qué es lo que debería hacer para tratarse y para proteger al futuro hijo

La sífilis es una enfermedad extremadamente peligrosa para un feto que aún no ha nacido. Esta podría ser transmitida a su hijo a través del canal de parto y, posiblemente tuviera que someterse a una cesárea, ya que podría reducirse el riesgo de transmisión de esta enfermedad.

La sífilis que es transmitida al feto durante el embarazo es conocida como sífilis congénita. Más de 500.000 casos de sífilis congénita ocurren cada año en todo el mundo. Por otro lado, unos 500.000 fetos infectados con sífilis son abortados o nacen muertos cada año. Si una mujer estuviera embarazada e infectada con sífilis, su feto podría contraer la enfermedad a través de la placenta, ya que éste es el órgano encargado de alimentarlo a través de la sangre. Es verdaderamente importante que se someta a todos los exámenes médicos necesarios para detectar la presencia o no de sífilis durante las primeras etapas de su embarazo, a fin de evitar contagiar a su feto con esta enfermedad.

La sífilis congénita puede llegar a presentar varios síntomas de extrema gravedad, pero éstos podrían no hacerse notar inmediatamente. Los hijos que nacen padeciendo sífilis congénita podrían no llegar a presentar ninguna clase de síntomas hasta cumplir los ocho meses de vida. Los bebés infectados por *T. pallidum*, por lo general, experimentan erupciones cutáneas, o pequeñas áreas irritadas y doloridas en su cuerpo. Si su bebé estuviera infectado, probablemente, el aspecto de su piel sería amarillento (ictericia), su nariz sangraría con mucha frecuencia, sus brazos y sus piernas estarían inflamados, y presentaría puntos o manchas pegajosas en su boca. Podría tener un llanto muy débil o parecido al relincho de un caballo. Los hijos infectados con esta enfermedad también podrían llegar a padecer anemia o contraer neumonía durante los primeros años de su vida.

Si el hijo no fuera tratado adecuadamente para curar su sífilis, la falta de tratamiento, podría acarrearle problemas físicos realmente muy graves. La “sífilis crónica” podría causar daños serios en el sistema óseo del hijo, en sus dientes, en su visión, en sus oídos, y en su desarrollo mental. El hijo podría sufrir apoplejías, experimentar retraso mental o crecimiento físico deficiente. El 12% de los recién nacidos infectados con sífilis congénita, eventualmente mueren a causa de esta enfermedad.

Es muy importante que toda mujer embarazada se someta a un análisis para detectar si está infectada con sífilis. Para ello, simplemente se le extraerá una muestra de sangre, necesaria para verificar la presencia de hallazgos analíticos sobre el agente causante de esta enfermedad. Si su analítica arrojara un resultado positivo en cuanto a la

presencia de sífilis, debería someterse a un tratamiento adecuado para curar esta enfermedad antes de llegar a la semana 16 de su embarazo; y así podría evitar que dicha enfermedad fuera contraída por su hijo.

Más del 98% de los hijos no contraerán la sífilis si sus madres se someten a los adecuados tratamientos, antes de llegar al cuarto mes de embarazo. Si la mujer embarazada estuviera atravesando las primeras etapas de esta enfermedad, su hijo correría mayor riesgo de contraer sífilis congénita. El 50% de los embarazos de las mujeres positivas son afectados durante estas primeras etapas. Un tratamiento a tiempo es la mejor opción tanto para la gestante como para el futuro hijo.

El tratamiento es bastante sencillo si se realiza antes de que la gestante llegue al cuarto mes del embarazo. Una simple inyección de Penicilina podrá evitar que el feto pueda llegar a infectarse. Si fuera alérgica a la penicilina, Obstetricia podría recetarle otros antibióticos también eficaces como Ceftriaxona. Si se sometiera a un tratamiento después del cuarto mes de embarazo, el mismo puede no surtir los resultados esperados.

Entre el 40% y el 70% de las mujeres que se hubieran sometido a un tratamiento tardíamente, o que no hubieran tratado médicamente su sífilis, darán a luz hijos que padecerán sífilis congénita. Después del parto, si el análisis que se le practicara al recién nacido para detectar si el mismo/a padece sífilis diera un resultado positivo, requiere actuación especial médica. Tanto la madre como su hijo, deberán realizarse repetidos análisis para detectar la presencia de sífilis, a fin de verificar si el tratamiento al que se han sometido, ha sido eficaz en sus resultados y ha logrado erradicar dicha enfermedad.

Sífilis Gestacional (SG): Es aquella que se diagnostica durante la gestación, el postaborto o el puerperio inmediato y puede encontrarse en cualquiera de sus fases, aunque es más frecuente en la secundaria indeterminada.

Sífilis Congénita (SC): Ocurre cuando la madre con sífilis, transmite la infección al fruto durante la gestación ya sea por vía hematógeno-transplacentaria o durante el parto por el contacto del neonato con lesiones en los genitales de la madre.

Las lesiones clínicas se forman a partir de la semana 16 de gestación cuando el sistema inmunológico ya se ha desarrollado, aunque el treponema puede pasar la circulación fetal desde la novena semana. Si la madre recibe tratamiento antes de la decimosexta semana es casi siempre posible que se prevenga el daño al feto y de aquí la importancia de la solicitud de pruebas no treponémicas prenatales en el primer trimestre. La SC se clasifica según el momento de aparición de las manifestaciones clínicas.

Sífilis Congénita Temprana: Es la que se presenta antes del segundo año de vida; mientras más tempranamente se presenta tiende a ser más grave y puede ser fulminante, se asemeja a la sífilis secundaria del adulto. Puede darse que el niño nazca con serias deformidades y se asocia con una mortalidad alta o puede que las manifestaciones estén presentes desde el nacimiento o que se vayan presentando

paulatinamente durante el crecimiento, pero que no atenten directamente contra la vida del paciente.

Sífilis Congénita Tardía: Se presenta después de los dos años de edad, se asemeja a la sífilis terciaria y perdura durante toda la vida.

La infección del feto puede producirse en cualquier mujer no tratada, aunque es más frecuente en los estadios precoces de la infección. La infección antes del cuarto mes de gestación es poco frecuente.

La gravedad clínica va desde el aborto tardío hasta parto pretérmino, muerte neonatal, infección neonatal e infección latente.

La transmisión de la infección al feto en la sífilis materna primaria es de 70 - 75% y en la secundaria es de 90% a 100%. En la latente temprana es de 30%, en la sífilis latente tardía la transmisión disminuye a alrededor de 10 - 20%.

Las espiroquetas cruzan la barrera placentaria desde la octava o novena semanas de la gestación. Sólo después de la semana dieciséis de gestación el feto es capaz, de desarrollar una respuesta inmune a la infección; las manifestaciones dependen no sólo de la edad gestacional en el momento de la infección, sino también de la etapa evolutiva de la enfermedad y del inicio del tratamiento.

Si la madre se infecta en las primeras semanas de gestación, se produce un daño fetal severo y un pequeño porcentaje termina en aborto espontáneo. Si se infecta después de la semana dieciséis de gestación, ésta evoluciona hacia aborto en 25%, mortinato en 25% o infección congénita en 50% de los casos; sólo un pequeño porcentaje nacerá sano.

La infección de la madre al final de la gestación se traduce en una amplia transmisión al feto; 60% de los recién nacidos nacerán aparentemente sanos. Se estima que hasta 90% de los recién nacidos de madres con sífilis no tratada, adquirirán la sífilis congénita y muchos no desarrollarán síntomas hasta dos semanas a tres meses más tarde.

Podemos considerar “caso confirmado de sífilis” a toda mujer gestante, puérpera o con aborto reciente, con “*prueba no treponémica*” (RPR) positiva mayor o igual a 1/8 diluciones (o en menores diluciones (0, 1/2 ó 1/4) y con “*prueba treponémica*” (FTA-Abs o TPHA) Positiva.

Rara vez los falsos positivos de las “*pruebas no treponémicas*” tienen un título superior a 1/8 diluciones (generalmente se dan con los títulos bajos), aunque pueden presentarse excepciones como por ejemplo las gestantes usuarias de drogas

intravenosas, con infecciones agudas o enfermedades autoinmunes agudizadas (falsos positivos), que pueden presentar títulos altos, sin tener sífilis.

Las “*pruebas treponémicas*” se deben realizar a todas la gestantes con pruebas “no treponémicas positivas”; pero en vista del costo, en ocasiones la demora en los resultados y la baja disponibilidad, se deben realizar en todas aquellas gestantes con títulos no treponémicos bajos o aquellas en las cuales hay dudas, de que tengan la infección/enfermedad.

A continuación se presentan los posibles resultados e interpretaciones de las pruebas serológicas.

Interpretación de las pruebas Serológicas:

Caso A:

- No treponémica: Negativa.
- Treponémica: Negativa.

Se puede excluir la infección.

Una excepción sería la infección reciente, por lo que si hay sospecha se deben repetir las pruebas después de 15 - 21 días.

Caso B:

- No treponémica: Positiva.
- Treponémica: Positiva.

Es una infección sifilítica.

La historia clínica ayudará a establecer si es reciente o antigua, conocida o desconocida.

Si se confirma que había sido diagnosticada y tratada correctamente, puede ser una cicatriz serológica, sin embargo debe hacerse un seguimiento cuantitativo con el R.P.R.

Caso C:

- No treponémica: Negativa.
- Treponémica: Positiva.

Es una reacción treponémica específica (99,5% - 100%).

Generalmente refleja la “*persistencia normal de anticuerpos frente al treponema y no infección activa*” realizar una prueba con *Ac tipo IgM, FTA-IgM o Captia IgM.*

Caso D:

- No treponémica: Positivo.
- Treponémica: Negativo.

Se trataría de un resultado Falso Positivo.

Es una reacción cardiolipínica no muy específica, que puede estar debida a otras patologías (incluyendo la gestación) como: infección vírica, artritis reumatoide, LES, vacunación reciente, drogadicción, lepra... Generalmente se trata de un “*falso positivo*” y no es un caso de sífilis gestacional. Confirmar con “otras pruebas treponémicas (FTA-Abs IgM, TPHA)” como técnicas confirmatorias.

Si el resultado de la nueva prueba confirmatoria es Positivo y si no hay antecedentes de sífilis, ni historia de tratamiento para ésta en el pasado, debe asumirse que tiene un caso de sífilis actual y que requiere tratamiento.

- En caso de “*gestantes con antecedente de sífilis*” antes de la gestación actual, que recibieron tratamiento adecuado y los títulos no treponémicos actualmente son bajos (VDRL <1/2 o RPR<1/4), se considera que se trata de una “*situación de cicatriz serológica*”, por lo que no requieren prueba confirmatoria, pues ésta será siempre positiva, ni requieren tratamiento adicional, pero sí “*seguimiento serológico*” para vigilar la posibilidad de reinfección.
- Si se considera el caso como “*cicatriz serológica*” se debe tener certeza de la aplicación de la medicación a través del registro en la historia clínica, donde se haya especificado la fase de la enfermedad, las dosis aplicadas con la fecha respectiva y el Servicio que supervisó la aplicación.
- Si hay dudas en lo anterior se considera como “*caso de sífilis gestacional*”. Para hablar de un falso positivo en una prueba no treponémica, se debe tener prueba treponémica confirmatoria negativa, independiente de los títulos de la prueba no treponémica.
- Otro escenario que podemos encontrar es el “*fenómeno prozona*”, el cual consiste en un resultado positivo débil que se observa hasta en un 2% de los infectados, a pesar de existir altos títulos en realidad; se presenta especialmente en la fase de sífilis secundaria. Para solventar estas situaciones, se deben realizar “*diluciones séricas mayores*” cuando existe sospecha fundada, como ocurre en las gestantes usuarias de drogas intravenosas o con otras enfermedades de transmisión sexual, entre otros.
- La “*respuesta serológica al tratamiento*” varía según el estadio de la sífilis en el que es tratada; la adecuada disminución de los títulos es importante, como criterio de curación y debe ser al menos dos diluciones en un tiempo de 6 meses tras finalizar el tratamiento en una sífilis primaria o secundaria.

- Sin embargo, en nuestro medio en embarazadas es más frecuente encontrar el “*estadio latente indeterminado*”; en éste y los estadios tardíos la disminución de los títulos es gradual, y puede tardar hasta un año la disminución en dos diluciones, por lo que la mayoría de las mujeres terminan la gestación antes de que la respuesta serológica pueda ser evaluada definitivamente. Por ello se recomienda el “seguimiento mensual durante la gestación”, especialmente en mujeres con alto riesgo de reinfección o en áreas geográficas donde la prevalencia de sífilis es alta; incluso aquellas con el antecedente de sífilis tratada adecuadamente antes de la gestación pero con “*serología reactiva*”, deben tener este seguimiento y continuar a los 3, 6, 12 y 24 meses, luego de terminar la gestación y el tratamiento.

Caso confirmado de sífilis congénita.

“*Así queda definido el fruto de la gestación (aborto, mortinato o nacido vivo)*” de madre con sífilis gestacional sin tratamiento o con tratamiento inadecuado, independientemente que el recién nacido presente o no signos de enfermedad y del resultado de las pruebas no treponémicas en éste.

En el diagnóstico del recién nacido juega un papel muy importante la información que se pueda obtener de la madre. Así, se deberán tener en cuenta: antecedentes y/o identificación de sífilis en la madre; edad gestacional en que fue tratada; con qué medicamentos; y si se completó el tratamiento.

El tratamiento de la gestante positiva es inadecuado cuando, se cumple una cualquiera, de las siguientes condiciones:

1. Terapia con un antibiótico diferente a la penicilina.
2. Tratamiento tardío: cuando el intervalo entre la aplicación de la última dosis de penicilina y la terminación de la gestación (parto o cesárea de gestación a término, pretérmino o aborto) es inferior a 30 días.
3. Tratamiento incompleto o inapropiado en dosificación e intervalo de aplicación, o sin registro o certeza de haberlo recibido.

El “tratamiento de la sífilis gestacional es efectivo” para prevenir la sífilis congénita, si su administración se ha “completado antes de las últimas cuatro semanas previas a la terminación de la gestación”.

Cuando en el tratamiento materno, la última dosis fue administrada “en las últimas cuatro semanas previas” a la terminación de la gestación, se considera (por criterio epidemiológico) que el recién nacido es un caso de sífilis congénita y debe tratarse como tal.

En el recién nacido hay que tener en cuenta que el diagnóstico de Sífilis Congénita basado en las pruebas no treponémicas y treponémicas “*es difícil*”, debido a la transferencia placentaria de anticuerpos (IgG) no treponémicos y treponémicos de la madre al feto; lo anterior dificulta la interpretación de serologías reactivas o positivas en el recién nacido, por lo que estas pruebas no confirman ni descartan la sífilis congénita (SC), pues pueden ser negativas si la madre presenta títulos bajos o si fue infectada al final de la gestación.

En el RN sospechoso de Sífilis Congénita nos podemos encontrar con resultados que pueden ser positivos, pero a expensas de los anticuerpos IgG transferidos desde la madre. Por ello, no se recomienda la realización sistemática de las pruebas treponémicas en el niño.

Las “pruebas no treponémicas” son muy útiles para el seguimiento y respuesta al tratamiento y son las pruebas que se deben utilizar en estos casos.

En caso de “sospecha epidemiológica” y con una prueba no treponémica no reactiva, se debe hacer seguimiento con la misma posteriormente.

Se han utilizado Elisa IgM y FTA Abs para diagnosticar sífilis congénita, sin embargo éstas tienen poca sensibilidad. La demostración de los “*treponemas*” por el campo oscuro o “*anticuerpos fluorescentes*” en muestras de lesiones mucocutáneas, de la placenta, de cordón umbilical o material de autopsia, se considera como diagnóstico confirmatorio.

Se ha considerado que cuando los títulos de las pruebas no treponémicas son mayores en el neonato que en la madre, éste está infectado. Lo contrario no es cierto, es decir, títulos menores que los de la madre en el neonato no descarta la sífilis congénita.

Se ha visto que sólo en 22% de los casos de Sífilis Congénita, los neonatos tuvieron títulos mayores que los de la madre.

Aunque todo “*neonato con títulos*” de RPR/VDRL cuatro veces mayores (4X), que los títulos de la madre o lo que equivale a un **cambio en dos diluciones o más** de los maternos (por ejemplo de 1/8 a 1/32) se considera criterio diagnóstico de SC; la relación entre los títulos no es un criterio que se tiene en cuenta en Protocolos para la notificación de caso de SC. (EDO).

La obtención de resultados positivos en los hijos de madres infectadas, puede representar la transferencia pasiva de anticuerpos o una respuesta específica frente a la infección congénita. Estas dos posibilidades se distinguen por determinar el “título de anticuerpos” en dos sueros del niño a lo largo de un periodo de 6 meses. El título de anticuerpos en los niños “no infectados”, disminuye hasta alcanzar valores indetectables

a los 3 meses de nacer, mientras que “permanece elevado” en los niños afectados por “sífilis congénita”.

1.14.VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH). (CIE-9^a=042-044);(CIE10^a=B20/B24)

En EE.UU. desde 1981 se detectaron casos sorprendentes de infección por *Pneumocystis jiroveci* (entonces designado *Pneumocystis carinii*), un hongo emparentado con las formas originales de los Ascomycetes, conocido por infectar a pacientes severamente inmunodeprimidos. Inicialmente se observó un grupo de casos semejantes en los que estaban implicados varones Homosexuales y donde aparecía a la vez infección por citomegalovirus y candidiasis. Se pensó primero que la causa debía estar ligada a prácticas comunes entre la población “homosexual” masculina.

Pronto empezaron a aparecer otros casos que afectaban a varones o mujeres heterosexuales usuarios de drogas intravenosas (UDVP) como la “heroína”, así como a sus hijos, y a ciudadanos de “Haití” ; también entre pacientes no homosexuales y con hábitos saludables que habían recibido transfusiones de sangre entera o de productos sanguíneos por su condición de “Hemofílicos”. Pronto se pensó, por criterios básicamente epidemiológicos, que la causa debía ser un agente infeccioso que se transmitía de forma semejante a como lo hace el virus de la hepatitis B (vía parenteral). Se describió como la enfermedad de las cuatro H (Homosexuales, Haitianos, Hemofílicos y Heroínómanos).

Distintos equipos empezaron a buscar un virus asociado a los casos conocidos de inmunodeficiencia adquirida, tal vez un Retrovirus como el que se sabía producía la inmunodeficiencia del gato o como el *HTLV*, productor de un tipo de leucemia. En 1983, en el Instituto Pasteur de París, un equipo dedicado a la investigación de la relación entre *Retrovirus* y cáncer dirigido por J.C. Chermann, F. Barré-Sinoussi y L. Montagnier, encontró un candidato nuevo viral al que denominó *lymphadenopathy-associated virus* LAV (virus asociado a la linfadenopatía).

En 1984 el equipo de R. Gallo, descubridor del *HTLV*, único retrovirus humano conocido entonces, confirmó el descubrimiento, pero llamando al virus *human T lymphotropic virus type III* (virus linfotrópico T humano tipo III, con las siglas HTLV-III). Se produjo una subsecuente disputa sobre la prioridad en la que quedó claro que Gallo había descrito el virus sólo después de haber recibido muestras de los franceses. Como parte de la resolución del conflicto, el virus adquirió su denominación definitiva, *human immunodeficiency virus* (*HIV*) que en castellano se expresa como *virus de la inmunodeficiencia humana* (*VIH*) y su enfermedad en su último estadio se denominó SIDA (síndrome de la inmunodeficiencia adquirida). Hoy 2015 se estima que en el Mundo 34 millones de seres humanos portan este virus.

En el mismo año, 1983, en que se identificó el virus, diversos equipos empezaron a trabajar en la secuencia de su genoma, publicada a principios de 1985, y comenzó también la caracterización de sus proteínas.

Como otros agentes causantes de enfermedades infecciosas emergentes, el VIH se conoce que pasó a los seres humanos por zoonosis, es decir por contagio desde otras Especies. La emergencia del SIDA y la identificación del VIH estimularon investigaciones que han permitido determinar que las variantes del VIH, forman parte de un amplio grupo de *Lentivirus* dentro de la subfamilia *Lentiviridae* (VIH 1 y VIH 2).

El VIH es sumamente parecido a un virus que atacaba a otros primates. Era el virus de inmunodeficiencia de los simios (*Simian immunodeficiency virus*, SIV), del que se conocen diversas cepas se transmiten por vía sexual [30]. A diferencia del VIH, el virus de los primates no causa inmunodeficiencia en los organismos que lo hospedan, salvo en el caso del salto de una Especie a otra distinta.

El VIH-1, responsable de la actual pandemia, ha resultado estar estrechamente relacionado con el SIVcpz, que infecta a poblaciones de la subespecie centroafricana del chimpancé común (*Pan troglodytes troglodytes*). El SIVcpz, a su vez, parece derivar por recombinación (un fenómeno que se produce fácilmente cuando infectan al mismo individuo dos cepas víricas diferentes) del SIVrcm, propio del mangabey de collar (*Cercocebus torquatus*), y del SIVgsn, propio del avoem (*Cercopithecus nictitans*).

Esta hipótesis es sostenida por el hecho de que tanto el VIH como las diversas cepas del SIV poseen el gen *vpu*, además de que se han reportado contagios por SIV entre humanos en África ecuatorial. Las distribuciones actuales de las especies implicadas se solapan, y de los chimpancés se sabe que cazan monos pequeños para comerlos, lo que habría facilitado la coinfección por cepas diversas de SIV.

La subespecie oriental del chimpancé, *Pan troglodytes schweinfurthi*, presenta también infección con una cepa propia del SIVcpz, pero genéticamente alejada del “clado” formado por el VIH-1 y las cepas de *P.t.troglodytes*. No se ha encontrado presencia del SIVcpz en la subespecie occidental, *P. t. verus*, aunque se observó el contagio en cautividad de un individuo de esta subespecie.

El salto de la barrera de Especie desde *P. t. troglodytes* a *Homo sapiens sapiens* se ha producido al menos tres veces, con variantes del VIH-1 que demuestran parentesco con distintas cepas, geográficamente más o menos localizadas, del SIVcpz. Así pues, el VIH-1 es un virus polifilético. El genotipo M (Main=principal) del VIH-1, responsable de la pandemia actual, debió pasar a los seres humanos en la primera mitad del siglo XX. Los genotipos O y N del VIH-1 están restringidos a África Occidental ecuatorial, con el grupo N presente sólo en Camerún. Con los datos actuales, parece claro que *Pan troglodytes troglodytes* es el reservorio, desde el que se han producido repetidamente las infecciones humanas por los virus de cuya evolución procede el VIH-1[30].

A su vez el VIH-2, extendido en África Occidental, procede del SIVsm, propio del mangabey fuliginoso (*Cercocebus atys atys*), que habita las selvas costeras desde Senegal hasta Costa de Marfil. El análisis filogenético muestra que el paso a los seres humanos, ha ocurrido también varias veces [31].

Los *SIV* identificados hasta ahora se encuentran de forma específica, y es en África donde parece tener su origen evolutivo este grupo monofilético de virus, genéticamente bien delimitado del resto de los *Lentivirus*. La prevalencia (frecuencia de la infección) es variable entre especies y poblaciones, aunque no superior al 30%, en las poblaciones afectadas de chimpancés, pero puede pasar del 50% en poblaciones de otros primates, como *Cercocebus atys*.

En todos los casos conocidos el virus parece encontrarse cerca del equilibrio con su huésped natural, como resultado probable de una más o menos larga coevolución, observándose generalmente sólo versiones muy atenuadas del síndrome de inmunodeficiencia, como una reducción limitada de linfocitos T CD4+, reducción que no compromete en general la vida del individuo, aunque en un ejemplar de *Cercocebus atys* se produjo un sida típico después de 18 años de incubación. Este dato hace pensar que, al menos en parte, es la baja longevidad, unida a una larga incubación, lo que hace que la inmunodeficiencia sobrevenida sea un resultado excepcional de la infección en monos [32].

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (*VIH*) es un *Lentivirus* (de la familia *Retroviridae*), causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Fue descubierto y considerado como el agente de la naciente epidemia de SIDA por el equipo de Luc Montagnier en Francia en 1983. El virión es esférico, dotado de una envoltura y con una cápside proteica. Su genoma es una cadena de ARN monocatenario que debe copiarse provisionalmente como ADN para poder multiplicarse e integrarse en el genoma de la célula que infecta. Los antígenos proteicos de la envoltura exterior se acoplan de forma específica, con proteínas de la membrana de las células infectables humanas, especialmente de los linfocitos T CD4. El proceso de conversión de ARN en ADN es una característica principal de los *Retrovirus* y se lleva a cabo mediante acciones enzimáticas de transcriptasa inversa. Con la demostración de la existencia de la transcriptasa inversa, se inició en la década de 1970 la búsqueda de los *Retrovirus* humanos, lo que permitió el aislamiento en 1980 del virus de la leucemia de células T del adulto, *HTLV-I* (*R. Gallo y cols.*).

El *VIH* tiene un diámetro de aproximadamente 100 nanómetros. Su parte exterior es la "cubierta", una membrana que originalmente pertenecía a la célula de donde el virus emergió. En la cubierta se encuentra una proteína del virus, la gp41, o "glicoproteína transmembrana". Conectada a la gp41, está la gp120, la cual puede unirse al receptor CD4 localizado en la superficie de los linfocitos T para penetrar en ellos. El núcleo está rodeado por la "cápside", compuesta por la proteína p24. En su interior está el ARN, la forma de información genética del *VIH*.

Clasificación.

El virus de inmunodeficiencia humana forma parte de la subfamilia *Lentiviridae* [33] Estos se incluyen dentro de la Familia *Retroviridae*. [34] Los virus de este grupo

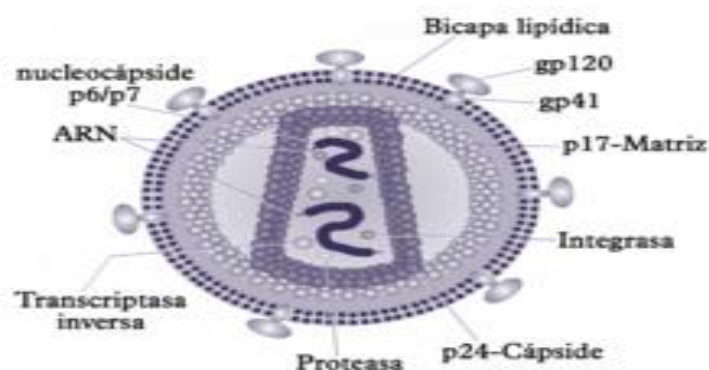
poseen propiedades morfológicas y biológicas comunes. Varias especies biológicas son atacadas por los Lentivirus, cuya característica principal consiste en un período de incubación prolongado, que desemboca en enfermedad después de varios años [35].

Desde su ingreso a la célula hospedadora, la cadena simple de ácido ribonucleico (ARN) viral comienza su transformación en una doble cadena de ácido desoxirribonucleico (ADN) por acción de la enzima viral transcriptasa inversa, que forma parte del virus. La “integrasa” y otros cofactores actúan para que el ADN del virus, se integre en el ADN de la célula hospedadora [36] a través de la transcripción en el genoma de la célula humana que aloja al virus. De esta manera, la célula queda infectada por el virus. Después de este proceso, los Lentivirus reaccionan de dos maneras posibles: puede ocurrir que el virus entre “*en latencia*” mientras la célula infectada continúa en funciones o bien, que el virus comience a “*replicarse activamente*” y libere la célula infectada viriones capaces de infectar otras células.

Existen dos tipos del VIH, llamados VIH-1 y VIH-2. El primero de ellos corresponde al virus descubierto originalmente, que recibió los nombres de LAV y HTLV-III por parte de los dos equipos que estaban investigando el agente etiológico del SIDA durante la primera mitad de la década de 1980. El VIH-1 es más virulento e infeccioso que el VIH-2 [37] y es el causante de la mayoría de infecciones por VIH en el mundo. El VIH-2 es menos contagioso y por ello se encuentra confinado casi exclusivamente a los países de África occidental [38].

Estructura.

Figura 1. Estructura VIH



El VIH comparte con los retrovirus las características esenciales de esa familia. El virión contiene información genética bajo la forma de ácido ribonucleico (ARN), protegido por una envoltura de membrana. Los retrovirus insertan su información genética en las células hospedadora por acción de la “transcriptasa inversa”.

Un virión del VIH tiene una forma aproximadamente esférica con un diámetro de 80-100 nm. Está constituido por tres capas. La exterior es una bicapa lipídica. Posee

72 prolongaciones formadas por las glicoproteínas *gp120* y *gp41* que actúan en el momento de la unión del virus, a la célula hospedadora. La capa intermedia está constituida por la nucleocápside icosaédrica. La estructura interior tiene forma de un cono truncado. Está constituida por el ARN viral de cadena positiva con aproximadamente 9 kilobases (9.000 pares de bases) y la nucleoproteína. La cadena genética del VIH está constituida por un ARN de cadena simple compuesto por dos filamentos idénticos. El ARN contiene varios genes, cada uno de los cuales codifica las diversas proteínas que el VIH necesita para reproducirse.

Genoma del VIH-1.

Los genomas del *VIH-1* y *VIH-2* son muy similares. Ambos están compuestos por los tres genes básicos de la familia de los *retrovirus*. Se trata de los genes *gag*, *pol* y *env*. Cada uno de estos genes codifica proteínas que ayudan a la replicación del virus. El genoma del VIH posee otros genes adicionales: *tat*, *rev*, *vpu* (*vpx* en el caso del VIH-2), *vif* y *nef*.

- **Genes estructurales**

Las proteínas estructurales son codificadas por los genes *gag* (antígeno específico de grupo), *pol* (polimerasa, proteasa, integrasa) y *env* (envoltura), y su secuencia cubre la mayor parte del genoma viral, quedando sólo una parte menor para el resto de los genes.

El gen *gag* es traducido a una proteína precursora, la *p55*, que luego se asocia, durante la gemación por la que se liberan nuevas partículas víricas desde de la célula infectada, a dos copias del ARN viral, para el que presenta una región afín, y a otras proteínas virales y celulares. Una *proteasa*, producto del gen *pol* corta durante la maduración del virión la *p55* en cuatro proteínas que se incorporan a sus lugares respectivos:

- La proteína *p24* forma la cápside.
- La proteína *p17* constituye la matriz, situada bajo la envoltura, a la que estabiliza. Una parte de las proteínas se unen al complejo molecular que acompaña al ADN viral al interior del núcleo. En la superficie de la proteína existe una región cariofílica (afín al núcleo) que es reconocida por la maquinaria molecular de importación nuclear. Éste es el mecanismo que permite al *VIH* infectar células diferenciadas, no destinadas a dividirse, algo que no ocurre en ningún otro retrovirus.
- Las proteínas *p6* y *p7* (ó *p9*) forman la nucleocápside. La región de la *p55* correspondiente al polipéptido *p6* es responsable de la incorporación de la proteína accesoria *Vpr* (producto de la traducción del gen *vpr*) al virión en formación y de la interacción con la membrana de la célula que hace posible la

gemación. La *p7* (*p9*) es responsable del reconocimiento y la incorporación del ARN al virión y además interviene en la transcripción inversa facilitándola.

Dentro de la cápside, además de las dos copias idénticas del ARN viral hay ejemplares de tres enzimas necesarias para la multiplicación del virus: una *transcriptasa inversa*, una *integrasa* y una *proteasa*. Estas enzimas, así como una ARNasa se producen a partir de la proteína *Pol*, después del corte de una proteína precursora mixta derivada de la cotraducción, una de cada 20 veces, de los genes *gag* y *pol*.

La propia proteasa vírica rompe la proteína anterior, con una eficiencia limitada, para obtener las proteínas *Gag* (*p55*) y *Pol*. Luego la proteína precursora *Pol* es cortada a su vez para formar las cuatro proteínas funcionales citadas:

- La *proteasa* (*p10*). Se trata de una aspartil-proteasa cuya forma funcional es un dímero del que se conoce la estructura tridimensional. Actúa cortando las piezas de las proteínas *Gag*, *Pol* y de la *Gag-Pol*. Una parte de los fármacos empleados contra el VIH son inhibidores de su función (Tipranavir, Darunavir, Ritonavir, Lopinavir, Fosamprenavir, Saquinavir, Atazanavir....)
- La *transcriptasa inversa* (*p50*) cuya función es la síntesis del ADN de doble cadena del provirus usando como patrón la cadena singular del ARN viral. Es una ADN-polimerasa que puede actuar como dependiente del ADN tanto como del ARN. Una vez formada la “*primera cadena de ADN complementaria*” del ARN viral, la ARNasa lo separa de él, lo que permite a la transcriptasa inversa ejecutar la síntesis de la segunda cadena de ADN tomando como molde la primera que se formó. Así pues, para la síntesis de la primera cadena la actividad de la transcriptasa inversa es ARN-dependiente, pero para la de la segunda es ADN-dependiente. También existen múltiples fármacos contra la actividad de la transcriptasa inversa (análogos de nucleósidos inhibidores de la transcriptasa inversa, NRTI (Zidovudina, Didanosina, Lamivudina, Estavudina, Abacavir; Tenofovir) y inhibidores no nucleósidos de la misma-NNRTI como Nevirapina, Efavirenz, Etravirina y Rilpivirina que se utilizan como fármacos antirretrovirales en clínica humana.
- La *ARNasa* (*p15*), que como se ha dicho separa las cadenas de ARN, de las de ADN durante la transcripción inversa.
- La *integrasa* (*p31*) realiza la inserción del ADN proviral en el genoma de la célula huésped. No se requiere ATP para su actividad y debe cumplir sucesivamente tres funciones:
 - Con una “actividad exonucleasa” corta dos nucleótidos del extremo 3' de cada una de las dos cadenas del ADN proviral.
 - Con una “actividad endonucleasa” (de doble cadena) corta el ADN del huésped en el punto de integración. No hay un lugar fijo en el genoma

para que esto se realice, sino que ocurre en cualquier región muy accesible de la cromatina, lo que se supone que favorece la expresión del provirus, al coincidir esas regiones del genoma con las más transcritas.

- Por último, con una “actividad ligasa” el ADN proviral es soldado, mediante sólo un enlace covalente en cada extremo, en el ADN celular.

En la actualidad existen fármacos comercializados contra la actividad de la Integrasa (Raltegravir, Elvitegravir y Dolutegravir) para uso en clínica humana.

La “**envoltura**” se basa en una bicapa lipídica, lo mismo que cualquier membrana biológica, y sus componentes estructurales básicos proceden de la membrana plasmática de la célula parasitada. Pero la envoltura porta además regularmente espaciadas 72 espículas, que son complejos proteicos integrados en la membrana formados por proteínas virales codificadas por el gen *env*. Cada espícula está formada por una pieza de la proteína *gp41*, integral en la membrana, y una cabeza externa formada por la proteína *gp120*, esencial para el acoplamiento con el exterior de ciertas células previo a su invasión. Entre los dos componentes de las espículas existe una unión no covalente.

Las proteínas *gp41* y *gp120* se sintetizan como una sola poliproteína, *gp160* con la información del gen *env* antes de que sea cortada, por una proteasa de la célula.

La proteína *env* existe como trímero en la superficie de los viriones y las células infectadas.

Los fármacos Inhibidores de la Fusión funcionan contra la proteína *gp41*, para evitar su unión a los linfocitos.

Contra el correceptor CCR-5 se dispone del fármaco Maraviroc, que es inhibidor de la entrada viral, bloqueando la unión de la “gp-120” del virus con el correceptor citado.

Proteínas reguladoras.

La proteína “*tat*” existe en dos formas, una larga, de 101 restos aminoácidos de longitud, y otra más corta, de sólo 72. La segunda se produce cuando en fase temprana se produce una edición completa del ARNm viral, la primera cuando en una fase más tardía sólo se realiza una edición parcial. La proteína *tat* (por *transactivator*) es imprescindible para la producción de nuevos viriones, que promueve activamente. La proteína se une a una región de 59 nucleótidos situada en el extremo 5' del ARN viral llamada TAR (*Transactivator Active Region*) y actúa como un transactivador, algo excepcional, puesto que éstos suelen unirse al ADN, no al ARN. En cuanto este extremo

inicial del genoma viral ha sido transcrito desde el ADN proviral, la proteína *tat* se une a él y promueve su elongación favoreciendo la transcripción del resto de la cadena.

La proteína “*rev*” regula la expresión del ARN viral controlando el ritmo de exportación del ARNm. - *tat* y *rev*: acción conjunta.

La acción sinérgica de *tat* y *rev* fuertemente incrementa la expresión de proteínas virales. Los papeles que *tat* y *rev* desempeñan en la regulación transcripcional del *VIH-1* y en la expresión de proteínas estructurales, respectivamente, hacen *tat* y *rev* esenciales para el ciclo de vida del *VIH*.

Sus funciones facilitan la expresión de proteínas virales en dos etapas. Después de la integración del ADN proviral y de su transcripción en un nivel basal, solamente los RNAs de 2 KB se transportan al citoplasma.

Esto permite la síntesis de *tat*, *rev* y de *nef*, *tat* y *rev* que entonces son transportadas al núcleo, donde actúan para aumentar la transcripción del ADN del provirus (*tat*) y del transporte de todos los RNAs virales al citoplasma (*rev*). La expresión de proteínas codificada por las clases de RNA de 9 KB y 4 KB (*Gag*, *Gag-Pol*, *Env*, *Vpr*, *Vif*, y de *Vpu*) puede entonces ocurrir. Estudios donde se han mutado genes virales han determinado que *Vif*, *Vpr*, *Vpu* y *Nef* no son esenciales para la producción de partículas infecciosas en cultivos celulares "in-vitro". Sin embargo, la conservación de dichas proteínas accesorias en el genoma del *VIH* sugiere que todas, desempeñan papeles importantes durante el ciclo infeccioso en el huésped. Los roles de estas proteínas son descritos a continuación.

Proteínas accesorias y su importancia:

Vif: incremento en infectividad y protección del genoma viral.

Vif es una proteína de 193 aminoácidos que está presente en bajos niveles dentro de los viriones, e interactúa con el RNA genómico viral. La división de esta proteína reduce la infectividad del *VIH-1* en cultivos celulares y en modelos animales de patogénesis.

No obstante, el mecanismo de acción de *Vif* se ha empezado a entender recientemente. La ausencia de *Vif* en partículas infecciosas no puede ser compensada con la expresión de *Vif* en las células infectadas. Estudios recientes han demostrado que *Vif* es requerida para eliminar la acción del factor ApoBEC3G, la cual es una deaminasa de citidinas, que convierte la citosina en uracilo, y emplea como sustrato el ADN de cadena sencilla. Además, esta enzima posiblemente actúa durante el ciclo de la transcriptasa inversa, modificando así la cadena negativa del DNA, porque esta es la fase en la cual el ADN de cadena sencilla está disponible.

ApoBEC3G es selectivamente incorporada dentro de las partículas de *VIH*, resultando en un alto nivel de mutaciones en el genoma viral. Dado que estos altos

niveles de mutación son perjudiciales para la viabilidad del virus, *VIH* ha evolucionado una estrategia para abolir esta poderosa barrera. Sin embargo, estudios recientes sugieren que ApoBEC3G no requiere su acción enzimática para tener efecto. Estudios más recientes han implicado a ApoBEC3G como que tiene un rol en la inhibición de ciertas fases en el ciclo de la transcriptasa inversa.

Vpu: facilita el desprendimiento de viriones en células infectadas.

Vpu: es una proteína de 81 aminoácidos que es insertada en membranas vía su terminal nitrogenado. *Vpu* se acumula en el aparato de Golgi y en endosomas celulares. *Vpu* es única en *HIV-1* y no hay homólogos en lentivirus relacionados como el *VIH-2* y el *VIS*. A *Vpu* se le han atribuido dos actividades.

Respecto a la Degradación de la proteína CD4 comentamos que en la ausencia de *Vpu*, la proteína CD4 de la célula huésped interactúa con la proteína viral gp160 recién sintetizada, para formar un complejo insoluble, el cual retiene gp120 dentro de la *célula*. La región citoplásmica de *Vpu* se puede unir con CD4 y con la proteína β -TrCP. Esto induce la ubiquitinización de CD4 y su subsiguiente degradación por el *proteasoma*, incrementando así la expresión de gp120 en la superficie celular.

Ciclo de Replicación.

Las células que el *VIH* invade son esencialmente los “*linfocitos T CD4+*”, pero también en menor medida los monocitos/macrófagos, las células dendríticas, las células de Langerhans y las células de microglía del cerebro. La *replicación viral* tiene pues lugar en tejidos diversos (de ganglios linfáticos, intestino, cerebro, timo,...). Los órganos linfoides, sobre todo los ganglios linfáticos, constituyen la principal sede de su replicación. El virus está presente en numerosos líquidos del organismo, y en particular la sangre y las secreciones genitales.

La replicación del virus se desarrolla en las siguientes etapas:

Fijación. Representa la primera etapa en la invasión de una célula. Se basa en el reconocimiento mutuo y acoplamiento de proteínas de la envoltura del virión, las gp120 y gp41, y los receptores de los CD4. Este reconocimiento no es posible sin ayuda de “correceptores propios de las células susceptibles de ser invadidas”; en el caso de los macrófagos son los CCR5 y en el caso de los Linfocitos T4, los CXCR4, que interactúan con la proteína superficial viral. Macrófagos y LT4 tienen en común su principal receptor: el receptor CD4. Este reconocimiento es condición obligada para que el virus llegue a penetrar en la célula y continuar con el proceso de infección.

Penetración. Es el segundo paso, una vez reconocido el virión por los receptores, se vacía dentro de la célula, “fusionándose la envoltura lipídica del virión con la membrana plasmática de la célula”. Protegidos por la cápside y las nucleocápsides, los dos ARN mensajeros que forman el genoma viral y sus proteínas asociadas se encuentran ahora en el citoplasma. Luego ocurre la eliminación de las

cubiertas proteicas, cápside y nucleocápsides, quedando el “ARN vírico libre en el citoplasma” y listo para ser procesado.

Tras la liberación intracitoplasmática, ocurre la transcripción inversa del ARN vírico para formar ADNc (ADN complementario, monocatenario) con la misma información y así detallamos que cada una de las dos moléculas de ARN llega desde el virión asociada a una molécula de “*transcriptasa inversa*” que se ocupa del proceso. Las dos moléculas de ADNc se asocian para formar una molécula de ADN, que es la forma química de guardar la información que una célula eucariota es capaz de procesar, luego tiene lugar la Integración del genoma vírico en el genoma de la célula huésped y por ello penetra en el núcleo y se inserta en el ADN celular con ayuda de una “*integrasa*”, que procede del virión infectante.

La transcripción del ADN vírico por los mecanismos normales de la célula receptora es como resultado de la transcripción en un ARNm (ARN mensajero). El ARNm obtenido es complejo, constituido por una sucesión de intrones (partes no informativas) y exones (partes informativas). Debe ser procesado por cortes y reempalmes antes de que la información que contiene pueda servir para fabricar las proteínas correspondientes. Una vez procesado, el ARNm puede salir del núcleo a través de los poros nucleares hacia el citoplasma.

Traducción. Una vez en el citoplasma el ARNm proporciona la información para la traducción, es decir, la síntesis de proteínas, que es realizada a través del aparato molecular correspondiente, del que forman la parte fundamental los ribosomas. El resultado de la traducción no consiste inmediatamente en proteínas funcionales, sino en “poliproteínas” que aún deben ser cortadas en fragmentos. Por acción de proteasas específicas del VIH, las poliproteínas producto de la traducción son procesadas, cortándolas, para formar las “proteínas constitutivas” del virus. Las proteínas víricas fabricadas se ensamblan, junto con ARN provirales, para formar los componentes internos de la estructura del virión, los que constituyen la cápside y su contenido.

Gemación. El último paso, ocurre cuando los nucleótidos víricos se aproximan a la membrana plasmática y se hacen “envolver” en una vacuola que termina por desprenderse, formando un “nuevo virión” o partícula infectante. En cada célula infectada se ensamblan varios miles de nuevos viriones, aunque muchos son incompletos y no pueden infectar.

La infección por VIH se presenta en diversas etapas, identificadas por un conjunto de síntomas e indicadores clínicos. En ausencia de un tratamiento adecuado, el virus se replica constantemente e infecta los linfocitos T-CD4, que constituyen una parte esencial del sistema inmunológico en los seres humanos. Por su parte, el sistema inmunológico del portador del VIH reacciona ante la presencia del virus y genera una respuesta que puede mantener la infección bajo control al menos por un tiempo, mediante la reposición de células defensivas. Al término de un período que se puede prolongar por varios años, el VIH se vuelve resistente a las defensas naturales del cuerpo y destruye el sistema inmune del portador. De esta manera, la persona

seropositiva queda expuesta a diversas enfermedades oportunistas y puede fallecer como consecuencia de su daño especialmente en su respuesta inmune de tipo celular.

El estadio de la enfermedad y su pronóstico y la eficacia de la respuesta de una terapia antiviral con antirretrovirales se mide bien, con una combinación de dos parámetros que citamos:

- Cuantificación de población de linfocitos T CD4/mL en el individuo afectado, que se determina mediante citometría de flujo.
- Cuantificación de la carga viral (copias/mL), mediante PCR cuantitativa en plasma y que expresa la viremia en el enfermo.

Fase aguda en la infección por VIH.

La fase de la infección aguda por *VIH* se inicia en el momento del contagio. El virus se propaga por el cuerpo de la persona contagiada a través de sus fluidos corporales. En un plazo de días, el *VIH* infecta no sólo las células expuestas inicialmente (por ejemplo, las células de la mucosa vaginal o rectal en el caso de una infección por vía sexual) sino también los ganglios linfáticos. Durante ese tiempo, el *VIH* se multiplica dentro del organismo hasta alcanzar con el tiempo de evolución niveles propios de infección crónica. El tejido linfoide asociado a los intestinos constituye uno de los principales espacios del cuerpo humano donde tiene lugar la reproducción inicial del *VIH* por su alto porcentaje de linfocitos T CD4.

Un porcentaje importante de personas que contraen el virus no presenta síntomas de la infección en su fase aguda. Es decir, son pacientes asintomáticos. Sin embargo, se calcula que entre el 40/50%-90% o hasta el 80% de los casos de contagio con VIH-1 presentan manifestaciones clínicas. El cuadro de la infección aguda es similar al de una mononucleosis infecciosa: fiebre, malestar muscular, inflamación de los ganglios, sudoración nocturna, diarrea, náuseas y vómito. La gran mayoría de los seropositivos no reciben diagnóstico del cuadro agudo de la infección por *VIH*, pues son síntomas inespecíficos compartidos por varias enfermedades. Por lo tanto, presentar un conjunto de síntomas como el descrito aquí, no es indicador necesario de que una persona se haya infectado por *VIH*, aunque es recomendable que quien considere que ha estado expuesto al contagio y presente los síntomas, acuda al médico para recibir atención médica diagnóstica. El cuadro de la infección aguda por *VIH* aparece entre dos y seis semanas después de la exposición al virus, y desaparece unos pocos días después.

El VIH ataca principalmente los linfocitos T CD4+, que forman parte del sistema inmune de los seres humanos. Aunque estas células por sí mismas no tienen una función de ataque contra células extrañas al cuerpo, tienen un papel importante en la respuesta inmunológica adaptativa. En una persona con buena salud, el número de linfocitos T CD4+ oscila entre 1.200 y 500/ μ L de sangre. Durante la fase asintomática

de la infección, la proporción de linfocitos infectados 1/1.000 y 1/100.000, y aumentará progresivamente hasta llegar a 1/100 en la infección crónica. Durante la fase precoz de la infección, las pruebas de Laboratorio pueden ser negativas porque no detectan directamente el *VIH*, sino los anticuerpos producidos como respuesta por el sistema inmune, lo que ocurre alrededor de la 12^a semana después de la exposición. En contraste, las pruebas de carga viral, que contabilizan el número de copias del ARN del virus en la sangre, arrojarán como resultado una elevada cantidad de copias del *VIH* durante la fase aguda de la infección, expresión de 1^a viremia.

Fase crónica.

La fase crónica de la infección por *VIH* se suele llamar también *latencia clínica* porque “el portador es asintomático”, es decir, no presenta síntomas que puedan asociarse con la infección. Esto no quiere decir que el virus se encuentre inactivo. Por el contrario, durante la fase crónica el *VIH* se multiplica incesantemente. Se calcula que, en un sujeto infectado, diariamente se producen entre mil y diez mil millones de nuevas partículas virales y son destruidos alrededor de cien millones de linfocitos T CD4. Los pacientes son asintomáticos porque el sistema inmune, tiene una gran capacidad para regenerar las células destruidas por el virus, pero pueden presentar adenopatías y la disminución del recuento de plaquetas en la sangre.

La reacción ante la presencia del virus evoluciona en estadios clínicos A, B y C, y termina por desgastar al sistema inmunológico. En ausencia de tratamiento, la mayoría de los portadores del virus desarrollan el Síndrome de Inmuno Deficiencia Adquirida (SIDA) en un plazo de 5 a 10 años. La causa de esto es que, mientras el virus sigue reproduciéndose de manera constante y aumenta la carga viral en el infectado, disminuye también la capacidad de recuperación del sistema inmune dando ocasión para la aparición o emergencia de enfermedades bacterianas, víricas, fúngicas, parasitarias o neoplásicas indicadoras del estadio clínico concreto que puede terminar en SIDA. Hoy, con la aplicación de TARGA (terapia antirretroviral de gran actividad), los enfermos pueden estabilizarse clínicamente pero continúan siendo fuente de infección y contagiosos.

Epidemiología.

El *VIH* se ha convertido en una epidemia de dimensiones mundiales. El Programa Conjunto de Naciones Unidas sobre el VIH/sida (Onusida) coordina esfuerzos internacionales de científicos, gobiernos, iniciativa privada y organizaciones civiles dirigidos a actuar sobre la epidemia del VIH y sus efectos. Onusida observa el desarrollo epidemiológico de la infección por VIH en todo el mundo y emite un Informe sobre la situación de la epidemia cada dos años. Los informes de Onusida recopilan los datos provenientes de todos los Países y dan una visión general de la evolución de la pandemia, sus efectos sociales y las estrategias adoptadas para controlarla.

Al inicio de esta Tesis, mundialmente, el modo más común de propagación del VIH sigue siendo la transmisión heterosexual [39]. Entre 1981 y 2007, el SIDA había causado la muerte de aproximadamente 25 millones de personas alrededor de todo el mundo. En ese mismo año, 33 millones (30-36 millones) de personas estaban contagiadas con VIH. La epidemia se ha estabilizado en cuanto que no ha aumentado la proporción de personas infectadas respecto a la población total. Además se ha observado una reducción del total mundial de nuevos casos de infección por VIH, de 3 millones (2,6-3,5 millones) en 2002 a 2,7 millones (2,2-3,2 millones) en 2007.

La región más afectada por la pandemia es el África subsahariana, donde radican 21,5 millones (20,5-23,6 millones) de seropositivos. Esta cifra representa casi tres cuartos del total de casos calculados para todo el mundo. Esta Región del mundo también presenta los índices más altos de mortalidad por SIDA y concentra el mayor número de nuevos contagios.

Vamos a mencionar, sobre los mecanismos de transmisión de este virus, algunas consideraciones que estimamos de interés en nuestro medio.

El VIH sólo se puede transmitir a través del contacto entre fluidos corporales que poseen una alta concentración viral. El virus no se transmite de manera casual. De acuerdo con los CDC de Estados Unidos, no se han encontrado casos en que abrazos, besos secos o saludos con las manos hayan sido causantes de infección. El virus ha sido aislado en la saliva, las lágrimas, la orina, el semen, el líquido preseminal, los fluidos vaginales, el líquido amniótico, la leche materna, el líquido cefalorraquídeo y la sangre, entre otros fluidos corporales humanos (Tabla 4).

Tabla 4. Vías de transmisión del virus.

| Riesgo estimado de adquisición del VIH según el tipo de exposición | |
|---|---|
| Tipo de exposición | Nº estimado de infecciones por cada 10.000 exposiciones a una fuente infectada |
| Transfusión de sangre | 9.000 |
| Parto | 2.500 |
| Inyección de droga- | 67 |
| Coito anal receptivo* | 50 |
| Aguja de laboratorio percutánea | 30 |
| Coito vaginal recept.* | 10 |
| Coito anal insertivo* | 6,5 |
| Coito vaginal insertivo* | 5 |
| Felación receptiva* | 1 |
| Felación insertiva* | 0,5 |

* Sin uso de preservativo

Las tres principales formas de transmisión son:

- **Parenteral (por sangre).** Es una forma de transmisión a través de jeringuillas contaminadas que se da por la utilización de drogas intravenosas o a través de atención sanitaria deficiente o intrusos, como ha ocurrido a veces en países pobres que no usan las medidas de higiene y esterilización durante la realización de *piercings*, tatuajes y escarificaciones. También en personas que han recibido una transfusión de sangre contaminada o productos contaminados derivados de la sangre; y en menor grado trabajadores de atención de la salud que estén expuestos a la infección en un accidente de trabajo como puede ocurrir si una herida entra en contacto con sangre contaminada de forma percutánea
- **Sexual (acto sexual sin protección):** Enfermedad de transmisión sexual. La transmisión se produce por el contacto de secreciones infectadas sobre la mucosa genital, rectal u oral de la otra persona.
- **Vertical (de madre a hijo).** La transmisión puede ocurrir durante las últimas semanas del embarazo, durante el parto, o al amamantar al bebé.

De estas situaciones, el parto es la más problemática. Actualmente en países desarrollados la transmisión vertical del VIH está totalmente controlada (siempre que la gestante conozca que es portadora del virus), ya que desde el inicio del embarazo (y en ciertos casos con anterioridad incluso), se le da a la embarazada un Tratamiento Anti-Retroviral de Gran Actividad (TARGA) especialmente indicado para estas situaciones, el parto se realiza por cesárea generalmente, se suprime la lactancia, e incluso se da tratamiento antiviral al recién nacido por especialista en Pediatría Infecciosa Neonatológica.

1.15. VIH EN GESTANTES.

A “solicitud del Servicio de Obstetricia” podemos practicar estudio analítico a la gestante. Se practica prueba de detección de anticuerpos contra el VIH mediante el cual se verifica la existencia de “*anticuerpos contra* ” ese virus en la sangre. Cuando el organismo tiene el *VIH*, el sistema inmunitario produce anticuerpos contra ese virus. En la transmisión materno-infantil del VIH hay propagación del VIH de una madre seropositiva a su feto durante el embarazo, el parto, o por medio de la lactancia materna.

La prueba de detección del VIH se recomienda para todas las mujeres embarazadas. Se ofrece con opción de que la embarazada pueda rechazarla. En el embarazo “se debe ofrecer” la opción de la “determinación de Ac. VIH a toda la embarazada” y con mayor atención a las que ofrezcan “*alguna practica de riesgo*”. Quienes la acepten necesitarán firmar un formulario de consentimiento para someterse a la misma o lo habrán expresado a su Facultativo solicitante del análisis.

En los lugares donde existe la opción de rechazar (la prueba se incluye automáticamente como parte de la atención prenatal ordinaria), las mujeres gestantes que la rechazan, deben pedir específicamente que no se les haga y firmar un formulario en el cual la rechazan.

En nuestro Hospital de Jerez, para el Control y la Prevención de Enfermedades Infecciosas durante el embarazo, se recomienda que, a todas las mujeres embarazadas “se les ofrezca”, la prueba del VIH con opción de poder rechazarla si no lo desea, independientemente pertenezcan a un grupo de prácticas de riesgo o no.

Indudablemente son muchos los beneficios de la prueba de detección del VIH para las mujeres embarazadas y más si la gestante tiene algún factor de riesgo.

Una gestante que sabe al comienzo del embarazo que es VIH positiva, tiene más tiempo para tomar decisiones importantes. Ella, su médico o matrona tendrán más tiempo para decidir cuál es la forma más eficaz de proteger su salud y de prevenir la transmisión materno infantil del VIH. También puede tomar medidas para evitar la transmisión de ese virus a su pareja sexual.

La forma más común de detectar si una gestante posee y/o está afectada por el VIH es realizarle la analítica en el Laboratorio del Hospital para la “detección de anticuerpos contra el VIH”.

Los anticuerpos contra el VIH son un tipo de proteína que produce el organismo en respuesta a ese virus. En esa “*1ª prueba presuntiva*”, se buscan anticuerpos contra el VIH en la sangre. Cuando el resultado es positivo, se deben realizar otras pruebas diferentes de anticuerpos, para confirmar que la persona tiene realmente serología

positiva confirmada de VIH. Esta última se denomina “*prueba confirmatoria*” (Western-blot) que determinan la presencia de anticuerpos específicos frente a antígenos víricos (p24 ó p31) y glucoproteínas (gp41 y gp120-160) del VIH. Para poder emitir un diagnóstico del VIH validado como positivo, la prueba confirmatoria debe dar siempre resultados positivos. Tras ello una gestante se debe realizar una “*prueba de carga viral*”, para determinar el número de partículas virales circulantes en gestante infectadas.

Por lo general, los resultados de una “prueba presuntiva de detección” de anticuerpos contra el *VIH* tardan solo unas horas. Los resultados de una “prueba confirmatoria de detección” del *VIH* pueden tardar más tiempo en días. Por lo común, las personas reciben los resultados durante una de las Consultas de revisión. Las pruebas positivas, se complementan posteriormente con “test de detección genómica y la cuantificación por técnicas como la PCR”, así como de resistencia a antirretrovirales. Se sigue con el recuento de células T CD4 (células/ μ L ó %). La determinación de la carga viral, y de recuento CD-4 permite controlar la evolución de la enfermedad y la eficacia del tratamiento en cada caso.

Las mujeres embarazadas con resultados positivos en la prueba de detección del VIH tienen muchas opciones para mantenerse y proteger a sus bebés contra ese virus. Lo habitual es recomendar que las mujeres seropositivas tomen medicamentos contra el VIH para prevenir la transmisión materno-infantil del virus y, para proteger su propia salud.

Hay casos en los que la embarazada se niega a que se le realice la prueba de detección del *VIH*, en ese caso no se le realiza esa prueba. La prueba de detección del *VIH* en gestante, es muy importante que los facultativos asistenciales y matronas recalquen una y otra vez la importancia de hacérsela, principalmente en aquellas “embarazadas con factores o prácticas de riesgo” Se le puede ofrecer orientación sobre la forma en que se propaga el *VIH* y la manera de prevenir su transmisión. Durante el embarazo, su Tocólogo o Matrona pueden animarla a reconsiderar su decisión de no someterse a la prueba y explicarle las ventajas de realizársela, e igualmente los inconvenientes que pudieran acarrear tanto para ella como para el futuro hijo, si no se realiza una prueba, que pudiera ser positiva, por sus factores de riesgo, tanto para ella, madre embarazada, como para el futuro recién nacido.

Las normas del “Documento de Consenso de la SEGO” para el seguimiento de la infección por el VIH en relación con “La Reproducción, Embarazo, Parto y Profilaxis de la transmisión vertical del niño expuesto” de Marzo de 2013, especifica que hemos de perseguir en la mujer “gestante infectada con VIH”, la prevención de la transmisión vertical, y por ello es fundamental hacer un diagnóstico precoz y aplicar tratamiento antirretroviral en toda gestante seropositiva.

Es fundamental que toda mujer embarazada o que planifique su embarazo y que “tenga algún factor de riesgo”, conozca su condición de infectada o no.

La serología en mujeres “con factor de riesgo”, se debe realizar siempre en la primera visita, tras informar adecuadamente a la gestante.

La infección por el *VIH* tiene una gran repercusión sobre la reproducción. Desde el momento de la concepción, por el riesgo de transmisión sexual, hasta la posible infección del niño y su necesidad de tratamiento. Por ello debemos identificar a la gestante seropositiva y tratar de evitar la transmisión materno-fetal.

Hoy, si identificamos la infección en la embarazada, puede prevenirse, casi en su totalidad, la transmisión de la madre al niño

El *VIH* se transmite de una persona gestante a otra por medio de sus humores corporales específicos, como la sangre, las secreciones genitales y la leche materna. Las relaciones sexuales sin protección o el uso compartido de aguja desde una persona con el *VIH* son las formas más comunes de transmisión de este virus en nuestro medio. Ocurre transmisión materno-infantil del *VIH* cuando una mujer seropositiva lo transmite a su feto durante el embarazo, el trabajo de parto y el parto, o durante la lactancia materna. Puesto que el *VIH* puede transmitirse por medio de la leche materna, las mujeres seropositivas “*no deben amamantar a sus hijos*”. En los Países Desarrollados, la lactancia artificial segura es un sustituto seguro y sano de la leche materna.

El *VIH* no se transmite por medio de contacto casual, como un abrazo o un beso con la boca cerrada. Tampoco se puede transmitir por medio de objetos como los asientos de la taza del baño, las agarraderas de las puertas o los platos empleados por una persona seropositiva embarazada, si se aplican elementales medidas de higiene.

Asimismo, conviene saber que los recién nacidos, de madres con *VIH*, suelen tener anticuerpos del *VIH* procedentes de la madre, lo que no significa que tengan el virus. Por este motivo, las pruebas de Laboratorio habituales para diagnosticar la infección por *VIH* (ELISA, Western-Blot) a partir de la presencia solo de anticuerpos no son útiles en estos casos. Para saber si el niño tiene el virus, es preciso realizar un test virológico específico, mediante el “Estudio de Carga Viral por técnica de PCR” en todos los casos, y efectuar su seguimiento.

El principal objetivo que debemos perseguir en una gestante infectada por *VIH* es la prevención de la transmisión vertical/perinatal, por ello es importante el tratamiento antirretroviral, independientemente del número de linfocitos CD4 que tenga la gestante.

Se dispone gratuitamente en el Servicio Nacional de Salud de medicamentos contra el VIH para prevenir la transmisión materno-infantil de ese virus, estos tienen garantías para poder ser utilizados durante la gestación de forma concreta.

Los medicamentos contra el VIH se usan en los siguientes casos para reducir el riesgo de transmisión materno infantil del virus y están en protocolos específicos en permanente revisión y autorización oficial para tales usos.

- Durante el embarazo, las mujeres embarazadas seropositivas reciben un régimen (una asociación), de terapia con al menos tres medicamentos antirretrovirales (TAR) diferentes contra el VIH.
- Durante el trabajo de parto y el parto, las mujeres embarazadas seropositivas reciben AZT intravenosa y siguen tomando los medicamentos de su régimen por vía oral.
- Después del nacimiento, los bebés de madres seropositivas reciben AZT por 6 semanas. (Los bebés de madres no tratadas con medicamentos contra el VIH durante el embarazo, pueden recibir otros medicamentos contra ese virus además de AZT).

Además de tomar medicamentos contra el VIH para reducir el riesgo de transmisión materno infantil del VIH, una mujer embarazada seropositiva, también puede necesitar medicamentos contra el VIH para la conservación de su propia salud.

Algunas mujeres VIH positivas ya pueden estar en tratamiento antes de quedar embarazadas. Los medicamentos contra el VIH ayudan a prevenir la transmisión materno-infantil de ese virus.

El uso de medicamentos contra el VIH durante el embarazo, reduce la concentración del virus en el organismo de una madre infectada. Al reducirse la concentración del virus, disminuye el riesgo de transmisión materno infantil del mismo.

1.16. VIRUS DE LA HEPATITIS C. (CIE-9^a=070.5);(CIE-10^a=B-17.1)

El *VHC* fue identificado y caracterizado en 1989 después de múltiples investigaciones para la detección del genoma del virus de las denominadas hepatitis No A - No B. (NANB), reconociéndose como la causa mayor de este tipo de hepatitis y una causa importante de las hepatitis crónicas. No se ha podido infectar cultivos celulares y el único animal de experimentación útil es el chimpancé. El hecho más notable de las infecciones por *VHC* es su “*capacidad para persistir*” aún en presencia de una buena respuesta inmune humoral y celular del huésped, debido tanto a la alta tasa de mutaciones (*quasiespecies*) lo que facilita mecanismos de escape, como a la elevada producción y aclaramiento de viriones de *VHC*, la cual se produce a un ritmo de 10¹² viriones/día, con una vida media del virión de 2,7 h. El *VHC* solo infecta a humanos y chimpancés y se fija al receptor de superficie CD-81 de los hepatocitos y linfocitos B.

El virión del *VHC* tiene un diámetro de 30-60 nm, genoma RNA, rodeado por una cápside icosaédrica (*core*) y una envoltura que contiene 2 glucoproteínas.

VHC guarda semejanza con la de los *Flavivirus*; debido a esto, el International Committee for the Taxonomy of Viruses ha propuesto que este virus sea asignado dentro de la familia *Flaviviridae*.

El genoma está constituido por una cadena única de RNA de polaridad positiva, con 9.100 nucleótidos, con una única estructura de lectura (ORF, *open reading frame*) que expresa una proteína de 3.011 aminoácidos aproximadamente. El RNA funciona como mensajero y su traducción conduce a un precursor poliproteico, a partir del cual se producen las distintas “proteínas funcionales”, “estructurales” y “no estructurales”, por la acción de proteasas celulares y de codificación vírica. Los “genes estructurales” (*core* C; y de envoltura E1 y E2), están localizados en la zona próxima al extremo 5' del genoma, mientras que los “genes no estructurales” (NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) son adyacentes a 3'. Los extremos 5' y 3' son secuencias no codificadoras (UTR, *untranslated region*) que flanquean la ORF.

La porción 5'-UTR, también conocida como 5'-NCR (*non-coding region*) se inicia con una región de unas 341 bases que precede el codón de arranque de la poliproteína. Esta secuencia, muy bien conservada, con analogías de superiores al 98% entre todas las cepas hasta ahora secuenciadas, probablemente contiene importantes lugares para la traducción, replicación y ensamblaje del genoma. Su principal función es permitir la unión del ribosoma de la célula huésped al RNA vírico en la estructura conocida como IRES (*Internal Ribosome Entry Site*). La región codificadora del *VHC* termina en un único codón final, seguido por la región no codificadora 3'-URT, de 27-51 bases.

A las distintas proteínas codificadas del *VHC* se les adjudican distintas funciones. El *gen C* codifica una proteína de la nucleocápside; los *genes E1* y *E2* codifican las proteínas de la envoltura del virión, conteniendo numerosas zonas de glucosilación. La proteína de *E2* se desdobra en dos proteínas, la *E2* y la *P7*. Se supone que ésta última tiene un papel importante en la maduración de la glucoproteína y en el acoplamiento del virus. Los *genes NS2* y *NS3* son componentes de la proteasa NS2-3, siendo la *NS3* también componente de la proteasa-serina, NTPasa y helicasa. La proteína codificada por *gen NS4A* actúa como cofactor de la proteína-serina de *NS3*, siendo la función de la *p27* derivada del *gen NS4B* desconocida. Del *gen NS5A* no se conoce muy bien su función, aunque parece estar involucrado en la resistencia al interferón, y la proteína *NS5B* tiene actividad de polimerasa de RNA dependiente de RNA.

Una característica muy importante del *VHC* es la variabilidad genética, es decir, el “*alto grado de heterogeneidad*” en las secuencias genómicas y, por lo tanto, de las proteínas codificadas. Esta característica tiene implicaciones en la patogenia y persistencia del virus, diseño de vacunas, selección de mutantes resistentes durante el tratamiento, y diseño e interpretación de los métodos diagnósticos. Además, da lugar a una población de genomas con variantes del RNA conocida como “*quasiespecies*”.

Es decir, que un solo aislamiento del *VHC*, comprende muchos millones de secuencias diferentes pero íntimamente relacionadas.

El genoma viral de una *quasiespecie* difiere de un 1 a 2%.

Sin embargo, la variabilidad genética no parece ser igual en todas las áreas del genoma, hay unas partes del genoma que están bien “conservadas”, mientras que otras muestran distintos grados de “variabilidad”. En la región codificadora, los genes de **envoltura** *E1* y *E2*, sobre todo la secuencia de este último, conocida como zona hipervariable *HVR1*, muestran la mayor variación genética, mientras que el gen de la proteína **core** es la más altamente conservada. La 5'-UTR y porciones de 3'-UTR también están conservadas. La región *HVR1* es, probablemente, el mayor epítipo de neutralización del *VHC* y las “mutaciones que se acumulan en ésta región permiten al virus escapar” a la neutralización, contribuyendo al establecimiento de infecciones persistentes, y en la respuesta deficiente al tratamiento con interferón (INF).

Basándose en la secuencia de nucleótidos y en el análisis filogenético, se han definido los grupos mayores del virus *VHC*, llamados *genotipos*, designándose éstos por “*números*” (genotipos 1 al 6). Estos genotipos, se han subdividido en subgenotipos (o subtipos) y se designan con “*letras minúsculas*”. Los “*genotipos*” tienen aproximadamente un 65% de homología entre sí, mientras que los subtipos muestran de un 77-79%. Aunque los diferentes genotipos se pueden encontrar repartidos por todo el

mundo, hay claras diferencias en cuanto a su distribución geográfica, incluso entre los diferentes grupos de población de una misma área geográfica.

Así pues, de los genotipos el 1a, es el predominante y junto al 1b, 2a, 2b, 2c y 3a produce el 90% de las infecciones por el *VHC* en América del Norte y en Sudamérica, Europa, Rusia, China, Japón, Australia y Nueva Zelanda.

El 1b es predominante en España y produce la mayoría de las infecciones del Este y Sur de Europa, China y Japón. Seguido de los genotipos 2a, 2b, 2c, y 3.

El genotipo 3 es muy frecuente en América y en Europa. Los otros genotipos 4 y 5 se encuentran en Asia o África

Los diferentes genotipos se han asociado con la “*tasa de respuesta al tratamiento*” con interferón y también a la combinación de interferón y rivabirina. Así pues, los pacientes infectados con virus del genotipo 1, en particular el subtipo 1b, responden peor al tratamiento, que los infectados con genotipos 2 ó 3.

También las personas infectadas con virus de los genotipos 4 y 5, tienen un bajo índice de respuesta. Por el contrario, las mejores respuestas se producen en los infectados por los genotipos 2 y 3 que se han distribuido con mayor frecuencia en el subgrupo de pacientes, con antecedentes de adicción a drogas por vía endovenosa.

El genotipo tiene importancia clínica ya que determina la respuesta potencial de la terapia basada en el interferón y la duración que va a requerir la misma. Los genotipos 1 y 4 responden menos, a dicho tratamiento que los otros (genotipos 2, 3, 5 y 6).[40] La duración de la terapia estándar basada en el interferón para los genotipos 1 y 4 es de 48 semanas, mientras que para los genotipos 2 y 3 es solo de 24 semanas.

El virus de la hepatitis C (*VHC*) tiene una prevalencia estimada por la Organización Mundial de la Salud del 3%, lo que representa aproximadamente 170 millones de personas infectadas en el mundo [41,42]. La infección por este virus puede manifestarse como una *hepatitis aguda*, frecuentemente asintomática, que puede llevar a infección persistente como *infección crónica* (definida como mayor de 6 meses) en un 70% de los infectados. Los pacientes con infección crónica habitualmente son asintomáticos por períodos prolongados de tiempo. Aproximadamente el 20% de estos sujetos desarrollará una *cirrosis hepática* a los 20 años de evolución [43]. Los pacientes que han desarrollado cirrosis, aparte del riesgo de llegar a la insuficiencia hepática y necesidad de trasplante de hígado, tienen un riesgo significativo de desarrollar *carcinoma hepatocelular*. En la actualidad, la infección por *VHC* es la principal causa de trasplante hepático y de cáncer hepático en el mundo occidental [44,45,46].

La hepatitis C es una enfermedad frecuente, con una prevalencia que aumenta con la edad [47,48]. Esto explica que la prevalencia en población joven (mujeres en edad fértil) sea relativamente baja [49].

La infección por el virus de la hepatitis C (VHC) en la población general se caracteriza, por una evolución crónica y, en general, benigna, tal como demuestran los estudios epidemiológicos prospectivos y retrospectivos. Sin embargo, en su evolución crónica, pueden aparecer de una manera progresiva lesiones histológicas hepáticas: hepatitis crónica, cirrosis y hepatocarcinoma, así como complicaciones clínicas, por la hipertensión portal y deterioro analítico de la función hepática. Por lo tanto, en la clínica se pueden considerar diversos pronósticos: desde enfermedades leves, otras lentamente progresivas y hasta enfermedades muy graves que provocan insuficiencia hepática, con complicaciones potencialmente mortales, y que pueden precisar un trasplante hepático.

Epidemiología del VHC.

La prevalencia de la infección por el VHC es variable, según la zona geográfica y los diferentes grupos de riesgo. En nuestro país, no existen muchos estudios dirigidos específicamente a determinar la frecuencia de la infección en la población general. A partir de estimaciones indirectas en donantes de sangre o de órganos, o de estudios específicos, se puede asumir una prevalencia cercana al 2%, aumentando conforme avanza la edad.

Los factores de riesgo y la vía de transmisión y adquisición del VHC son variables. Como es sabido, la más frecuente es la vía parenteral percutánea. La transmisión por esta vía resulta relativamente eficiente, con un riesgo que se situaría entre el del virus de la hepatitis B (VHB) y el del VIH. Así, en nuestro medio, se considera que las transfusiones pueden ser responsables de menos del 2% de los pacientes infectados en la actualidad, aunque es un factor en claro descenso a partir del momento en que se controlan las donaciones, por la aplicación de la legislación oficial de los Bancos de Sangre, como demuestran los estudios más recientes de incidencia. Por el contrario, el UDVP es un factor de riesgo responsable de hasta un 40% en los estudios de prevalencia. Si se analizan ciertos grupos de riesgo, todavía el impacto es mayor. Por ejemplo, los pacientes infectados por el VIH y que son adictos a drogas parenterales, en su práctica totalidad están coinfectados por el VHC, lo que tiene consecuencias desde el punto de vista del diagnóstico de laboratorio y del manejo clínico en estos momentos. Los pinchazos accidentales (agujas no desechables, personal sanitario, tatuajes, etc.) son responsables del 2-4% de los casos actuales, al igual que el uso de instrumentos invasivos no ó mal esterilizados.

También es posible la transmisión no percutánea, pero es claramente menos eficiente. Se estima que la vía sexual (en sentido amplio) podría ser responsable de un 5%, si bien es difícil deslindar el efecto concreto atribuible a las prácticas sexuales de otros factores, como la convivencia o el compartir objetos que hayan podido estar en contacto con la sangre. El “contagio madre-hijo” es otra vía posible, cuyo efecto sobre

la prevalencia podría estimarse en un 5%, si bien existen factores de riesgo añadidos, por ejemplo, en las mujeres coinfectadas por el VIH, el riesgo de transmisión es del 10%, pero varía si la gestante está bajo tratamiento antirretroviral o no. Sin embargo, como puede apreciarse, queda un 40% al menos de los casos en los que no es posible encontrar un factor de riesgo concreto. Estas “infecciones esporádicas, constituyen una característica típica de la infección por el VHC.

Se han descrito una serie de manifestaciones extra-hepáticas menos frecuentes de la infección por *HCV*, de las cuales las mejor documentadas son la crioglobulinemia mixta esencial, linfoma no-Hodgkin, glomerulonefritis, síndrome de Sjögren, liquen plano y porfiria cutánea tarda [50,51].

Se han incorporado recientemente los fármacos “inhibidores de proteasas” (Boceprevir y Telaprevir) que pudieran ser prescritos por los Especialistas hepatólogos como asociación a INF- α recombinante ó INF pegilado en monoterapia o en combinación con Ribavirina.

Las proteínas virales son procesadas por proteasas virales y del huésped generando múltiples péptidos estructurales y no estructurales. Algunas de estas proteínas no estructurales como la “polimerasa” y “proteasa” son el foco de activas investigaciones dirigidas al desarrollo de nuevos antivirales. El HCV tiene una alta tasa de replicación y corta vida media en el plasma, lo que explica su alta variabilidad genética [52,53].

Recientemente, 2015, el Ministerio de Sanidad ha aprobado un Plan Estratégico frente a Hepatitis C, donde se valoran los nuevos medicamentos para el manejo de “Hepatitis C crónica con estadio de fibrosis concretos” y estos son los Estadios F-2, F-3, F-4.

Así tenemos los nuevos medicamentos antihepatitis C en España:

- **Sovaldi** (sofosbuvir): Inhibidor de NS-5B de RNA-polimerasa del VHC.
- **Harvoni** (sofosbuvir + ledipasvir): Inhibidor de la NS-5^aA
- **Viekirax** (paritaprevir [Inhibidor de NS-3/4] + ombitasvir [Inhibidor de la NS-5A] + ritonavir [potenciador]).
- **Exviera** (dasabuvir): Inhibidor no análogo de nucleósido de la RNA-polimerasa codificado por NS-5B.

“Ninguno de estos fármacos tiene autorización para su aplicación en gestantes”

1.17. VHC EN GESTANTES.

La frecuencia de la infección crónica por el virus de la hepatitis C (VHC) en mujeres en edad de procrear “*es similar*” al de la población general, en nuestro país y aproximadamente del 1%. Este hecho, junto con que el diagnóstico durante la gestación no aporta cambios de actitud en la práctica clínica para evitar eficazmente la transmisión perinatal, hace que “*no se recomienda el cribado de VHC en todas las mujeres embarazadas*”. La hepatitis crónica C no influye en la fertilidad, en el número de abortos o malformaciones fetales, ni en el curso del embarazo, contraindicándose este, si el padre o la madre se encuentran en tratamiento por esta enfermedad y hasta 6 meses después de la finalización del mismo. Tampoco existe evidencia de que el embarazo influya en la enfermedad de la madre, es más, se suele evidenciar un descenso de transaminasas.

Existe “*riesgo de infección perinatal*” pero este es bajo, de cada 100 niños se contagian aproximadamente 5. El contagio al igual que en la hepatitis B es de madre a hijo. Si el infectado es sólo el padre, el niño carece de riesgo. El momento del contagio probablemente sea al final del embarazo o durante el parto, pero no se ha demostrado que el tipo de parto, vaginal o por cesárea, influya en el contagio del niño, por lo que esta última (cesárea) no está indicada por este único motivo. La transmisión está relacionada con la “*carga viral de la madre*”, y si hay coinfección con el VIH el riesgo de transmisión aumenta.

Los principales factores de riesgo para que se produzca la transmisión son la coinfección con el VIH y una “*alta carga de virus C*” en la sangre de la madre. La infección en el recién nacido se cronifica en la mayoría de los casos y aunque cursa de forma más benigna que en los adultos, con los años también pueden tener complicaciones. Muchos niños tras el parto, presentan todavía anticuerpos anti-VHC adquiridos de la madre a través de la placenta y desaparecen en los siguientes meses, careciendo de trascendencia. A partir del segundo mes, se puede estudiar la PCR-VHC para descartar infección por este virus. Para reducir el número de análisis, se determina sólo anti-VHC a los 18 meses, y si este es positivo, confirma que el niño está infectado.

Teniendo en cuenta la baja probabilidad de contagio no se desaconseja el embarazo en estas mujeres, pero si deben conocer del riesgo de transmisión perinatal y de que no existe ninguna medida profiláctica para evitar dicho contagio en el recién nacido. La lactancia no se ha demostrado que sea un factor de riesgo para la infección del recién nacido, por lo que pudieran alimentarse con leche materna, si no hay alta carga viral. Por precaución se recomienda a las madres con carga viral alta, que “*no amamenten a sus hijos*”.

Transmisión materno-fetal del VHC.

La hepatitis C se transmite principalmente por vía parenteral. El riesgo de transmisión luego de una exposición por pinchazo con una aguja contaminada es del orden del 1.8% (comparada con un 30% en la hepatitis B). No existe hoy tratamiento

autorizado profiláctico específico inmediato tras la exposición (inmunoglobulinas o antivirales), y la recomendación es obtener sangre inmediata para serología y pruebas hepáticas en el “sujeto expuesto” y de la “persona fuente”, para valorar la conducta posterior con el Especialista hepatólogo.

El riesgo de transmisión de la infección por parte de la madre al bebé varía desde 0 a 36 %; con un riesgo promedio de un 5 % . El riesgo se incrementa hasta alcanzar un 44 % si la madre está coinfectada con VIH.

La Hepatitis C es una enfermedad hepática frecuentemente diagnosticada a raíz del hallazgo de elevación leve a moderada de las transaminasas en un paciente “portador asintomático”. Aproximadamente en la mitad de los pacientes es posible identificar un factor de riesgo para la transmisión de la enfermedad, siendo lo más frecuente el antecedente de transfusión de sangre, (antes de la disponibilidad de test diagnósticos en los Laboratorios y Bancos de sangre) o el antecedente de UDVP.

La Hepatitis C es una infección que afecta al hígado. Gradualmente, la infección se va esparciendo por el hígado y puede causar daños irreparables en el mismo en el caso de algunos pacientes. No obstante, muchas personas infectadas por el virus de la hepatitis C (*VHC*) pueden continuar realizando sus tareas cotidianas sin tener que enfrentarse a severas complicaciones de salud, pero podrían llegar a convertirse en portadores crónicos de esta infección. Esto podría llegar a provocar preocupación en las mujeres que están pensando en quedar embarazadas o en quienes ya están embarazadas, cuando descubren que tienen el *VHC*. Hay que tener la mayor información sobre cómo la hepatitis C afecta o no al embarazo, y si esta infección puede llegar a infectar a su futuro hijo.

El virus de la hepatitis C no traspasa la barrera placentaria. La transmisión vertical del *VHC*, cuando ocurre, es en el “período perinatal”. La “transmisión vertical perinatal se define convencionalmente” como, la persistencia de anticuerpos anti-*VHC* en el recién nacido por más de 12 meses.

Existen muchas series publicadas sobre las tasas de “transmisión vertical” de la infección [52;53]. Una revisión sistemática de 77 estudios, con más de 5.000 pacientes, muestra que las tasas crudas de transmisión, son del orden del 5%, que aumentan a 8% cuando el análisis se restringe a las pacientes virémicas [54].

Entre los factores descritos que se asocian a un “*riesgo aumentado de transmisión*”, el más importante es la coinfección con virus de la inmunodeficiencia humana (HIV). Este factor aumenta el riesgo de transmisión a un 22%. Otro factor que aumenta el riesgo es una “*mayor carga viral*”. La lactancia materna no se relaciona al riesgo de transmisión perinatal.

La vía del parto es un tema controvertido en la infección por hepatitis C. Algunos estudios han demostrado una mayor frecuencia de transmisión en parto por cesárea, que vaginal (32% versus 6%) [54], sin embargo probablemente esto se deba a

que en un gran porcentaje de estas pacientes estaban coinfectadas por HIV. En pacientes HIV (-), el riesgo parece ser similar entre la vía vaginal y cesárea [55]. En la práctica, se aconseja a realizar cesárea, sólo por indicaciones obstétricas en estas pacientes [56].

Otros factores que pueden asociarse a un “mayor riesgo” de transmisión del virus al recién nacido, son “ruptura de membranas de más de 6 horas” y “monitorización fetal invasiva” [57].

La realidad es que hay poca información sobre la infección *VHC* durante el embarazo; los datos sugieren que no existe un incremento en el riesgo de malformaciones congénitas en el bebé, en dar a luz un feto muerto, o en el padecimiento de sufrimiento fetal. Las mujeres embarazadas con *VHC* comparadas con otras futuras madres, no deberían enfrentarse a mayores riesgos de experimentar complicaciones obstétricas o perinatales.

La posible transmisión intra-parto, o por la lactancia materna, no está suficientemente aclarada y es motivo de investigación.

Medidas Preventivas.

No existe ningún método garantizado que evite o prevenga la transmisión de *VHC* de la madre a su futuro hijo. No obstante, algunos estudios retrospectivos han demostrado que luego de haberse sometido a una cesárea, el riesgo de transmisión disminuye considerablemente. Pero, las mujeres embarazadas sanas y saludables, aunque seropositivas, pueden dar a luz a sus hijos por vía vaginal, sin por ello correr mayores riesgos generales de transmitirle la infección al R.N. (siendo el riesgo promedio de un 5 %).

No se ha reportado la existencia de un incremento en el riesgo de transmisión de madre a hijo/a durante la lactancia; la seguridad de amamantar cuando la mujer se encuentra infectada, aún debe seguir siendo investigada con mayor profundidad.

La mujer embarazada y que padezca hepatitis crónica por *VHC*, deberá someterse con regularidad a chequeos médicos y a exámenes en los que se evalúe el estado de su hígado. Las mujeres embarazadas podrían desarrollar ciertos síntomas, entre los que se incluyen: cálculos biliares y enzimas hepáticas elevadas. Estos síntomas podrían, pero no siempre, ser provocados por la infección *VHC*. Es por ello realmente importante que el Obstetra conozca su problema al igual que el Especialista en patología hepática, para valoración evolutiva clínica sobre todos los síntomas que estuviera experimentando antes de comenzar o para dejar de tomar los medicamentos que habitualmente se aplica.

Tratamiento en el embarazo.

Si una mujer tiene hepatitis C y descubre que está embarazada, esta debe ponerse en contacto con su Obstetra inmediatamente para su seguimiento y toma de medidas oportunas. La terapia a base de Interferón para tratar la hepatitis C debería ser interrumpida, debido a que los efectos para el feto son totalmente desconocidos. Todas

sus formas farmacológicas son hoy clasificadas como Categoría C por la FDA (es decir que en animales han producido daño fetal y no hay estudios adecuados en embarazadas)

Hoy 2015, no existe tratamiento antiviral específico para la hepatitis C durante el embarazo. La terapia recomendada actualmente, consistente en la combinación de interferón pegilado y ribavirina, se considera contraindicada durante el embarazo [58] por ser teratogénico. En lactancia materna debe evitarse. Tampoco existe ninguna intervención profiláctica (inmunoglobulinas o antivirales) en el recién nacido que disminuya la probabilidad de transmisión.

Pronóstico.

No hay evidencias de que la infección por Hepatitis C produzca un aumento del riesgo de complicaciones del embarazo, particularmente la enfermedad hepática se mantiene clínicamente estable y no hay aumento del riesgo de malformaciones fetales [59].

Los recién nacidos (RN) de madres infectadas, que adquieren la infección, habitualmente tienen un curso benigno, siendo asintomáticos, y mantienen transaminasas normales o levemente elevadas durante la infancia[60,61]. El pronóstico a largo plazo no es conocido, pero es posible que sea similar al de los niños que adquieren la infección por transfusiones tempranamente en la vida, quienes presentan enfermedad hepática en general leve, luego de 20 años de infección.

Recomendaciones a las embarazadas con serología VHC positiva (+).

A una embarazada a la que se le detecta serología positiva para hepatitis C (VHC), se deben considerar las siguientes recomendaciones por su Especialista hepatólogo:

1. Determinación de RNA circulante (PCR), carga viral, y genotipia.
2. Análisis de factores de riesgo (transfusiones, drogas intravenosas, conductas de riesgo sexual, etc.), determinación de HIV y Hepatitis B adicionalmente por su interés familiar, Chequeo de la pareja sexual y de hijos anteriores.
3. Determinación de pruebas hepáticas (bilirrubina, transaminasas hepáticas), y albuminemia. Es muy poco frecuente encontrar enfermedad hepática avanzada (cirrosis) en pacientes embarazadas con hepatitis C.
4. Manejo en Obstetricia y con un Hepatólogo.
5. La decisión de la vía del parto no debe ser alterada por la presencia de esta infección.
6. Se recomienda evitar monitorización fetal invasiva y ruptura de membranas prolongada.
7. No hay indicación de suspender la lactancia materna, salvo que sí esté en tratamiento con INF.

8. Debe determinarse anticuerpos anti-hepatitis C en el recién nacido a los 15 meses. La determinación de RNA por PCR en 2 ocasiones (entre los 2 y 6 meses) es una alternativa para el diagnóstico más precoz de la infección en el recién nacido.
9. Las transaminasas deben repetirse 6 meses después del parto.

2. OBJETIVOS.

2.1. “CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE”.

Debemos exponer dos conceptos claves respecto a los análisis de Laboratorio para el “despistaje de cromosopatías en la gestación”. Una “*prueba de cribado*” tiene como objetivo identificar una subpoblación de individuos que presentan mayores probabilidades de padecer una determinada patología que el resto de la población de la que forma parte. Una “prueba de cribado” nunca es diagnóstica y, en consecuencia, debe existir otra prueba, de segunda línea, que permita “confirmar” la presencia o ausencia de la patología en cuestión. Este es el caso del “*Cribado Combinado de 1º trimestre para cromosopatías*”, en el que el estudio del “cariotipo fetal” (mediante las diferentes técnicas invasivas) constituye la prueba confirmatoria en esta Tesis llevada a cabo dentro del Sistema Nacional de Salud.

Hasta no hace muchos años el cribado prenatal dependía exclusivamente de los datos epidemiológicos: historia familiar, edad materna > 35 años y antecedentes clínicos. Su eficacia es mínima como cribado primario según diferentes autores.

Es nuestro Objetivo (en el Cribado) “determinar el riesgo” de las embarazadas en nuestra Área Sanitaria Norte de Cádiz Jerez de la Frontera (Andalucía-SAS), mediante una técnica de “Screening Prenatal” llegar a un “diagnóstico precoz de cromosopatía” y que permita un manejo obstétrico eficaz. Si de las pruebas se dedujese que tiene un riesgo aumentado de padecer una cromosopatía, se le ofrecía examen complementario (amniocentesis, biopsia corial capaz de afinar en el diagnóstico de alteración cromosómica. El sometimiento de estas pruebas es voluntario, y siempre con su conocimiento. Será la paciente la que decide si quiere someterse a esta prueba, pero es de obligado cumplimiento el ofrecérselo, siguiendo las recomendaciones de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía y de la Sociedad Española de Obstetricia y Ginecología (SEGO) que sí lo recomiendan.

La prueba combinada no confirma al 100% si el niño tiene un síndrome de Down. Esta prueba sólo “*proporciona información sobre la probabilidad*” (Riesgo Alto, Medio o Bajo) de tener un niño con síndrome de Down [62,63,64]. El cálculo del riesgo se hará con un programa informático. (PRISCA) de la casa comercial Siemens Health Care Diagnostics, S.L. en el propio Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital del SAS de Jerez de la Frontera (Cádiz).

El objetivo principal del “Cribado del primer trimestre” es seleccionar a aquellas gestantes con mayor riesgo de sufrir síndrome de Down en su descendencia. Estas pruebas incluyen: La determinación de los niveles de unas hormonas del embarazo en

sangre materna: las llamadas Beta-hCG (Gonadotropina Coriónica Humana) y PAPP-A (Proteína Asociada al Embarazo) [65,66].

Apartarse de este planteamiento solo puede generar inseguridad en la paciente e interpretación de los resultados, y abocar a la gestante a técnicas invasivas no exenta de riesgos, incertidumbre y angustia en las pacientes.

2.2. “ ESTUDIO DE SEROLOGÍA INFECCIOSA”.

Muchas de las infecciones con graves consecuencias para el feto son difíciles de diagnosticar en la madre desde un punto de vista clínico.

La mayor parte de las mujeres infectadas con agentes infecciosos de transmisión vertical/perinatal, no presentan signos ni síntomas de la enfermedad, salvo que sean afectadas por primoinfección con clínica aguda durante la gestación concreta o que quedasen embarazadas en el transcurso de un proceso crónico persistente conocido o no por la gestante previamente, por lo que el “control serológico” podríamos tomarlo como base para plantearnos estudios adicionales.

Durante el embarazo, las infecciones virales adquieren una importancia variable según la etiología por la repercusión que pueda tener tanto para el feto como para la madre; en el feto las consecuencias van a depender de la edad gestacional en la que se produce la infección aguda.

Los Virus que pueden afectar al feto durante la gestación pueden ser varios pero nosotros nos limitaremos, al Virus de la Rubéola, Virus de la Hepatitis B, Virus de la Hepatitis C y Virus de la Inmunodeficiencia Humana VIH.

La infección puede ser intraútero, por vía transplacentaria (Prenatal) o durante el Parto. Las infecciones intrauterino tienen mayor impacto sobre el feto en términos de morbi-mortalidad, especialmente en el primer trimestre del embarazo (organogénesis).

La infección viral puede en ocasiones afectar a la madre embarazada sin comprometer al feto. Sin embargo, por el solo hecho de afectar a una embarazada, la enfermedad puede ser más grave e indirectamente afectar al feto en términos generales.

Si el virus tiene capacidad de traspasar la placenta, puede producir la muerte, malformaciones congénitas, infección congénita o no producir daños en el feto. Las malformaciones y los signos de infección pueden manifestarse al nacer o más tarde en su primera infancia.

Los casos clínicos por virus potencialmente causantes de infecciones congénitas y perinatales se ha reducido notablemente en España, desde que se implantaron los calendarios de vacunaciones, para más tipos concretos de patologías infecto-contagiosas.

El diagnóstico clínico no es fácil y requiere una alta sospecha clínica, pues en la mayoría de los casos la infección materna pasa inadvertida, y no ayuda a la orientación etiológica, por lo que se realizan actualmente ciertas medidas en la embarazada, para

“conocer el estado inmunitario” frente a los agentes infecciosos más habituales, que podrían afectar al feto, o a su futuro hijo.

En algunos casos el objetivo será también la detección de las mujeres seronegativas “*susceptible de adquirir una primo-infección*” por los patógenos correspondientes, y poder aplicar las medidas preventivas higiénico sanitarias correspondientes a cada caso. En otros casos el objetivo será detectar las mujeres “*persistentemente infectadas*”, utilizando para ello marcadores serológicos para identificar las positivas, en el primer trimestre del embarazo y aplicar medidas dirigidas a prevenir la transmisión o poder paliar sus consecuencias.

El estudio serológico se debe realizar:

- A ser posible en el año anterior a la gestación, para que en este periodo se proceda a la: Inmunización activa, Valoración del riesgo o Tratamiento si fuera necesario.
- En la Consulta Prenatal (Primer trimestre del embarazo) y en nuestro Estudio hemos realizado determinaciones serológicas frente a Rubéola IgG; Toxoplasma IgG; *VHB*; Sífilis; *VHC*; y *VIH* (solo en gestante de riesgo y siempre en este último caso, con consentimiento de ella).

Es muy importante definir los objetivos, siendo estos los mencionados anteriormente, sin pretender en nuestro Estudio resolver con la estrategia del cribado serológico, problemas que se asocien a situaciones concretas.

A todas las embarazadas se les ofertará la prueba combinada que se realizará en edad temprana del embarazo y se compone de un análisis sanguíneo:

1º BIOQUÍMICO: (PAPP-A, β -hCG libre).

2ª SEROLÓGICO INFECCIOSO: (Ac.IgG Toxoplasma, Ac.IgG Rubéola, HBsAg, Ac.VIH, Ac.VHC y R.P.R-Sífilis) de la embarazada.

3º EXAMEN ECOGRÁFICO del feto en consulta de Obstetricia para la medición de la edad gestacional y la Translucencia Nucal (TN) del futuro ser.

Estas pruebas, bioquímicas, serológicas y ecográficas, no conllevan riesgo ni para la madre ni para el futuro ser.

Nuestro objetivo es, siguiendo la implementación en toda Andalucía del “Plan Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas de Andalucía” dentro del PAI “Proceso Embarazo, Parto y Puerperio” año 2005 y un “Programa Andaluz de Cribado de

Anomalías Congénitas” (PACAC) del año 2009, y recogiendo las Recomendaciones establecidas en la guía NICE (U.K.) y de la SEGO (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia), poder detectar las “cromosopatías” en el embarazo, al tiempo que en la misma consulta (Prenatal) comprobar el Estado Inmunitario de las embarazadas en el primer trimestre del embarazo y poder informar analíticamente para que se puedan aplicar medidas de carácter Preventivo en base a las determinaciones de “serología infecciosas” que se les solicitan en el embarazo a las gestantes.

En definitiva dos grandes objetivos establecimos, valoración de la Incidencia, durante 5 (2008-2012) años mediante estudio prospectivo, de: A) “Diagnostico precoz para riesgo de la trisomía 21”; y B) La “serología infecciosa frente a 6 patógenos infecciosos” a llevar a cabo, en la 12ª semana de gestación, de todas las embarazadas asistidas en el Sector Publico en el Área Sanitaria de influencia del Hospital de Jerez de la Frontera (Cádiz Norte).

➤ **Objetivos en:**

2.1.- Cribado Combinado de 1º trimestre:

1. Determinar el Índice de riesgo prenatal Alto o Bajo para trisomía 21 durante el 1º trimestre de la gestación en el Área Sanitaria Norte de Cádiz, derivado de la utilización de marcadores combinados, bioquímicos (PAPP-A y β -hCG-Libre) y ecográficos (TN) para realizar el “cálculo de riesgo” para trisomía 21” desde el Laboratorio del Hospital.

2. Una vez identificada la gestante con Alto Riesgo, colaborar en el ofrecimiento de “métodos diagnósticos invasivos” como la amniocentesis o la biopsia de vellosidad corial, a los efectos confirmatorios en el Laboratorio de Referencia extrahospitalario concertado por el Hospital por la Consulta de Alto Riesgo de Obstetricia del Hospital, a los efectos de manejo clínico de tales gestantes en la evolución de su embarazo.

2.2.- Serología Infecciosa:

3. Estudiar el estado inmunitario de “concretas infecciones de la gestante” con el fin de:

- a) Diagnosticar embarazadas “seronegativas” susceptibles de adquirir una primoinfección, que si es contraída en el transcurso del embarazo, podrían dar lugar a malformaciones congénitas de gran trascendencia (Rubéola, Toxoplasmosis, Sífilis)
- b) Diagnosticar embarazadas “seropositivas” de VIH, , VHC, toxoplasmosis y sífilis, así como embarazadas “portadoras” de VHB, que presentes

durante el embarazo pudieran transmitir (vertical/perinatal) el agente infeccioso concreto al feto y ocasionar graves problemas.

4. Realizar una correcta identificación serológica de las embarazadas infectadas para aportar a la Unidad de Obstetricia un diagnóstico analítico “confirmatorio”, a los efectos de un posterior manejo de la gestante y del recién nacido en su caso.

5. Valoración de la “línea de tendencia” y “significación estadística en la evolución” temporal del quinquenio, de los diferentes porcentajes de positividad/negatividad de interés en los hallazgos serológicos frente a las distintas infecciones estudiadas. ¿ Cómo es la evolución de la impregnación en la población gestante en nuestra Área Sanitaria en tal periodo temporal ?.

3. MATERIAL Y METODO.

3.1 MATERIAL

En Andalucía existe el “Plan Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas de Andalucía” dentro del PAI, “Proceso Embarazo, Parto y Puerperio del año 2005, y el “Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC). Año 2009” (dentro del Plan de Genética de Andalucía del Servicio Andaluz de Salud), para las “gestantes en el primer trimestre de embarazo”. En nuestro Estudio hemos seguido toda la metodología recomendada en estos Programas de Cribado,

3.1.1 POBLACIÓN ESTUDIADA Y DETERMINACIONES.

Todas las gestantes del Área de Gestión Sanitaria Norte de Cádiz, (integradas en lo que hace poco comprendía los Distrito Jerez Costa-Noroeste y Distrito Sierra), en edades gestacionales entre la semana 10 y 13+6d, y siguiendo las pautas que se establecen en el Plan de Trabajo.

1. Las determinaciones bioquímicas analíticas de Laboratorio se realizaron entre la semana 10 y 13: “*Screening Bioquímico combinado en primer trimestre*”.

Hoy en día es recomendado por las Sociedades Científicas y se utiliza la edad, β -hCG libre, PAPP-A y TN [67] para el “cálculo del riesgo”, ya que ofrece una buena Sensibilidad, con una tasa muy aceptable de Falsos Positivos (FP).

Su coste es menor que el de otros test y proporciona el beneficio añadido del momento de la gestación en que se realiza el diagnóstico, lo cual permite tomar decisiones terapéuticas más precoces que beneficiaran a la madre, al feto o a ambos. Permite además la aplicación de otra técnica invasiva más precoz que la amniocentesis, como la “biopsia corial”, la cual conlleva una reducción del tiempo de espera para obtener información diagnóstica, con una menor repercusión psicológica y de morbilidad materna en caso de decidir una interrupción voluntaria del embarazo (IVE) por hallazgo positivo.

Esta” prueba combinada” tiene una serie de ventajas:

- Ofrece la posibilidad de conocer la “probabilidad” de que un niño nazca con síndrome de Down [68,69].

- No tiene consecuencias ni riesgos para la madre ni para el niño, es una prueba “segura”.
- Actualmente es la prueba más “fiable” de la que disponemos.
- La mayoría de las mujeres que se someten a esta prueba estarán tranquilas, tras los resultados satisfactorios durante su embarazo y darán a luz un niño sano.

Pero también tiene algunas desventajas:

- El resultado de estas pruebas es solo un “*cálculo de probabilidades*”. No comprueba con certeza si el feto va a nacer con un síndrome de Down o no. Si el resultado es desfavorable en ocasiones hay mujeres embarazadas que les genera una gran preocupación. Por lo que se les debe ofertar otras “*pruebas alternativas invasivas*”, como la biopsia corial o la amniocentesis.

2. Estudio ecográfico de translucencia nuchal (TN) [67] llevado a cabo en la consulta de Alto Riesgo de Obstetricia del Hospital y los datos obtenidos, se envían al Laboratorio de Análisis Clínicos para su valoración completa por el Analista Especialista.

3.- Analítica de Laboratorio de Serología Infecciosa.

Para el estudio de prevalencia de serología infecciosa en la mujer embarazada en el período 2008-2012 aprovechamos la asistencia de la embarazada a la Consulta rutinaria de control de embarazo, en las que de manera rutinaria se solicitaron las determinaciones serológicas Rubéola IgG, Toxoplasma IgG, VHB (HBsAg), Sífilis (RPR), Ac. VIH (solo a personas de riesgo con consentimiento informado) y Ac.VHC. De los hallazgos positivos pasan a test de confirmación.

3.1.2 PLAN DE TRABAJO.

El “Cribado Combinado de 1º trimestre”, que es uno de los objetivos de esta Tesis, al aplicarse de forma precoz permite disminuir la ansiedad materna y realizar precozmente el procedimiento diagnóstico confirmatorio, en caso de ser positivo. El “*Cribado Combinado del primer trimestre*”, junto con la ecografía morfológica de la semana 20, forma parte del subproceso cribado de anomalías congénitas (Plan Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas de Andalucía), dentro del PAI “Proceso Embarazo, Parto y Puerperio. Año 2005”.

a) Primera Consulta de la Gestante (semana 6-10).

- Lugar: Atención Primaria (entre 8 y 10 semanas de gestación)
- Responsable: Personal de Atención Primaria. Matrona o Médico de Familia.
- Objetivo: Presentación e información a la gestante del cribado combinado del primer trimestre integrado dentro de los controles que propone el subproceso cribado de anomalías congénitas (Plan Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas).
- Funciones:
 - Entregar Documento de Acogida.
 - Informar y solicitar el Cribado del 1º Trimestre (rellenar impreso y ajustar solicitud bioquímica y ecográfica) para que sea realizado en la 2ª visita.
 - Recogida de Consentimiento Informado (acepta o revoca).
- Todos los datos necesarios para el “Cribado Combinado de 1º trimestre” serán rellenos en esta primera visita en Consulta asistencial
- Todos los datos necesarios para emitir un informe, se rellenan en el programa informático adaptado para Andalucía.
- 1ª valoración de posible gestante de “Alto Riesgo”:

Se derivan a la Consulta de Alto Riesgo Fetal del Hospital de Jerez

Este grupo está constituido por gestantes con:

- Riesgo de transmisión de enfermedad de origen genético.
 - Antecedente de familiar en primer grado con malformaciones congénitas.
 - Exposición a teratógenos/enfermedad materna intercurrente con riesgo de patología fetal.
 - Hijo anterior con anomalía cromosómica / Padres portadores.
- 1ª valoración de posible gestante de “Bajo Riesgo”:

Constituido por el resto de las gestantes estudiadas.

b) Segunda Visita (semana 11-13).

b.1. Valoración Ecográfica y petición analítica de los Marcadores Bioquímicos.

- **Lugar:** Servicio de Obstetricia (Consulta de Alto Riesgo) / Servicio de Análisis Clínicos (en términos generales). Hemos de describir que la población gestante de la Sierra de Cádiz, es asistida en su propio Centro de Salud, por el Obstetra desplazado desde el Hospital de Jerez, donde se les realizará la ECO y la extracción analítica. Tanto el “informe ecográfico” como la “muestra sanguínea” son enviadas para su estudio y análisis al Servicio de Análisis Clínicos del Hospital de Jerez.
- **Responsables:** Facultativos de Obstetricia de la Unidad de Ecografía y Facultativo de la Unidad de Análisis Clínicos responsable del Cribado Prenatal.
- **Objetivo:** Valoración ecográfica del 1º trimestre. Al tiempo que aprovechando esta visita se les solicita: “Cribado Combinado de 1º trimestre” (PAPP-A mas BhCG- Libre), y la Serología Infecciosa a : Rubéola, Toxoplasma, VHB, Sífilis, VIH (a gestantes de riesgo) y VHC.
- La ecografía normalizada del primer trimestre de Cribado ecográfico, mediante TN (Translucencia Nucal) ajustada a CRL (longitud cráneo-caudal), se realizará en la Consulta de referencia designada y que cumple los criterios para tal fin.
- Las determinaciones Bioquímicas y Serológicas maternas se realizaron en el Servicio de Análisis Clínicos del Hospital de Jerez, base para el estudio de esta Tesis, donde se procesaron, de acuerdo a las técnicas (que se especifican más adelante) del laboratorio de Análisis Clínicos.
- Cuando la gestante ha finalizado el estudio ecográfico, recibe del Obstetra un Informe, el cual contiene todos los datos ecográficos y epidemiológicos necesarios para el “Cálculo de Riesgo” y un volante para la realización de las determinaciones de la “Serología Infecciosa”. Con este Informe y volante, la gestante acude al punto de extracción del Hospital, donde se realiza la extracción sanguínea para determinar los marcadores bioquímicos (PAPP-A y β -HCG libre) y las de serología-infecciosa.
- Se procede en el Laboratorio a realizar las determinaciones analíticas solicitadas.

- Los resultados analíticos son validados y enviados a la Consulta solicitante.
- Es responsabilidad de la Consulta de Obstetricia facilitar a las gestantes, los resultados de Laboratorio. Si el resultado del cribado es de “Alto Riesgo”, se deriva a la gestante a la Consulta de Alto Riesgo, se le llama inmediatamente para nueva consulta y ofrecerle la realización de una técnica invasiva. Si el resultado es de “Bajo Riesgo”, se le envía a la gestante el resultado por Correo ordinario, y se continúa su control normal del embarazo.
- Traslado de resultados de Serología Infecciosa a la Consulta del solicitante.
- Los cribados con resultado de “Alto Riesgo” se remiten a la Unidad de Alto Riesgo del Servicio de Obstetricia.
 - Lugar: Consulta de Alto Riesgo de Tocología Planta 0 del Hospital Materno-Infantil del Hospital de Jerez.
 - Responsable: Facultativo de la Unidad de Alto Riesgo de embarazo
 - Objetivo: Informar a la embarazada sobre el significado de “*resultado positivo del cribado combinado*”. Ofertar/realizar procedimiento invasivo para análisis genético fetal.
 - Funciones: Se informa a la paciente sobre el significado de resultado positivo del “Cribado Combinado de 1º trimestre”, se ofertará “*prueba invasiva*” o “*no invasiva*” y se explicará el tipo de análisis genético que se va a realizar sobre la muestra a obtener, así como de su utilidad clínica. La información dada a la embarazada es recogida en la Historia Clínica y la gestante recibirá un “Consentimiento Informado” donde expresará su decisión, respecto a la realización o no de un procedimiento invasivo para análisis genético fetal.
- Se le informará, por su Obstetra, de acuerdo a los resultados analíticos validados, del estado inmunitario o de portadora, y se orientará sobre las medidas o actuaciones higiénico-sanitarias a llevar a cabo durante el embarazo y a través de su Especialista correspondiente.
- Actuación del Laboratorio de Análisis Clínicos para las determinaciones Bioquímicas:

En el laboratorio de Análisis Clínicos se obtienen los resultados Bioquímicos (B-hCG- Libre y PAPP-A) que van a permitir, junto con el valor de TN el “*cálculo del riesgo del cribado del primer trimestre*”, que aporta el Obstetra en su solicitud junto a otros datos, y que es realizado por el Analista Especialista en esta materia. Este Laboratorio es centralizado, y se encuentra Acreditado para tal objeto, con la tecnología necesaria y cumple los estándares que se exigen para tal fin por el Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC) y sometido a Controles de Calidad , uno interno (casa comercial Siemens Health Diagnostics) y otro externo (UK-NEQAS: United Kingdom National External Quality Assessment).

Los estándares de Laboratorio son los siguientes:

1. Dotado de personal acreditado y con experiencia para tal propósito, adherido a las Recomendaciones del Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC).
2. Posee un plantel de Facultativos con experiencia en todos los aspectos bioquímicos del cribado, así como un responsable de trabajo y forma de trabajar.
3. Posee los Procedimientos Normalizados de Trabajo (PNT) escritos para las fases Preanalíticas, Analíticas y Post-analíticas relacionadas con el Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC).
4. Posee un programa de Control de Calidad Interno (CCI).
5. Participa en un programa de Control de Calidad Externo acreditado del Reino Unido.
6. Participa en las auditorías pertinentes que eventualmente se implementen por el Programa Andaluz de Cribado de Anomalías Congénitas (PACAC).
7. El Laboratorio tiene una carga de trabajo mínima de 2.500 determinaciones al año y posee sus propios valores de referencia en relación a las medianas que se deben establecer para los resultados bioquímicos. Al no alcanzar los 5.000 determinaciones/año, el laboratorio se integra a una mini-red (de al menos 2 laboratorios Hospital de Valme Sevilla y Hospital SAS de Jerez), que suman más de 5.000 determinaciones/año y que realiza de forma idéntica (a nivel tecnológico y de controles de calidad internos e internos) las

determinaciones Bioquímicas incluidas en el Programa Andaluz de Cribado de Anomalía Congénitas (PACAC).

8. El “*software utilizado para el cálculo del riesgo de anomalías fetales*” es el PRISCA de la firma Siemens Diagnostic, y está adaptado a las condiciones de trabajo específicas del Laboratorio. Se espera a que se aporte el resultado de la Ecografía de Consulta de Obstetricia, para desde el Laboratorio emitir el “*Informe de Resultado de Riesgo de Probabilidad*”

La Unidad de Obstetricia que asiste a cada gestante, coordina la información a los efectos del programa informático Diraya Andalucía.

El resultado del programa de cribado combinado a cada gestante con alto Riesgo determinará la conducta a seguir en la Unidad de Obstetricia.

b.2) Valoración de la Serología Infecciosa.

La petición analítica para el control de Serología Infecciosa se realizó en la Consulta Prenatal, en el primer trimestre de embarazo, lo mas precozmente posible, así los datos obtenidos proporcionarán, en la mayor parte de los casos, la información suficiente para adoptar medidas eficientes. Para ellos aprovechamos los Flujos de visitas descritos en el Manual “Embarazo, Parto y Puerperio” editado por el S.A.S. año 2005.

En esta segunda visita (semana 11-13) se realiza:

- Anamnesis y datos sobre la evolución del Embarazo
- Identificación de los factores de riesgo para Enfermedades de Transmisión Sexual (E.T.S).
- Solicitud analítica de Serología Infecciosa (Rubéola IgG, Toxoplasma IgG, VHB-HBsAg, RPR-Sífilis, Ac.VHC y en las embarazadas que pertenezcan específicamente a algún grupo de riesgo Anticuerpos VIH.

Muestras que han correspondido a sueros pertenecientes a gestantes para determinaciones analíticas “Bioquímicas” y “Serológicas” y obtenidas durante el quinquenio 2008-2012. Son las que expresamos en la Tabla 5.

En la misma tabla insertamos el total de muestras que han sido preparadas para envío como “material biológico al Laboratorio de Referencia”, para cariotipo genético a partir de muestras de amniocentesis o vellosidad corial tomada por el Obstetra.

Tabla 5. Material empleado para estudio en esta Tesis. Determinaciones analíticas realizadas, distribuidas por año.

| Determinaciones analíticas en gestantes | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|---|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| β-hCG Libre | 2566 | 2495 | 2541 | 2489 | 2599 | 12690 |
| PAPP-A | 2566 | 2495 | 2541 | 2489 | 2599 | 12690 |
| Envío a Centro de Referencia (Barcelona) | 51 | 36 | 38 | 25 | 31 | 181 |
| Ac IgG RUBÉOLA | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| Ac. IgG TOXOPLASMA | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| Ac. IgM TOXOPLASMA | 510 | 498 | 481 | 490 | 425 | 2404 |
| Avidéz IgG TOXOPLASMA | 10 | 9 | 8 | 7 | 5 | 39 |
| HBsAg | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| HBeAg | 10 | 11 | 12 | 9 | 8 | 50 |
| RPR SÍFILIS | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| FTA-Abs IgM SÍFILIS | 5 | 6 | 7 | 6 | 5 | 29 |
| Ac. VIH (*) | 203 | 230 | 215 | 218 | 198 | 1064 |
| Western-Blot VIH | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Carga Viral VIH | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Ac. VHC | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| Carga Viral VHC | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 14 |
| TOTAL | 17179 | 17294 | 17896 | 18037 | 18832 | 89238 |

(*) Las muestras para estudio de Ac. VIH fueron en total 1.064 (gestantes con factores de riesgo).

3.2 METODO

3.2.1 MARCADORES BIOQUÍMICOS EN GESTANTES.

Estos parámetros séricos maternos, determinan en qué medida se modifica el “*riesgo individual*” de presentar una anomalía cromosómica o anomalía congénita y modificar el riesgo individual relacionado con la edad.

Se expresaran en “múltiplos de la mediana” (MoM) de los valores obtenidos en cada semana de gestación. El MoM de un marcador, es el resultado del valor real de ese marcador, dividido por el valor esperado, según su edad gestacional.

Se requerirá una toma de datos correcta de la gestación y el ajuste de una serie de parámetros como:

- Edad.
- Peso.
- Talla.
- Gestación única o múltiple.
- Diabetes.
- Habito tabáquico.
- Raza.

Según el marcador, o asociación de marcadores utilizados, se obtendrá una determinada Sensibilidad y Especificidad y tasas de Falsos Positivos.[71].

Necesitaremos curvas de normalidad propias y una amplia casuística de nuestro Laboratorio.

Los marcadores que manejamos y medimos son los de “dos proteínas” llamadas fracción Libre de la B-hCG-L, y PAPP-A (que es una glicoproteína sintetizada en el trofoblasto).

Para el estudio de las determinaciones bioquímicas (PAPP-A y B-hCG-libre) utilizamos el “*Immulite – 2000 XPi*”, de la casa Siemens Diagnostics, un Sistema avanzado de Inmunoensayo.

Figura 2. *Immolute-2000 XPi*



El *Immolute-2000 XPi*, es un analizador de acceso aleatorio continuo con una capacidad de procesamiento de 200 pruebas por hora, que lleva a cabo ensayos inmunológicos quimioluminiscentes. Ha sido diseñado específicamente para la eficacia óptima y la consolidación a Laboratorios de mediano y grandes volúmenes. El paquete de software Immolute 2000, con su interfaz de usuario gráfica explica por sí mismo, ofrece gestión de la información simplificada, y de la prueba a distancia de pedido de análisis sofisticado de los resultados. Características de flujo de trabajo que mejoran también el muestreo de tubo primario, pruebas reflejas automáticas y de dilución a bordo, se han incorporado para la velocidad y eficiencia. El sistema puede utilizar muestras de suero o plasma para efectuar pruebas de diagnóstico “in Vitro”. El analizador automatiza todo el procedimiento de pruebas y puede atender a un gran volumen de pruebas (generando hasta 200 resultados/hora). Los tubos de prueba primaria, secundaria y de micro-muestras, se pueden cargar directamente en el instrumento.

- Principio de Funcionamiento.

IMMULITE 2000 utiliza bolas de poliestireno recubiertas de anticuerpos específicos como fase sólida. Se dispensa una bola en un tubo de reacción especialmente diseñado, que sirve como recipiente para los procesos de incubación, lavado y desarrollo de señales.

Tras lavar la muestra con un reactivo marcado con fosfatasa alcalina, la mezcla de reacción, se separa de la bola haciendo girar el tubo de reacción a alta velocidad sobre su eje vertical. El fluido se transfiere a una cámara coaxial de residuos, que es parte integrante de la estación de lavado de bolas/tubos. En unos pocos segundos se realizan cuatro ligeros lavados, permitiendo que los tubos de reacción se procesen secuencialmente, a ritmo constante. La bola permanece en el tubo de reacción libre de marcaje residual.

A continuación, se cuantifica el marcador ligado, utilizando el substrato de dioxetano para producir luz. Cuando el substrato quimioluminiscente reacciona, con la fosfatasa alcalina ligada a la bola, se produce una emisión de luz. La cantidad de luz

emitida es proporcional a la cantidad de analito presente originalmente en la muestra. El tubo foto multiplicador (PMT) detecta esta emisión de luz y se calculan los resultados correspondiente a cada muestra.

Los pasos internos que realiza el IMMULITE 2000 son:

1. Dado que los ensayos ultrasensibles de IMMULITE 2000 pueden generar hasta varios cientos de millones de recuentos por segundos (CPS), IMMULITE utiliza un atenuador delante del tubo fotomultiplicador (PMT) para proporcionar lecturas precisas en un amplio rango de señales lumínicas. Este disco atenuador tiene tres posiciones:
 - Cerrada: Bloquea completamente el PMT.
 - Atenuada: coloca un filtro de densidad neutra, delante del PMT.
 - Abierta: posición sin ningún filtro.

El filtro de atenuación del IMMULITE 2000 restringe el número de fotones que entran en el PMT, asegurando un recuento preciso, incluso si los CPS actuales son tan altos que desbordan el rango lineal del PMT.

2. Para cada muestra, IMMULITE 2000 obtiene una lectura de un segundo (fondo) en la posición cerrada, y otra lectura de un segundo (recuento de decisión) en la posición atenuada.
Si la lectura atenuada de un segundo es inferior a 1.000 CPS, el disco atenuador se desplazara a la posición abierta. Si no es así, permanecerá en la posición atenuada, mientras se estén efectuando las lecturas de la muestra.
3. IMMULITE 2000 obtiene cinco lecturas de un segundo, y devuelve el disco atenuador a la posición cerrada.
4. Los fondos se calculan haciendo un promedio de las ultimas diez lecturas de fondo. Este promedio se resta, de cada una de las cinco lecturas y se calcula la media de las cinco lecturas.
5. Si los recuentos se midieron en la posición atenuada, la media de las cinco las lecturas individuales, se multiplican por el factor de atenuación específico del instrumento para determinar los recuentos por segundo totales (CPS) sin atenuar.

$$\text{CPS (sin atenuar)} = \text{CPS (atenuados)} \times \text{factor de atenuación.}$$

6. Para determinar las concentraciones de analito, el software de IMMULITE 2000, toma como referencia los parámetros de la curva Máster específicos del lote, que se introdujeron mediante código de barra.

- Reacción Quimioluminiscente.

En primer lugar, el conjugado de fosfatasa alcalina (reactivo) se liga a la bola (dentro del tubo de reacción) durante la reacción inmunológica. La cantidad de fosfatasa alcalina capturada es proporcional (en un ensayo sandwich) o inversamente proporcional (en un ensayo competitivo), a la concentración del analito en la muestra del paciente.

Una vez que se ha lavado el tubo de reacción, se añade al mismo, un sustrato luminogénico y se traslada a la cadena del luminómetro.

Cinco minutos más tarde, el tubo de reacción se coloca delante del tubo fotomultiplicador (PMT), donde se mide la luz generada por la reacción luminogénica. A diferencia de las reacciones quimioluminiscentes provocadas por ésteres de acridinio (que producen un destello de luz), la reacción amplificada por los enzimas del Sistema IMMULITE 2000, produce una radiación lumínica prolongada.

En la reacción luminogénica, el sustrato (un fosfato de adamantil-dioxetano) se desfosforiliza en un anión intermedio inestable, por medio del conjugado de fosfatasa alcalina capturado en la bola. El intermedio inestable, emite un fotón al descomponerse. La cantidad de luz emitida es directamente proporcional, a la cantidad de fosfatasa alcalina ligada.

Comparado con otros métodos de detección, la quimioluminiscencia proporciona el más alto nivel de Sensibilidad posible. En muchos casos, la Sensibilidad en órdenes de magnitud, es muy superior a la alcanzable con ensayos inmunológicos radiactivos.

- Eficiencia.
 - Rendimiento de hasta 200 pruebas por hora.
 - Diluciones automáticas.
 - Reassay automático de muestras fuera de rango.
 - Examinación de reflejos de información clínica adicional.
- Rendimiento excepcional.
 - Detección de coágulos.
 - Técnica de lavado de alta sensibilidad.

- Tercera generación de ensayo.
- Amplia rutina, así como para acelerar el menú de información de diagnóstico clínico.

En la actualidad se dispone de varios métodos de Screening que nos acercan en mayor o menor proporción, al diagnóstico de anomalías congénitas fetales. Ello posibilita que la paciente pueda optar por un control exhaustivo del feto, para un recién nacido en las mejores condiciones de manejo postnatal, y/o acogerse a la interrupción voluntaria del embarazo (IVE), según la Ley española actual, antes de la semana 22 de embarazo de acuerdo con su Obstetra en cumplimiento con la legislación.

En esta Tesis se trata de identificar las cromosomopatías, pero en concreto el Síndrome de Down, gracias a los “*marcadores ecográficos*” y a unos “*marcadores bioquímicos*” y posterior “*calculo del riesgo*” por el programa PRISCA de Siemens Diagnostic en nuestro quehacer de Laboratorio.

En nuestro Estudio utilizamos marcadores:

- Epidemiológicos (edad materna, raza, peso, talla, embarazo gemelar. Tabaco, alcohol [70], diabetes etc.)
- Marcadores ecográficos (Translucencia nual (TN), y CRL en mm).
- Marcadores bioquímicos (PAPP-A y B-hCG- libre).

Las prácticas más extendidas como indicación para ofrecer la utilización de “*técnicas invasivas*” para el diagnóstico citogenético son:

- Utilizar únicamente la edad materna avanzada, sin marcadores ecográficos ni bioquímicos.
- Utilizar marcadores bioquímicos del segundo trimestre y edad materna en un cálculo combinado de riesgo.
- Utilizar solo marcadores ecográficos.
- Un determinado grupo de unidades de distintas aéreas, en avanzadilla, han iniciado la aplicación del método combinado del primer trimestre (test combinado) que introduce en el “cálculo el riesgo proporcional” aportado por la edad, marcadores ecográficos (TN) y marcadores bioquímicos (PAPP-A y fracción libre de β -hCG).

En nuestro Estudio, del test combinado, incluimos determinación de dos marcadores “bioquímicos” y “ecográficos”, que siendo independientes, su utilización conjunta nos va a permitir aumentar la Sensibilidad y el Valor Predictivo (reducción de test falsos positivos).

➤ Actualmente la **SEGO** (Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia) recomienda la realización de una ecografía en el primer trimestre, que puede ser utilizada para el diagnóstico prenatal con varias misiones:

- Establecer la actividad fetal :

Posible gestación gemelar o múltiple. Fijar la edad gestacional.

Descartar algunas alteraciones estructurales y analizar los marcadores Ecográficos precoces en cromosomopatías.

- El “marcador ecográfico” por excelencia en nuestro Tesis ha sido la “Translucencia nucal” (TN), que no es más que un cúmulo fisiológico y transitorio de líquido en la región de la nuca, que procede embriológicamente del sistema linfático paracervical. Su medida se realiza en plano sagital, entre la parte externa del hueso occipital y la parte interna de la piel en la zona nucal, se expresa en milímetros (mm).
- Los “marcadores bioquímicos” son sustancias de origen fetal, placentario o feto-placentario cuyas concentraciones en suero materno, se modifican sustancialmente en presencia de determinadas anomalías cromosómicas ó de algunos defectos estructurales fetales (defectos del tubo neural o de la pared abdominal).

Estos parámetros séricos de la gestante nos van a determinar en qué medida se “modifica el riesgo individual” de presentar anomalías cromosómicas o anomalías congénitas y modificar el riesgo individual relacionado con la edad.

Se expresaran en múltiplos de la mediana (MoM) de los valores obtenidos para cada semana de gestación en fetos no afectados. En el síndrome de Down se utilizara como “*punto de corte*” el valor 1/270, que es el riesgo de una mujer de 35 años de presentar una trisomía (T21) en el segundo trimestre.

Se tendrá muy presente, dado que las concentraciones séricas varían con el curso de la gestación, la datación correcta de la gestación y el ajuste de una serie de parámetros, como edad, peso, talla, embarazo único o múltiple, diabetes, tabaco y raza

Se descartaron las gestantes para pruebas diagnosticas basadas solo en la edad materna.

Creemos que el “test combinado del primer trimestre” es el que ofrece en estos momentos mayores ventajas y es por ello el que hemos elegido para nuestra Tesis.

3.2.1.1 β -hCG Libre

La Gonadotropina Coriónica Humana (hCG), es una hormona de la familia de las glicoproteínas que se detectan en sangre y orina, solo durante el embarazo.

Es secretada por la placenta, empezando con el inicio del trofoblasto, desde el momento de la implantación y sirve de apoyo al cuerpo lúteo durante las primeras semanas del embarazo. Análogos también son producidas por diversas células neoplásicas trofoblásticas y no trofoblásticas.

La β -hCG intacta es una molécula de 39.500 dalton compuesta por dos subunidades Alfa y Beta, que se unen entre sí de forma no covalente. Estas subunidades pueden aparecer de forma libre, o sin capacidad de unión. Solamente la hCG intacta posee actividad biológica: La subunidad α de la hCG es estructuralmente “idéntica” a la subunidad α de otras hormonas glicoproteínas análogas de la pituitaria, como Hormona Luteinizante (LH), Folículo estimulante (FSH) y estimuladora del tiroides (TSH). La subunidad β es en cambio específica de estas hormonas y les confiere sus diferentes actividades biológicas. La subunidad β de hCG y LH, de todas formas, son estructuralmente muy similares, a tener en cuenta, considerando las actividades biológicas de estas dos hormonas.

La determinación de los niveles de “ β -hCG- libre” son una ayuda al diagnostico y seguimiento de enfermedades trofoblásticas (mola, coriocarcinomas,) y ciertos tumores testiculares, donde los ratios entre las subunidades β y la hCG intacta pueden ser algo elevados.

Ocasionalmente se encuentran tumores que solo secretan β -hCG libre, no detectándose nada de hCG intacta. Su aplicación en la diagnosis y monitorización de la recurrencia de tumores, requiere una alta sensibilidad del ensayo y una interpretación muy cuidadosa.

La “ β -hCG libre” es una proteína u hormona sintetizada por la placenta. Sus concentraciones sanguíneas cambian según la edad gestacional. En el síndrome de Down, para una determinada edad gestacional, sus valores en sangre se encuentran elevados.

Los valores de estas dos hormonas hay que expresarlos en función de la "edad en semana gestacional" y por ello se expresan en MoM, que es el valor sérico en una paciente, referido al valor de la mediana de una determinada semana gestacional. La normalidad está valorada como 1 MoM.

“En el Síndrome de Down, la β -hCG libre se incrementa por encima de 2 - 2.5 MoM”, mientras que la PAPP-A decrece por debajo de 0,4 MoM.

Determinaciones de β -hCG libre pueden tener valor en la monitorización temprana de los procedimientos de fertilización in Vitro.

Se ha publicado que la determinación de β -hCG libre en suero materno tiene una utilidad significativa en el screening del primero y segundo trimestre del embarazo para el síndrome de Down y otras anomalías cromosómicas.

En el primer trimestre, una combinación de la edad materna, niveles de PAPP-A, β -hCG libre y la medida de la TN, deben incrementar sustancialmente la eficiencia del screening prenatal, en comparación con el screening del segundo trimestre.

Varios autores han publicado eficiencias de detección del 85 al 90%. con un 5% de falsos positivos,

La β hCG Libre es un ensayo secuencial Inmunométrico con dos sitios de unión quimioluminiscente en fase sólida. La fase sólida está recubierta por anticuerpos monoclonales murino anti β HCG libre: La fase sólida consiste en dos reactivos:

1. Tampón de matriz proteica
2. Anticuerpos policlonales de cabra anti β hCG Libre marcado con fosfatasa alcalina (de intestino bovino) en solución tampón.

En el primer ciclo la muestra del paciente y el tampón, se incuban junto con la bola durante 30 minutos: Durante ese tiempo la β hCG libre de la muestra del paciente se une al Ac. Monoclonal murino anti β hCG libre de la bola. La muestra no unida, se elimina mediante lavados por centrifugación.

En el segundo ciclo, el anticuerpo policlonal de cabra anti β hCG libre marcado con fosfatasa alcalina, se añade al tubo de reacción original y se incuba durante 30 minutos. El anticuerpo policlonal de cabra anti β -hCG libre marcado enzimáticamente, se une a la β hCG inmovilizada, formando un complejo de Ac. tipo sándwich. El conjugado enzimático no unido, se elimina mediante lavados por centrifugación. Finalmente se le añade el sustrato quimioluminiscente al tubo de reacción, y la señal se genera en proporción a la enzima unida. Los ciclos de incubación : 2 x 30 minutos.

Para la recogida de las muestras, se recomienda el uso de una ultracentrífuga, para aclarar las muestras lipémicas.

Las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida en el Laboratorio; en esta caso todos los resultados de sueros hemolizados deben ser interpretados con precaución.

La centrifugación de las muestras de suero antes de que se forme el coágulo puede ocasionar la presencia de fibrina. Para evitar resultados erróneos debido a la presencia de fibrina, hay que asegurarse de que se ha “formado el coágulo antes de centrifugar la muestra”. Las muestras de pacientes sometidos a terapia anticoagulante, pueden requerir mayor tiempo para su coagulación.

Dato a tener presente es que al recoger sangre en tubos de diferentes fabricantes, pueden producirse valores diferentes, dependiendo ello del material del tubo y de los aditivos, incluyendo barreras de gel o barreras físicas, activadores de coagulación y/o anticoagulantes.

El volumen mínimo requerido es de 5 microlitros de suero. Se puede conservar la muestra 7 días a temperatura de 2-8 °C, o más tiempo siempre que estén a (-20° C). Hay que evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

Diluciones de las muestras: Las muestras con niveles de β -hCG Libre superiores al rango de detección deben ser diluidas con suero humano libre de hCG antes del ensayo. Los reactivos deben mantenerse a 2-8°C hasta su uso, y volverlos a tener en esas temperaturas una vez finalizado el proceso. Evitar la contaminación y exposición a la luz directa del sol.

Para obtener un funcionamiento óptimo es muy importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general, según lo definido en el manual del Operador. En nuestra Tesis se utilizaron controles de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de β HCG (bajo y alto).

3.2.1.2 PAPP-A

La Proteína Plasmática Asociada al Embarazo (PAPP-A) es una glicoproteína de alto peso molecular derivada de la placenta [72].

Fue descrita por primera vez por Lin et al. en 1974 como un componente de alto peso molecular del suero obtenido de mujeres en los últimos meses de la gestación [73]. Desde entonces se ha demostrado que es una gran metaloglicoproteína dimérica, que contiene zinc, con peso molecular de 800 kDa y una movilidad electroforética alfa-2.

Cada subunidad está formada por 1.547 residuos de aminoácidos y en el embarazo, deriva de un precursor mayor de origen placentario, (inicialmente se pensó que la PAPP-A circulante se presentaba como un dímero [74] pero estudios más recientes, han demostrado que se presenta como un componente de heterotetramero consistente en dos subunidades de PAPP-A disulfuro enlazadas, a dos subunidades de la proteína básica mayor eosinofila [75] (proMBP). Se considera que la forma libre de la PAPP-A no existe en el suero durante el embarazo [76].

Durante la gestación, las concentraciones de proMBP son entre 5 y 10 veces superiores a las de PAPP-A. PAPP-A y proMBP contienen un 13 y un 39 por ciento de carbohidratos respectivamente [77].

La PAPP-A es producida por los sincitiotrofoblastos de la placenta (tejido trofoblástico que se desarrolla en la capa externa de la placenta), en la forma de un precursor inicial de aproximadamente 80 aminoácidos más que la subunidad madura.

Durante el embarazo es producida en altas concentraciones por el trofoblasto y liberadas a la circulación materna. Los niveles de PAPP-A en el suero materno se elevan en forma constante con la edad gestacional, mas apreciablemente durante la última parte del embarazo.

La importancia funcional del PAPP-A nos es clara. Sin embargo hay estudios que sugieren que “concentraciones reducidas de PAPP-A” durante el embarazo están asociadas con anomalías cromosómicas en el feto.

Se ha informado que la evaluación con “**disminución de la PAPP-A en el suero materno entre las semanas 11 y 14 de embarazo**” tiene una utilidad importante en la detección del Síndrome de Down y otras anomalías cromosómicas.

Una combinación del riesgo materno relacionado con la edad, la B hCG-libre y la TN incrementan la eficacia de los exámenes de detección prenatal, en comparación con exámenes realizados en el segundo trimestre del embarazo. Con estos datos varios investigadores han informado porcentajes de detección para el síndrome de Down de 85 a 90%, con un 5% de falsos positivos.

Igualmente, como en el caso de la β hCG-libre, las muestras hemolizadas podrían indicar una mala manipulación de la muestra antes de ser recibida en el Laboratorio; en esta caso todos los resultados de sueros hemolizados deben ser interpretados con precaución. Tendremos en cuenta el mismo procedimiento que en la β hCG-libre para evitar la presencia de fibrina y lo antes expresado respecto a los tubos de extracción.

El volumen mínimo requerido es de 10 microlitros de suero o plasma. Se pueden conservar las muestras 24h. a temperatura de 2-8 ° C, o más tiempo (2 meses) siempre que estén a (-20° C). Hay que evitar las congelaciones y descongelaciones repetidas.

Para obtener un funcionamiento óptimo es muy importante realizar todos los procedimientos del mantenimiento general según lo definido en el manual del Operador. En nuestra Tesis se utilizaron controles de muestras con dos niveles diferentes, como mínimo, de PAPP-A (Bajo y Alto).

La trisomía 21 o síndrome de Down es uno de los objetivos prioritarios en el diagnóstico de anomalías cromosómicas fetales, pues es la aneuploidía más frecuente en los recién nacidos [69].

Desde el punto de vista histórico, la edad materna (35 años o más) es un factor de riesgo de tener un hijo con síndrome de Down como queda reflejado en estudios en los que a estas mujeres se ha proporcionado el diagnóstico genético por amniocentesis o biopsia de las vellosidades coriónicas [77].

En el decenio pasado se desarrollaron diferentes estrategias para el cribado de síndrome de Down (marcadores bioquímicos y ecográficos) los que, junto con la edad materna, condujeron a su detección con tasa de falsos positivos baja [71].

Los marcadores bioquímicos en suero materno, como la proteína A plasmática asociada al embarazo (PAPP-A) y la fracción β de gonadotropina coriónica humana libre (β -hCG libre), son efectivos para el tamizaje durante el primer trimestre [73,75].

La concentración promedio de β -hCG libre, en mujeres embarazadas con feto con síndrome de Down, “**augmenta**” a 1.98 múltiplos de la mediana (MoMs) durante el primer trimestre, y la de PAPP-A, una glucoproteína semejante a la hCG producida por el trofoblasto, “**disminuye**” en casi 0.43 múltiplos de la mediana.

Cuando sólo se utiliza PAPP-A la sensibilidad es de 40% , lo que indica baja tasa de detección, con 5% de falsos positivos. La mejor estrategia consiste en la integración de los resultados de diferentes marcadores determinados en el primer trimestre del embarazo, específicamente entre las semanas 10 y 13 [76,77].

La utilización de un solo marcador durante el primer trimestre ha sido discutida en otros estudios, como el de Lin en 1974 [73] o el de Oxvig en 1993 [75] su utilidad es dudosa y se requieren más investigaciones para valorar su eficacia y la edad óptima de aplicación.

Al respecto en nuestra Tesis mostramos los resultados de la PAPP-A, β hCG-libre y la TN como marcadores eficaces durante el primer trimestre del embarazo, para el “cálculo de probabilidades de riesgo de cromosomopatías”.

Las mujeres que acudieron a control prenatal en nuestra Área Geográfica entre las semanas 9 a 13 de embarazo (determinado por el primer día de la última menstruación, FUR) fueron las que participaron en el Estudio, después de recibir una explicación verbal. En estas visitas se les practicó una ecografía para corroborar la edad gestacional por longitud cefalocoxígea o diámetro biparietal cuando fue posible. Se determinó la translucencia nuchal y la osificación del hueso nasal.

El procedimiento para determinar la PAPP-A en el suero materno, se realizó con quimioluminiscencia inmunométrica; los resultados de este análisis se expresaron en mUI/mL y para estimar los puntos de corte se convirtieron a múltiplos de la mediana por semana de gestación.

Los resultados de la PAPP-A se muestran por semana de gestación; los valores bioquímicos se analizaron con estadística descriptiva y en múltiplos de la mediana (MoM) y se compararon los valores entre cada semana de gestación.

Los resultados del tamizaje con el marcador PAPP-A de las paciente, se clasificaron en una tabla de contingencia de 2 x 2, en la que cada uno se definió como:

- Falso positivo: embarazo normal con resultado positivo en el marcador.
- Falso negativo: embarazo anormal con resultado negativo.
- **Verdadero positivo:** embarazo anormal con resultado positivo.
- Verdadero negativo: embarazo normal con resultado negativo.

En lo que a edad materna respecta, se aplicó la misma metodología para definir a las pacientes con riesgo de síndrome de Down, con punto de corte en 38 años.

Los casos con concentraciones anormales de PAPP-A por debajo del punto de corte se aislaron para describirlos. Para el análisis de los datos se utilizó el programa Prisca de la casa Siemens, cuyos resultados se expresaron con estadística descriptiva. También se usaron frecuencias simples para las “variables nominales”, y medianas, medias y desviación estándar para las “variedades numéricas”. Se estimaron los valores de eficacia: sensibilidad, especificidad y tasa de falsos positivos. Para comparar los valores de la PAPP-A se utilizó la prueba de la *t* de Student para muestras independientes. La significación estadística se definió con una $p < 0.05$.

La concentración promedio:

- 1º de β -hCG libre, en mujeres embarazadas con feto con Síndrome de Down, “aumenta” a 1.98 múltiplos de la mediana durante el primer trimestre

- 2º la de PAPP-A, una glucoproteína semejante a la hCG producida por el trofoblasto,” disminuye” en casi 0.43 múltiplos de la mediana.

- El cálculo del riesgo de que un feto sea portador de una anomalía cromosómica, se establece a partir del riesgo que tiene la embarazada, debido a su edad, en el momento del parto o embarazo, modificado por el resultado obtenido con los marcadores, ya sean bioquímicos o ecográficos.
- Los valores de los marcadores bioquímicos o ecográficos, varían en las diferentes semanas de gestación. Para poder comparar los resultados e independizarlos del tiempo de gestación, al realizar el cálculo del riesgo, estos valores se expresan en MoM (múltiplos de la mediana). El Laboratorio debe expresar siempre la conversión.
- El valor normal de los diferentes marcadores es de 1 MoM, en términos generales.

Por lo cual cuanto más distante de 1 MoM esté el resultado del marcador según cuál sea, más significado patológico tiene dicho resultado, tanto para aumento como para descenso de los valores.

Para un MoM de PAPP-A, a “**valores más bajos**”, mayor riesgo de trisomía 21 y un MoM de β -hCG libre, a “**valores más altos**”, mayor riesgo de trisomía 21.

Los fetos con alteración cromosómica, en general, tienen valores bajos de PAPP-A. Valores inferiores a 0,4 MoM aumentan el riesgo de alteración cromosómica.

Estos marcadores forman parte de las “pruebas de detección” y no de las pruebas de diagnóstico, por lo cual debe quedar muy claro que si algún índice o marcador sale patológico, esto NO significa que se haya diagnosticado una alteración cromosómica, dado que estas pruebas NO son diagnósticas. Estas pruebas sólo nos informan sobre la posibilidad de que pueda existir algún tipo de riesgo (cálculo del Riesgo Alto/Bajo). Por lo cual una vez obtenido el resultado, este debe ser valorado por el Especialista Obstetra para determinar si es necesario realizar otras pruebas complementarias (biopsia corial, amniocentesis, etc.), dado que él dispone de todo el historial clínico y en base al mismo sabrá cómo interpretar y correlacionar estos datos correctamente. Insistimos en que no son pruebas diagnósticas, sino “pruebas de detección o sospecha”.

3.2.1.3 Programa de Cálculo de Riesgo: PRISCA 4.0.

Para poder emitir el “Informe de Riesgo” desde el Laboratorio de Análisis Clínicos, es indispensable que el Servicio de Obstetricia nos facilite el informe ecográfico que contiene los valores de TN y CRL.

A continuación describimos la información que nos es de interés a efectos de la Translucencia nucal (TN).

En 1985 se asoció el incremento del “pliegue nucal fetal” en el segundo trimestre con alteraciones cromosómicas. Posteriormente, se describió una asociación similar en el primer trimestre, pero en esta fase del embarazo se usó el término “Translucencia Nucal” (TN), para designar a la región sonoluscente situada en la parte posterior de la nuca fetal.

Es el marcador ecográfico por excelencia y el que más influye en el “*cálculo del riesgo*”. No se conocen patologías asociadas a una TN con valor inferior a 1. En cambio, cuanto mayor es el grosor de la TN, peor pronóstico fetal. Los “*valores patológicos*” de la TN suelen oscilar entre 1,8 - 2 MoM o una medida superior a 3 mm (independientemente de los MoM) [78].

No hay que confundir “Translucencia nucal”, con “pliegue nucal”. La Translucencia nucal y el pliegue nucal son parámetros diferentes [79].

En los primeros estudios se evaluó la TN mediante un punto de corte fijo, pero después se observó, que la TN se incrementa con la edad gestacional, y se realizaron curvas de crecimiento de la TN en relación a la Longitud Céfalo-Caudal (CRL), usada como parámetro, para datar la gestación en el primer trimestre. De este modo se pasó de evaluar la TN con un punto de corte fijo al uso del punto de corte basado en el CRL. Desde entonces, diferentes estudios que han confirmado los resultados iniciales.

El último paso clave para la implementación de la TN como método de cribado fue la definición de, las medianas en la población de fetos no afectados, la estandarización de las mediciones de TN, y la determinación de los parámetros poblacionales de la TN (media y desviación estándar), en poblaciones de fetos normales y afectados, para relacionar así el riesgo, asociado a la TN, con el asociado a la edad materna.

Son proporcionados por el Obstetra en el primer trimestre del embarazo, se fija la edad gestacional, se detectaran alteraciones estructurales si las hubiere y analizaran los marcadores ecográficos precoces de cromosopatías. El marcador esencial será la TN (Translucencia nucal), que es un marcador muy sensible y específico en el cribado de las trisomías autosómicas (T21, T18 y T13), y alteraciones estructurales, fundamentalmente las cardiopatías. Existe una correlación positiva entre el valor de la

TN y la incidencia de cromosopatías considerándose que a mayor valor, mayor riesgo.

Se denomina translucencia nucal (TN) al máximo grosor de la zona anecogénica subcutánea ubicada entre la piel y las partes blandas que recubren la espina cervical del feto [80]. En los últimos años la medición rutinaria de la TN ha tomado gran importancia en la práctica obstétrica [81], ya que el “**aumento del grosor**” de esta región ha demostrado ser el marcador ultrasonográfico más efectivo de trisomía 21 (síndrome de Down) y de muchas otras anomalías cromosómicas [79]. Esta observación ha permitido desarrollar un screening masivo de aneuploidías en el primer trimestre del embarazo, el que se basa en el grosor de la TN, ajustada según edad gestacional y edad materna, lo que logra detectar más del 80% de los fetos cromosómicamente anormales [82,83,84,85].

En el año 1995 Sepúlveda, [86] presenta en el I Congreso Chileno de Ultrasonografía el “Screening ultrasonográfico a las 11-14 semanas de gestación” y demuestra la importancia del estudio de la TN para el diagnóstico de aneuploidías y en posteriores estudios en los años 1997 y 1999, pone de manifiesto la correlación entre los hallazgos ultrasonográficos y los estudios realizados en velloso corial [87,88].

- Técnica para la medición de la TN.(Ultrasonografica que practica Obstetricia)

Para medir adecuadamente la TN se debe cumplir con los siguientes requisitos:

1) Obtener un buen corte sagital del feto, similar al que se obtiene para medir la longitud céfalo-nalgas.

2) Magnificar la imagen hasta que el feto ocupe al menos el 75% de la pantalla.

3) Medir el máximo grosor del espacio anecogénico entre la piel y el tejido que recubre la columna cervical del feto, colocando la línea transversal del calíper (cursor electrónico) en el borde interno de la piel.

4) Tener especial cuidado en diferenciar la piel fetal del amnios [85]. Es recomendable utilizar equipos ultrasonográficos de alta resolución, que dispongan de cine-loop para facilitar la obtención de la imagen. Esto permite obtener fácilmente el máximo grosor de la TN, una vez que el feto se mueve y se separa del amnios.

En estas condiciones es posible obtener imágenes adecuadas utilizando solo la vía transabdominal en más del 95% de los casos.

Es importante destacar que el screening de aneuploidía, se debe realizar después de la semana 10, ya que previamente a esa edad gestacional no existen métodos de diagnóstico prenatal disponibles. De esta manera, no parece adecuado ofrecer un método de screening si no se puede realizar un test diagnóstico validado, a aquellas mujeres que tengan resultados anormales [89]. Por lo tanto, la TN se debe medir entre las 10 y 14 semanas de gestación, lo que corresponde a una longitud céfalo-nalgas de 38 a 85 mm [85]. Ya que esta ventana es relativamente amplia y en esta fecha ocurren cambios morfológicos importantes en el feto, varios autores han tratado de determinar si este margen puede estrecharse para obtener mejores resultados. Un estudio reciente comparó el porcentaje de éxito en obtener la TN a diferentes edades gestacionales, como así también la factibilidad de evaluar complementariamente la anatomía fetal [90].

Fué posible medir la TN entre las 10 y 13 semanas en un 98% de los casos, porcentaje que disminuyó a un 90% a la semana 14. En cuanto a la anatomía fetal, fue posible excluir malformaciones mayores en un 6% de los casos a la semana 10, en un 75% a la semana 11, en un 96% a la semana 12 y en un 98% a las semanas 13 y 14. Conjugando ambos parámetros, se concluyó que el **“mejor momento” para realizar el examen es entre las semanas 12 y 13**, fechas en que se logra medir la TN y efectuar una adecuada evaluación de la anatomía fetal para un 95% de los casos [90].

- Valores normales de TN.

Inicialmente se consideró una TN anormal a aquella que medía ≥ 3 mm, independiente de la edad gestacional en que ésta era evaluada [80]. Sin embargo, estudios posteriores demostraron que la TN aumenta progresivamente a medida que aumenta la edad gestacional, por lo que ha sido necesario construir normogramas según la longitud céfalo-nalgas para su correcta evaluación [82]. Algunos autores han propuesto utilizar *“múltiplos de la media”* o *“intervalos de referencia”* en lugar de *“valores absolutos”*, lo que permitiría disminuir los resultados falsos positivos [91,92].

Estudios más detallados han demostrado que la TN aumenta un 17% semanalmente y un 96% de los valores normales se encuentran entre 0.5 y 2 múltiplos de la media [93]. Sin embargo, no se ha logrado establecer claramente la ventaja de reemplazar valores absolutos por valores dependientes de la edad gestacional para mejorar el rendimiento de esta técnica en la detección de aneuploidía [94,95]. Además, estos últimos métodos tienen la limitación de que cada Centro debe construir sus propias tablas de normalidad y así en el Hospital de Jerez se efectuó.

- Reproducibilidad.

Antes de implementar un método de screening es relevante determinar la reproducibilidad de la técnica. Un estudio encontró diferencias interobservador significativas en un 18% de los casos [96]. Sin embargo, el grupo que introdujo esta

técnica en la práctica clínica, estableció una variabilidad intraobservador e interobservador menor de 0.54 mm y 0.62 m, respectivamente, en el 95% de los casos [97]. Según este último estudio, el principal factor que explica esta alta reproducibilidad, es el lugar donde se colocan los calipers y no la generación de la imagen [97]. Otros autores han demostrado que la reproducibilidad, no depende de la magnificación de la imagen [98] pero sí mejora sustancialmente cuando el ultrasonografista está “adecuadamente entrenado [99]. Más aún, evidencias recientes han mostrado que la posición fetal (flectada, neutra y deflectada), puede modificar significativamente la medición, encontrándose que la mejor reproducibilidad se obtienen en la “posición neutra o de reposo fetal” [100,101].

- Cribado precoz de aneuploidía.

El concepto de “*screening ultrasonográfico de aneuploidía en el primer trimestre*” mediante la “*medición de la TN*” fue originalmente propuesto en 1992 por Nicolaidis y cols [80] quienes correlacionaron el “*grosor de la TN*” con el resultado del cariograma fetal en una población de alto riesgo referida para biopsia de vellosidades coriales, principalmente por edad materna avanzada. En el estudio original, este grupo demostró que “**fetos con TN ≥ 3 mm**” tienen un riesgo 10 veces mayor que el correspondiente al riesgo basal de aneuploidía determinado por edad materna [80]. En un estudio posterior con 1273 embarazos, este mismo grupo encontró que un 84 % de los fetos con trisomía 21, tenían TN ≥ 3 mm, en comparación con un 4 % de fetos euploides [81].

Al combinar la “*medición de la TN*” y la “*edad materna*” lograron detectar un 85% de los fetos con trisomía 21, lo cual resultaba ser superior a lo reportado previamente para otros métodos de screening, que utilizan la edad materna avanzada (detección 20-30%) y la edad materna asociada con screening bioquímico materno (detección 50- 60%). También lograron determinar que “*a medida que aumenta la TN*”, mayor es el riesgo de trisomía 21 [101], de tal forma que, una TN de 3 mm aumenta el riesgo basal de trisomía 21 de acuerdo a la edad materna en 3 veces, una TN de 4 mm en 18 veces, una TN de 5 mm en 28 veces, y una TN ≥ 6 mm en 36 veces. Sin embargo, debido a que la asociación entre TN aumentada y trisomía 21 no depende de la edad materna, este grupo ha enfatizado en los últimos años, la incorporación de la edad materna como variable independiente en el cálculo del riesgo individual de aneuploidía [82,85]. Diversos trabajos posteriores han confirmado esta relación, comunicando una sensibilidad global del método de un 77% para trisomía 21 y 67% para otras aneuploidías, variando según los diferentes estudios entre el 57 % y 88 %. [102,103,104,105].

Debido a que la experiencia inicial con la TN fue obtenida en población de alto riesgo de aneuploidía es necesario evaluar el rendimiento de esta técnica en la población obstétrica general [100]. En este último grupo los resultados han sido contradictorios.

Un estudio prospectivo en 1368 embarazos no seleccionados, encontró que un 6% de los fetos examinados tenían TN ≥ 3 mm y sólo uno de los tres fetos con trisomía 21 fuè detectado con este examen. Este grupo concluyó que el rendimiento de la TN fue inferior al triple test en sangre materna como método de screening de trisomía 21 [106].

No obstante, un mayor estudio en población obstétrica no seleccionada (n= 20.804 embarazos) concluyó que la combinación de la “edad materna con TN aumentada” permite la detección del 78% de los casos de trisomía 21 con un 5 % de falsos positivos [107,108]. El hecho fundamental para obtener un buen rendimiento fuè la preparación adecuada de los ultrasonografistas especialistas Obstetras, quienes debieron recibir entrenamiento teórico y práctico antes de realizar las mediciones.

Otros estudios en población general han podido establecer una detección entre un 65-91% de las trisomías [107,109]

Finalmente, el Informe Final del estudio multicéntrico del Reino Unido, con más de 100.000 embarazos examinados, estableció que la combinación de edad materna y TN, permite la detección de un 82% de las trisomías 21 y un 78% de otras anomalías cromosómicas [85].

Actualmente, uno de los grandes retos diagnósticos es mejorar el rendimiento de la TN en la detección de fetos cromosómicamente anormales en el primer trimestre. En un estudio multicéntrico del Reino Unido se estableció que es necesario ofrecer estudio citogenético prenatal, técnica invasiva amniocentesis o vellosidad corial a 30 mujeres con riesgo de aneuploidía superior a 1/ 300 para detectar un caso de trisomía 21 [85].

En este sentido, se han evaluado diferentes métodos para mejorar el rendimiento de la TN, dentro de los que destaca el estudio de la frecuencia cardíaca fetal y de parámetros circulatorios fetales con ultrasonografía Doppler color.

La incorporación de la “*frecuencia cardíaca*” al cálculo de riesgo ha demostrado mejorar detección de trisomías 21 y 18, de un 62% a un 75%, y de un 27% a 81% para otras anomalías cromosómicas [110,111]. Asimismo, el estudio Doppler del cordón umbilical y ductus venosus, puede mejorar sustancialmente la detección de aneuploidía, lo que permitiría disminuir el porcentaje de resultados falsos positivos [112,113]. Algunos autores han cuestionado la implementación de un programa de screening de aneuploidía en el primer trimestre, basado en las diferentes resultados obtenidos en grupos seleccionados y en población obstétrica general [89,96,106,114]. Además, una crítica válida, es el hecho que la TN tiende a identificar preferentemente a aquellos fetos que tienen mayor probabilidad de ser abortados espontáneamente en la primera mitad del embarazo [89,115,116]. No obstante, estudios de análisis de costos establecen que la implementación de un “programa de screening de aneuploidía en el primer trimestre de la gestación” permite disminuir significativamente la realización de

procedimientos invasivos, al seleccionar en forma más adecuada, a las mujeres de mayor riesgo [90]. Sin embargo, estos estudios se han basado en el hecho que el diagnóstico de trisomía 21, permite acceder a la terminación electiva del embarazo (IVE) en un número sustancial de casos, lo que no permite extrapolar dichos resultados a nuestra realidad.

Pese a que la utilidad de los marcadores bioquímicos en suero materno, tales como la gonadotropina coriónica humana (hCG), alfa-fetoproteína y estriol no conjugado, en el segundo trimestre está bien documentada en la literatura, su rol en la detección de anomalías cromosómicas en el primer trimestre, sólo surge a partir de 1995 al demostrarse un incremento en la detección de aneuploidías al combinar la TN, edad materna y la medición de B-hCG en suero materno [117]. Sin embargo, parece no estar demostrada la utilidad en la medición de alfa-fetoproteína sérica materna entre las 10 y 13 semanas. Los mismos autores comunicaron posteriormente un mejor rendimiento al asociar la TN con la fracción A de la proteína plasmática materna relacionada con el embarazo (PAPP-A), en la detección de síndrome de Down [118].

En concordancia con dicha publicación, otros autores han encontrado que la combinación de una TN ≥ 3 mm con niveles disminuidos de PAPP-A, tiene un alto valor predictivo positivo para aneuploidía [119]. Otro estudio comunicó una sensibilidad de un 85% para la detección de trisomía 21 al combinar el uso de TN, edad materna, PAPP-A y B-Hcg [120]. Finalmente, Spencer y cols. comunicaron una Sensibilidad de 89% en la detección de trisomía 21 utilizando la misma combinación, lo cual representa un incremento de un 16% por sobre la combinación de TN y edad materna en ausencia de marcadores bioquímicos [121].

Hay que ser enfático en destacar que la mayoría de fetos con TN aumentada, no tienen anomalías cromosómicas asociadas. Esto ha obligado a estudiar otros factores que se asocien a un aumento de la TN en el primer trimestre del embarazo, dentro de las que destacan alteraciones fetales, tanto genéticas como estructurales. Fetos con TN aumentada, tienen una mayor incidencia de aborto espontáneo en comparación con aquellos con TN normal.

Al respecto, un estudio encontró que entre un 2-4% de los fetos con TN de 3-4 mm abortan espontáneamente, lo que aumenta a un 13% si la TN es de 5 mm o más [101]. También se ha comunicado un incremento significativo en el hallazgo de “defectos cardíacos” y “esqueléticos” cuando la TN es >3.5 mm (10% versus 2% en fetos con TN normal)[122]. Un estudio que incluyó 4.233 gestaciones no seleccionadas, encontró un 23% de “malformaciones cardíacas severas” en fetos con TN aumentada y cariógrama normal [107]. Souka y cols. comunicaron una elevada prevalencia de defectos genéticos y estructurales, en fetos con TN nuchal elevada [123].

Anomalías fetales y síndromes genético, en fetos cromosómicamente normales pero con TN aumentada entre las 10- 14 semanas han sido encontradas por varios autores :

- Encefalocele
- Anencefalia
- Ventriculomegalia
- Quiste de Dandy-Walker
- Holoprosencefalia
- Microcefalia
- Microftalmia
- Quiste laríngeo
- Higroma quístico
- Defectos cardíacos mayores
- Hernia diafragmática
- Gastrosquisis
- Obstrucción intestinal
- Atresia duodenal
- Hidronefrosis
- Riñón multiquístico
- Agenesia renal
- Espina bífida
- Cifoescoliosis
- Diastematomelia
- Deformación aquinésica
- Síndrome de Jarcho-Levin
- Síndrome de Joubert
- Síndrome de Nance-Sweeney
- Síndrome de Noonan
- Síndrome de Smith-Lemli-Opitz
- Atrofia muscular espinal
- Displasia tanatofórica
- Triginocefalia

En otro estudio, Bilardo y cols. encontraron un 10% de anomalías estructurales, 4% de síndromes genéticos, 8% de desordenes monogénicos y un 32% de resultado perinatal desfavorable en fetos con TN ≥ 3 mm [124]. Dentro de las anomalías detectadas en fetos con TN aumentada, han cobrado especial importancia las “*anomalías cardíacas*”, ya que su detección prenatal es difícil y el contar con esta información antes del nacimiento, resulta crítico para lograr un mejor resultado perinatal.

Al respecto, Hyett y cols. reportaron una sensibilidad de un 56% y valor predictivo negativo de un 99% para la detección de anomalías cardíacas mayores, cuando la TN se encontraba sobre el percentil 95 para la edad gestacional [125]. Dicho estudio demostró un rendimiento superior, a la visión de cuatro cámaras, entre las 16-20 semanas para el diagnóstico de anomalías cardíacas mayores, que de acuerdo a estudios recientes sólo detectaría un 26% de éstas [126]. Por lo tanto, de acuerdo con este estudio, el hallazgo de una “*TN >3.5 mm en fetos con cariograma normal*” constituye una indicación de ecocardiografía fetal en el segundo trimestre. Estudios recientes han relacionado el incremento de la TN, con otros factores tales como una “*circular de cordón umbilical al cuello fetal*”. Schaefer y cols [127] encontraron que la presencia de una circular de cordón, puede causar resultados falsos positivos (8% en su serie de 320 gestaciones).

Maymon y cols. [128] en una publicación posterior, reportan otros dos casos de aumento de TN en fetos con cariotipo y anatomía normal en los que detectaron, mediante estudio Doppler color, una circular al cuello fetal. Basado en esta experiencia, estos autores plantean el uso del Doppler color para descartar circular de cordón, ya que podría determinar un resultado falso positivo. En caso de encontrarse, se ha sugerido medir la TN sobre y bajo la circular y emplear la medición menor para el cálculo del riesgo de aneuploidía [129].

En el año 2004 Nicolaides propone una serie de normas para una correcta medida de la Translucencia Nucal:

- La edad gestacional debe ser de 10-13 semanas + 6d. y la longitud cráneo-caudal (CRL) de 38-84 mm.
- Debe de obtenerse un corte sagital medio del feto, y la TN debe ser medida con el feto en posición neutra.
- Únicamente la cabeza fetal y el tórax superior deben incluirse en la imagen. La magnificación debe ser la máxima posible y siempre tal que, cada mínimo movimiento de los calipers produzca un cambio de 0,1 mm.
- Debe medirse el máximo grosor de translucencia subcutánea entre la piel y el tejido que cubre la columna cervical. Debe prestarse especial atención a la hora de distinguir entre, la piel fetal y el amnios.
- Los calipers deben situarse sobre las líneas que definen el grosor de la TN, la cruz del caliper debe ser difícilmente visible a medida que surge el borde de la línea y no debe verse en el fluido nucal.

- Durante la exploración debe de tomarse, más de una medida y anotar finalmente la mayor de ellas

- Embarazos Gemelares.

En las gestaciones múltiples el “*diagnóstico prenatal es complicado*”, debido a que los métodos de screening utilizados, tales como la bioquímica materna y técnicas invasivas, pueden dar resultados inciertos. El rendimiento de la TN en la detección de aneuploidía en embarazos gemelares, es similar al obtenido en embarazos únicos [83]. Sin embargo, resulta fundamental “*determinar la corionicidad previamente*” a la medición de la TN [130], ya que esta técnica tiene una menor especificidad en gestaciones monocoriónicas, debido a que el incremento de la TN en este grupo puede ser secundario a un desbalance hemodinámica como primer signo de síndrome de transfusión fetofetal [131,132]. El cálculo del riesgo individual de aneuploidía en gestaciones gemelares, también puede ayudar a determinar el momento óptimo para realizar estudios invasivos. Un riesgo de aneuploidía con valor de 1/ 50, obliga a ofrecer biopsia de vellosidades coriales. En cambio, un riesgo menor hace aconsejable la amniocentesis en el segundo trimestre debido a su menor complejidad y riesgo [133].

En “*gestaciones monocoriales*”, debido a que los dos fetos tienen el mismo genotipo, el “*riesgo de aneuploidía es similar*” al que correspondería, si fuese un embarazo único. Es decir, o ambos fetos son sanos o ambos son portadores de aneuploidía.

Las “*gestaciones bicoriales*” concentran preferentemente embarazo bicigóticos, por lo que el “*riesgo de aneuploidía se duplica*” en casos de gemelos no idénticos, ya que existe la posibilidad, de que sólo uno de los fetos tenga aneuploidía, pero no el otro.

Por lo tanto, en el “*caso de embarazos monocoriónicos se aconseja utilizar el riesgo del feto con menor TN*” y en el “*caso de embarazos bicoriónicos se debe establecer el riesgo individual para cada uno de ellos*” [129].

Ventajas adicionales: Aunque el principal propósito de la medición rutinaria de la TN es la detección precoz de trisomía 21, el hecho de realizar un estudio ultrasonográfico entre las 10 y 13+6 semanas de gestación, tiene grandes ventajas desde el punto de vista obstétrico. En primer lugar, la medición de la longitud céfalo-nalgas permite “*establecer con seguridad la edad gestacional*” con un rango de error de aproximadamente 4 días. En forma similar, la confirmación de viabilidad fetal en esta fecha, asegura un buen pronóstico de la gestación en sobre el 95% de los casos. Debe recordarse que la gran mayoría de los abortos espontáneos en la especie humana, ocurren antes de la semana 10, dentro de los cuales las aberraciones cromosómicas no-viables son responsables de un 50-60% de los casos [134].

Otra ventaja es la detección precoz de los “*embarazos múltiples y su corionicidad*”. En este sentido, la determinación de la corionicidad es altamente confiable en esta fecha, ya que los embarazos bicoriales presentan el signo lambda, fácilmente reconocible a esta edad gestacional, independiente de la localización placentaria, mientras que los embarazos monocoriales no lo tienen [130].

La detección de una “gestación monocorial” es además importante, ya que un 12% abortará antes de la semana 24 como consecuencia de transfusión feto fetal, lo que contrasta con una mortalidad de 2% encontrada en “gestaciones bicoriales” en esta misma fecha [131]. Finalmente, debido a la mejoría en la resolución y calidad de imagen de los equipos actualmente disponibles, es también factible realizar un estudio anatómico fetal para la detección de “*anomalías estructurales mayores*”, tales como anencefalia, onfalocele y uropatía obstructiva [123,159].

A continuación describimos el programa de Cálculo de Riesgo Prisca 4.0, a partir del cual, emitimos desde el Laboratorio, el “Informe final del Índice de Riesgo para trisomía 21”.

Prisca 4.0 es una aplicación de software para la determinación del riesgo estadístico del Síndrome de Down (trisomía 21) y del Síndrome de Edwards (trisomía 18) en el primer trimestre de embarazo. El riesgo de una mujer gestante, tal como lo calcula el software, no es confirmatorio de esas anomalías cromosómicas; sino que su utilidad es para el diagnóstico “in Vitro” como soporte adicional para decisión en relación con llevar o no a cabo un procedimiento diagnóstico.

Se van a usar unos algoritmos específicos para la determinación del Riesgo estadístico, para algunas “combinaciones de marcadores bioquímicos y la edad materna, y la edad gestacional exacta y la translucencia nuchal (TN)”.

El Cálculo del Riesgo con el software PRISCA 4.0 utiliza la edad materna, la edad exacta gestacional, datos relevantes de la historia médica y la medida de marcadores bioquímicos (PAPP-A y β hCG-libre). Las medianas para las semanas 10 hasta 13 (1º trimestre) están bien documentadas para cada uno de los marcadores bioquímicos.

PRISCA 4.0 compara el resultado del suero del paciente con la mediana de su edad gestacional para dar un resultado de múltiplo de la mediana (MoM) para los test bioquímicos PAPP-A y β hCG-libre durante el primer trimestre. También se puede calcular un MoM de la TN y combinarlo con los marcadores bioquímicos.

PRISCA 4.0 también es capaz de generar MoM corregidas por múltiples factores como edad gestacional, peso materno, etnia, embarazo gemelar, tabaquismo, diabetes y procedimientos de Fecundación In Vitro (FIV). Una vez que se ha obtenido el valor de

MoM, se calcula el ratio para esos valores, y la combinación de todos los posibles ratios junto con el riesgo relacionado con la edad materna, darán el “Cálculo del Riesgo” definitivo.

PRISCA 4.0 es un Programa bajo Windows fácil de usar. Tiene un módulo estadístico que permite actualizar las medianas y la creación de un programa de control de calidad para el seguimiento de los componentes relevantes en el cribado, como por ejemplo las MoMs, tasas de detección, tasa de falsos positivos, parámetros de la población.

Figura 3. Programa Prisca 4.0

The screenshot shows the PRISCA 4.0 software interface. The main window is titled 'PRISCA' and has a menu bar with 'Registro', 'Servicio', 'Especial', 'Información', and 'Ayuda'. Below the menu bar are two tabs: 'Lista' and 'Paciente'. The 'Paciente' tab is active, showing a form for patient data and calculation parameters. The form includes fields for 'Apellidos' (prueba), 'Nombre' (prueba), 'CIP', 'Muestra N°', 'Doctor', 'F. Nacimiento' (03/01/90), 'Edad' (22.3), 'Peso' (56), 'Fumadora' (desconocido), 'Diabetes' (desconocido), 'Raza' (Caucasiana), and 'Embarazo FIV' (desconocido). Calculation parameters include 'Ecografista' (??), 'N° de Fetos' (1), 'CRL' (56), 'Fecha' (03/04/12), 'Periodo gestación (fecha ecografía)' (12 + 0), 'Fecha de extracción' (04/04/12), 'Periodo gestación (fecha extracción)' (12 + 1), 'Método de cálculo' (ECC), 'Translucencia Nucal' (2), and 'MoM' (1.35). On the right side, there are several risk calculation results: 'Cálculo del riesgo en el día de extracción', 'Riesgo por la edad 1:1035', 'Riesgo bioquímico FB - PAPP 1:1196', 'Riesgo Combinado Tr21 FB - PAPP - NT 1:1535', 'Riesgo para DTN', and 'Riesgo para Tr. 18 <1:10000'. At the bottom left, there is a table of markers with their values, medians, MoM, and corrected MoM.

| Marcadores | Valor | Mediana | MoM | MoM corregido |
|-------------|-------|---------|------|---------------|
| b-HCG Libre | 52,00 | 34,94 | 1,49 | 1,45 |
| PAPP-A | 2,02 | 2,54 | 0,80 | 0,70 |
| AFP | | | | |
| HCG | | | | |
| uE3 | | | | |

Todos los datos relevantes para el Cálculo de Riesgo aparecen en la Página de Inicio de PRISCA 4.0. La apariencia de la Página de Inicio depende del Protocolo seleccionado. La imagen superior corresponde a la Página de Inicio para el protocolo tradicional de “Cribado Combinado 1º Trimestre, que calcula el riesgo con los parámetros bioquímicos PAPP-A y β hCG-libre”.

Tan pronto como se introducen suficientes datos para el Cálculo del Riesgo, éste aparece.

Un gran número de factores pueden afectar a los MoMs. Los MoMs se corrigen si la paciente es fumadora, diabética, o si tiene un embarazo de FIV. La raza también es relevante, y por supuesto el peso de la madre.

Para el Cálculo de Riesgo, solo los MoMs corregidos que aparecen en la cuarta columna de la parte inferior de la página de inicio, son relevantes.


Prisca puede calcular los siguientes riesgos:

- Riesgo por la edad
- Riesgo Bioquímico para Trisomía 21.
- Una combinación de Translucencia nuchal + Riesgo Bioquímico para Trisomía 21.


Debemos especificar que es este último, el que hemos utilizado para esta Tesis, ya que es el que nos aporta mayor valor.

Cuando el Riesgo calculado está por debajo del valor de corte, se considera normal y aparece en “*verde*”; cuando el riesgo calculado está por encima del valor de corte, se considera anormal y aparece en “*rojo*”. El **punto de corte** que hemos utilizado en la tesis es **1:270** y que es el aceptado internacionalmente para esta tecnología.

Figura 4. Informe de Resultado del Cribado Combinado de Cromosopatías del Programa Prisca 4.0



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD
JUNTA DE ANDALUCÍA



HOSPITAL
JEREZ

Servicio de Análisis Clínicos

| Nombre: TESIS PRUEBA TESIS PRUEBA | | | | |
|-----------------------------------|-------------------|----------|-----------|------------|
| Solicitante: ??? | Día de extracción | 24/03/12 | Peso (Kg) | 60 |
| | Nº de petición | | Raza | Caucasiana |
| | Edad: | 32,2 | Diabetes: | No |
| | F. Nacimiento | 02/01/80 | Fumadora: | No |
| | NHC/CIP | | Fetos: | 1 |

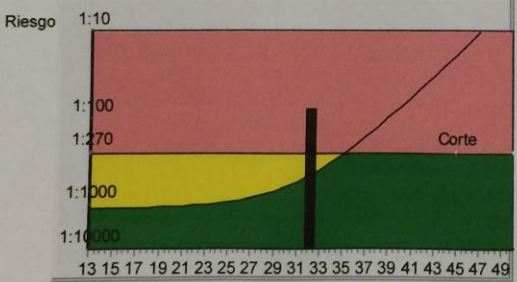
Resultados del Screening de Cromosopatías

| DATOS ECOGRAFICOS | | | | |
|--|----------|------------------------------|------|-----|
| Día de ecografía: | 24/03/12 | Medida por: | ??? | |
| Longitud Cráneo caudal (CRL) | 59mm | Requisitos en medición de NT | si | |
| Periodo de gestación basado en CRL | 12+ 2 | Translucencia nucal: | 1,9 | mm |
| Periodo de gestación el día de la extracción | 12+ 2 | | 1,23 | MoM |

| DATOS BIOQUIMICOS | | | | |
|-------------------|-------------|------|---------------|--|
| b-HCG libre | 75,00 ng/ml | 2,19 | MoM corregido | |
| PAPP-A | 1,05 mIU/ml | 0,37 | MoM corregido | |

INDICE DE RIESGO PRENATAL PARA ANOMALIAS CONGÉNITAS PRIMER TRIMESTRE

| | | |
|--|--------------------|------------------------------------|
| - Riesgo por edad Síndrome de Down: | 1:462 | |
| - Riesgo bioquímico Síndrome de Down: | >1:50 | |
| - Riesgo combinado Síndrome de Down: | 1:80 | ALTO riesgo (> 1: 270) |
| - Riesgo combinado Síndrome de Edwards: | <1:10000 | BAJO riesgo (<= 1: 100) |



VALORES DE REFERENCIA:

SINDROME DE DOWN:

Riesgo alto: Índice > 1:270

Riesgo bajo: Índice <= 1:270

SINDROME DE EDWARDS:

Riesgo alto: Índice > 1:100

Riesgo bajo: Índice <= 1:100

El riesgo obtenido con el programa PRISCA depende de la exactitud de la información facilitada por el especialista. Debe tener en cuenta que estos resultados son cálculos estadísticos y no tienen valor diagnóstico. Si las medianas y la fecha de gestación son correctas, se espera un porcentaje de falsos positivos de 5%. Los cálculos se basan en el protocolo de la Fetal Medicine Foundation aplicados en las mediciones de TN.

Fecha del informe: 24/03/15

Firmado:

3.2.1.4 Preparación para envío al Centro de Referencia del material biológico para realización de Cariotipo.

Al Laboratorio de Análisis Clínicos nos envían el material biológico resultante de las técnicas invasivas realizadas en la consulta de Alto Riesgo de Obstetricia (líquido amniótico o vellosidad corial), para proceder a su preparación, cumplimentación de petición y envío como muestra biológica al Laboratorio de Referencia, en el que se procede a la realización de las técnicas de cariotipo y QF-PCR, tal y como describimos a continuación.

El resultado definitivo enviado por el Laboratorio de Referencia, es recibido en el Laboratorio de Análisis Clínicos y enviado a la consulta de Alto Riesgo peticionaria.

3.2.1.4.1 Cariotipo

El “diagnóstico prenatal de certeza” puede realizarse mediante un procedimiento invasivo, que conlleva un riesgo de pérdida fetal de 0,5-1%.

El procedimiento invasivo más utilizado en diagnóstico prenatal ha sido la “**amniocentesis**” que presenta una tasa de pérdidas gestacionales del 0,5-1%. Con el desplazamiento del cribado de cromosomopatías al primer trimestre, se ha incrementado el número de “**biopsias de corion**” que se realizan como segundo procedimiento invasivo.

- Lugar: Consulta de Alto Riesgo.
- Responsable: Facultativo de la Unidad de Obstetricia.
- Objetivo: Realización de Técnica Invasiva en caso de Test de Cribado positivo o encaso de que la gestante lo solicite y considerado por el Obstetra.
- El método de elección varía y así lo hemos aplicado en esta Tesis, según la edad gestacional y así concretamos :

“Entre las 11 a 14 semanas es la biopsia de corion”. En más del 90% de los casos, la biopsia corial puede realizarse por vía transabdominal o transcervical con un riesgo de pérdida del embarazo asociada al procedimiento del 1%.

“Después de la semana 14”, el método de elección ha sido la “**amniocentesis**”.

TÉCNICA ANALÍTICA:

- **Fase preanalítica:**

En esta etapa de la técnica se realizan distintas operaciones previas a la realización de los cultivos celulares y que son de vital trascendencia.

- Cada una de las muestras de líquido amniótico recibidas en el departamento es registrada y numerada. Este es un sistema paralelo e independiente al proceso general que siguen todas las muestras que se reciben en el laboratorio.
- Las identificaciones de los tubos que contienen las muestras, se cotejan con las hojas de petición y se comprueba la información clínica anexa. En función de dicha información se realizan las analíticas adicionales pertinentes ó se contacta con el cliente para personalizar al máximo. Para establecer el máximo control en este apartado es de vital importancia que las hojas de petición sean revisadas personalmente por el responsable del programa de Cribado en el laboratorio de Análisis Clínicos, ya que una vez iniciado el procesado de la muestra en ocasiones es imposible disponer de material suficiente para realizar analíticas adicionales.
- Los frascos de cultivo y los tubos para almacenar las muestras destinadas a otras determinaciones son etiquetadas para su correcta identificación y trazabilidad.
- Detección de las muestras hemáticas. En éstas se aplica un protocolo especial, ya que acostumbran a tener un crecimiento más lento y más probabilidades de que sus cultivos sufran una falta de crecimiento celular.
- **Fase analítica:**

En esta fase se procede a establecer los cultivos celulares pertinentes y a realizar su seguimiento hasta su procesado final y estudio.

El protocolo utilizado en la fase analítica ha sido desarrollado completamente en el Departamento de Citogenética de Reference Laboratory, en Barcelona, en base a la experiencia acumulada a lo largo de los años de existencia del mismo y a los reactivos y materiales mejores del mercado que han sido testados en el propio laboratorio. De ello surge una técnica que combina dos medios de cultivo comerciales diferentes, dos tipos de frascos de cultivo distintos e incubadores independientes. Este hecho permite combinar en una misma muestra todas las opciones posibles para evitar que cualquier incompatibilidad o problema técnico (interno o externo) pueda desembocar en la falta de crecimiento celular de la muestra.

Por su interés valorado para esta Tesis, como información complementaria solo describimos a continuación las etapas de la fase analítica practicada a las muestras de gestantes estudiadas en forma externalizada para cariotipo.

La fase analítica consta de 4 etapas:

1- Realización de los cultivos celulares:

En la Figura 5 Representamos detalladamente los pasos aplicados a partir de las muestras de líquido amniótico obtenido en Obstetricia.

Figura 5. Cultivos celulares del Cariotipo

REALIZACIÓN DE LOS CULTIVOS CELULARES



2- Seguimiento de los cultivos celulares:

Tras la incubación de los cultivos y hasta el momento de su procesado, se realizaba un control constante y periódico del estado de cada uno de ellos.

Figura 6. Incubador



- Incubación de los cultivos semicerrados a 37 °C y con CO₂ durante una semana sin manipulación alguna. Cada cultivo se introduce en incubadores independientes con CO₂ y alimentación eléctrica por módulos separados (A, B y F).
- Renovación periódica del medio de cultivo y control periódico del crecimiento.
- Registro del estado de los cultivos y de cualquier incidencia en documento interno, que permite conocer inmediatamente en qué fase del proceso se encuentran.
- Cuando el crecimiento es óptimo, se agrupan los cultivos para su procesado.

Los sistemas de “cultivo semicerrado” tienen mayor coste, que los sistemas de “cultivo abierto”, pero permiten reducir de manera significativa las contaminaciones por hongos y bacterias, disminuyendo los fallos de crecimiento y los cultivos de crecimiento lento, con escaso número de células y baja calidad de las metafases. Es este “cultivo

semicerrado” el que se ha utilizado y de cuyos resultados se obtienen datos específicos para esta Tesis.

El sistema de “cultivo en flaskettes”, permite una mejor discriminación de los “pseudomosaicismos” respecto al sistema clásico.

3- Procesado de los cultivos celulares:

El procesado tiene una pequeña variante, en función del frasco de cultivo utilizado.

FALCON (método clásico):

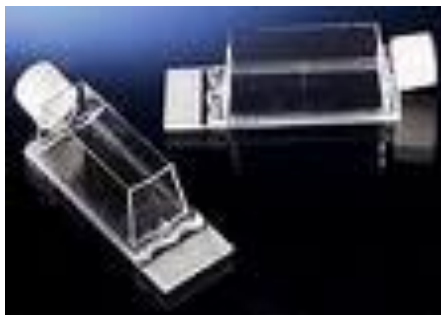
Figura 7. Tubos de Falcon.



- Tratar con tripsina.
- Lavar con medio de cultivo y verter en un tubo de centrífuga.
- Centrifugar.
- Resuspender el “pellet” sobre portaobjetos previamente esterilizados.
- Añadir medio de cultivo y volver a incubar hasta conseguir un crecimiento óptimo.
- Seguir el protocolo aplicado a los flaskettes.

FLASKETTE:

Figura 8. Flaskette.



- Añadir colcemid a los frascos de cultivo, e incubar 2 h a 37°C.
- Decantar el medio y liberar los portaobjetos que conforman su base.
- Sumergir los portaobjetos en solución hipotónica de ClK (0.075 M).
- Añadir progresivamente fijador Carnoy (Metanol-ác. Acético 3:1) 3 veces.
- Trasladar los portaobjetos a un recipiente con fijador Carnoy.
- Sacar y secar a una humedad relativa y temperatura controladas (*).
- Someter las preparaciones al proceso de “envejecimiento” por calor.
- Clasificar y emparejar las preparaciones de una misma muestra.
- Realizar Bandas G.

Es de destacar que la “fase de secado” de las preparaciones es crítica para determinar la calidad final de las mismas. Para ello en el Laboratorio se dispone de una sala que permite fijar y estabilizar las condiciones de temperatura y humedad relativa. Ello permite obtener preparaciones con unas cualidades óptimas (resolución, calidad de bandas, dispersión, etc) y reproducibles en el tiempo pese a las condiciones atmosféricas externas.

El proceso de bandeo cromosómico (Bandas G), es realizado por el propio personal de estudio, lo cual garantiza que el mismo posea el mayor nivel de calidad posible para obtener la máxima precisión en el estudio subsiguiente de la muestra. Ello confiere una ventaja clara respecto a otras realizaciones en las cuales el bandeo cromosómico está a cargo de personal técnico.

4- Estudio de las preparaciones de líquido amniótico:

- Previamente al estudio, se asigna la petición al ordenador.
- Se analiza un mínimo de 2 cultivos distintos de cada muestra.
- Se analizan 20 metafases entre todos los cultivos. Si se trata de flaskettes, las metafases deben estar asociadas a alguna colonia y se intenta analizar el máximo de colonias distintas posible.
- Se comprueba en cada metafase el número de cromosomas 13, 18, 21, X e Y.
- Si la anomalía implica a los cromosomas 13, 18, 21, X ó Y, es confirmada mediante la técnica de screening de aneuploidias (PCR) en líquido amniótico.
- Si se detecta una anomalía crítica (trisomía de los cromosomas 13, 18 ó 21), se comunica inmediatamente al Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital en Jerez y este lo pone en conocimiento, en principio verbal, del Tocólogo responsable.
- Se estudian 4 metafases al microscopio óptico (se obtiene una mayor resolución y contraste), pertenecientes a distintos cultivos.

Es importante destacar la supervisión directa de todas las anomalías detectadas por parte del Facultativo responsable del Laboratorio de Referencia (Reference Laboratory) al cual hemos enviados las muestras analizadas en esta Tesis, el cual decide si la anomalía está suficientemente caracterizada o es susceptible aplicar al caso técnicas complementarias (FISH, QF-PCR, etc).

Se daba máxima prioridad a las muestras de los cariotipos constitucionales de los padres en caso de que una anomalía citogenética haya sido detectada previamente.

Como ya hemos mencionado anteriormente, éste protocolo desarrollado por el Departamento de Citogenética de Reference Laboratory, con una plantilla adecuada en número y completamente preparada, que les permite conseguir unos plazos de entrega de resultados de 11 días laborables.

Fase post analítica:

En ésta fase se contempla la Síntesis de toda la información recopilada en el estudio de la muestra, la emisión del Informe pertinente y su Validación final.

- Se captura la imagen de las metafases analizadas mediante el equipo informatizado CYTOVISION, de Applied Imaging. Se realiza el cariotipo y se convierte la imagen a formato PDF.
- Se transcribe el informe al ordenador central del Laboratorio de Referencia
- El responsable del departamento comprueba los archivos PDF y los coteja con sus respectivos informes. Si todo concuerda, se procede a su validación y se envía al Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital de Jerez, en tiempo real.
- Dispone el laboratorio de un amplio fondo bibliográfico actualizado continuamente que es empleado para ampliar la información contenida en el informe (especialmente útil en el caso de anomalías citogenéticas complejas o poco frecuentes) o para consulta del Laboratorio solicitante.

El Informe está firmado por la persona responsable del Laboratorio de Referencia y contiene los siguientes datos:

- Fecha.
- Número de historia clínica y/o referencia asignada a la muestra.
- Identificación del Genetista que procedió a la validación de la muestra.
- Resultado.
- Imagen digitalizada del cariotipo de la muestra.
- Unidad de destino y localización donde deberá entregarse físicamente.
- Edad gestacional de la muestra procesada

3.2.1.4.2 QF-PCR (*Quantitative Fluorescence Polymerase Chain Reaction*)

Diagnóstico Prenatal Rápido de Anomalías Cromosómicas.

Las mujeres sometidas a pruebas invasivas prenatales, “amniocentesis” o “biopsia de vellosidades coriales”, presentan un alto grado de ansiedad en recibir la confirmación de que su futuro hijo no está afecto de alguna anomalía cromosómica. La obtención del cariotipo fetal, implica el cultivo celular de la muestra, lo que supone entre 2-3 semanas, antes de poder informar sobre la constitución cromosómica fetal de su embarazo.

Con el fin de reducir los tiempos de espera, se han desarrollado “**técnicas de diagnóstico prenatal rápido**”, tales como la “hibridación in situ fluorescente” (FISH) o la “reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa fluorescente” (QF-PCR). La

técnica de FISH consiste en la hibridación con sondas específicas y su evaluación en un microscopio de fluorescencia. Esta técnica no requiere del cultivo de la muestra, pudiendo obtenerse un resultado de las principales aneuploidías cromosómicas (13/18/21/X/Y) en un corto periodo de tiempo (24-72 hrs). Sin embargo, sólo es posible analizar unos pocos cromosomas a la vez, y sólo da información del número de cromosomas analizados, pero no de la estructura cromosómica. Además es una técnica laboriosa y costosa, aún cuando en la actualidad existen Sistemas Automatizados y se han reducido los costes, especialmente los referentes a las sondas utilizadas.

La QF-PCR mediante los análisis de varios STR (*short tandem repeats*) para la detección de aneuploidías, ha sido validado y aplicado con éxito, en el diagnóstico prenatal rápido, en diversos Laboratorios tanto europeos como del resto del mundo.

Mediante QF-PCR es necesario realizar análisis de rutina de los cromosomas 13, 18 y 21. El análisis de rutina de los cromosomas sexuales, es a criterio de cada Laboratorio o si hay evidencias de una posible anomalía de estos.

Limitación de la muestra para diagnóstico prenatal rápido.

Dado que la muestra, “líquido amniótico” ó “vellosidad corial”, es limitada y es necesario realizar cultivo de la misma, es posible que en alguna de las muestras no sea posible realizar un estudio prenatal rápido.

Con los protocolos de Laboratorio se siguen las más estrictas Normas de Calidad y de Buenas Prácticas. Especialmente es importante minimizar, ante el alto número de muestras, los riesgos de posibles confusiones de muestras.

Generalmente con una cantidad de muestra entre 0,5-4 mL de líquido amniótico es suficiente para QF-PCR. Sin embargo, la cantidad de muestra de líquido amniótico destinada para el diagnóstico prenatal rápido, es decisión de cada laboratorio, pero en cualquier caso no puede comprometer el estudio citogenético mediante cultivo de la muestra.

La vellosidad corial deberá limpiarse de la posible presencia de tejido materno. Dado el riesgo de mosaicismo confinado a placenta, la muestra de vellosidad corial destinada a QF-PCR deberá contener tanto tejido del citotrofoblasto, como del mesénquima.

Extracción de ADN.

El método de extracción de ADN deberá ser rápido, con el mínimo de transferencias de tubos, que produzca suficiente cantidad de ADN y de máxima calidad.

Actualmente existen diferentes kits comerciales para la aplicación de QF-PCR al diagnóstico prenatal rápido. La preparación en el Laboratorio de Citogenética de los diferentes STR deberá estar previamente validada.

Análisis de los resultados.

Se deberá analizar al menos 4 marcadores para cada cromosoma en dos reacciones independientes. Se deberá contar con un tercer kit para posibles muestras complicadas en las que no se haya obtenido, un resultado fiable y seguro.

Para el cromosoma Y es posible utilizar un número menor de marcadores.

Los marcadores seleccionados deberán tener una alta heterocigosidad. La introducción de nuevos marcadores, que no hayan sido previamente utilizados en QF-PCR, son validados antes de su utilización en el diagnóstico prenatal rápido.

El análisis de los marcadores utilizados se realiza en un Sistema capaz de resolver alelos de 2 pares de bases.

Es posible que algunas muestras requieran de muestra de los progenitores, para resolver posibles discrepancias, debido a posible contaminación materna, variaciones en el número de copias, polimorfismos en los *primers*, o mutaciones somáticas de los microsatélites.

Es importante informar que mediante QF-PCR no se analiza la totalidad de los cromosomas, ni la estructura.

3.2.2 MARCADORES DE SEROLOGÍA INFECCIOSA.

En nuestro Estudio utilizamos marcadores para serología Infecciosa que señalamos. La Metodología ha estado basada en el manejo del equipo Architect i2000.

- Marcadores de serología infecciosa (Rubéola, Toxoplasma, HBsAg-VHB, Sífilis, VHC; y VIH (solo en las embarazadas con algún factor de riesgo).

Funcionamiento del Architect:

Figura 9 Architect i2000



En nuestra Tesis pretendemos conocer la prevalencia de anticuerpos frente a *Toxoplasma gondii*, Rubéola, Virus de la Hepatitis B (HBsAg), Virus Hepatitis C, *Treponema pallidum* y VIH, en mujeres gestantes, mediante diferentes técnicas serológicas, aprovechando su asistencia a la consulta de Obstetricia y al tiempo que se le solicitaba el “Screening Prenatal de 1º trimestre”. Se puede comprobar el estado inmunitario para algunas enfermedades infecciosas, que de contraerse en el transcurso del embarazo, podrían dar lugar a alguna malformación congénita [136].

- Para el estudio de los Ac.IgG Rubéola, Ac.IgG Toxoplasma y así como para determinar el HBsAg (VHB), Ac.VIH y Ac.VHC se utilizó el “ARCHITECT i2000” (Figura 9) de la firma ABBOTT con la tecnología CHEMIFLEX: Es la combinación patentada por Abbott entre una tecnología de detección quimioluminiscente, mejorada con protocolos de ensayo flexibles.
- Para el “cribado de Ac” frente a *T. pallidum* (prueba reagínica no treponémica) se practicó la técnica RPR-carbón (Aglutinación en porta) para determinación de reagentas plasmáticas. Para la “confirmación” se realiza en su caso la técnica FTA (FTA-Abs test) de la firma Bio-Merieux.

Técnicas Serología Infecciosa (Architect Abbott):

Para las determinaciones llevadas a cabo, describimos introductoriamente la relación de cada una de ellas, su equipo y sistema de detección. Tras ello detallamos la técnica específica

- 50 reactivos refrigerados abordo con capacidad para 25.000 análisis
- 28 minutos para en primer resultado
- Capacidad para 285 muestras incluidas 35 posiciones prioritarias
- Priorización real de las Urgencias mediante el Gestor Tridimensional de Muestras (RSH)
- Software basado en Windows fácil de utilizar, con pantalla táctil, y control total sobre el estado del sistema, ensayos, consumibles, procedimiento, algoritmos de análisis, reanálisis y test condicionados
- Velocidad máxima de procesamiento: 400 test por hora.

Tecnología e Innovación.

El Gestor Tridimensional de Muestras (RSH) prioriza las muestras urgentes sobre las de rutina, procesándolas de inmediato. Hay posibilidad de incluir muestras urgentes continuamente, sin interrupción, y permite la integración de las muestras de rutina y de urgencia sin comprometer ni la velocidad ni el tiempo de respuesta, incrementando la eficiencia del Laboratorio. Tubo disponible.

- La detección de coágulos, burbujas y muestra insuficiente, reduce la posibilidad de errores.
- La monitorización de la presión del reactivo, incrementa además la confianza en los resultados de paciente.
- No existe contaminación por arrastre (<0.01ppm), ni de muestra a muestra, ni de reactivo a reactivo (algunos competidores han notificado la imposibilidad de realizar anti-HBs después de haber realizado un HBsAg, debido a problemas de contaminación cruzada entre anticuerpos y antígenos de los propios ensayos).
- Ensayos en 2-pasos reales, evitando el efecto Hook y las posibles interferencias por anticuerpos anti-HAMA (Ac. Humanos antiratón).

- Todos los reactivos, controles y calibradores se encuentran listos para utilizar.
- Calibraciones estables durante 30 días.
- Ciclo de Pipeteo: 18 segundos.
- Kits de reactivo: 100 & 500 test, optimizando su utilización y adecuándose a las necesidades del Laboratorio, ofreciendo mayor grado de autonomía.

Tecnología CHEMIFLEX del sistema Architect

- CHEMIFLEX: Es la combinación patentada por Abbott de una tecnología de detección quimioluminiscente, mejorada con protocolos de ensayo flexibles.

- Quimioluminiscencia mejorada: *El derivado de Acridinio patentado por Abbott* está específicamente diseñado para mejorar la eficiencia de la reacción, la estabilidad del reactivo y el rendimiento del ensayo

- Protocolos de ensayo flexibles: Permite desarrollar el ensayo, conforme al protocolo que le proporcione un mayor rendimiento y exactitud clínica

Derivado de Acridinio Patentado:

El grupo sulfopropilo (patentado por Abbott) mejora la solubilidad acuosa, y reduce el ruido de fondo

El grupo sulfonamida (patentado por Abbott) mejora la estabilidad.

Beneficios: Mayor estabilidad y rango dinámico.

Solución Abbott: Procesamiento Seguro

- Identificación (ID) Positiva de la Muestra.
- Identificación (ID) Positiva del Reactivo.
- Control de calidad (QC).
- Proceso del Ensayo – Calibración.
- Proceso de Monitorización del test B Múltiples modos de control.
- Seguridad en el Acceso.
- Interface de comunicación con el Host.
- Mayor estabilidad y rango dinámico.

3.2.2.1 RUBÉOLA IgG

El ensayo ARCHITECT Rubella IgG, es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la determinación cuantitativa y cualitativa de anticuerpos IgG frente al virus de la rubéola en suero y plasma humanos en el ARCHITECT *i* System. El ensayo ARCHITECT Rubella IgG se utiliza como ayuda en la determinación del estado inmunitario frente al virus de la rubéola.

Resumen y explicación del ensayo

La infección primaria posnatal por el virus de la rubéola se considera normalmente una enfermedad leve y autolimitada, que se caracteriza por un exantema maculopapuloso, fiebre, decaimiento y linfadenopatías[137]. A diferencia de las infecciones posnatales, las infecciones primarias prenatales pueden tener graves efectos. La infección *intrauterina* puede dañar gravemente al feto, especialmente si ocurre durante los primeros cuatro meses del embarazo. El niño infectado congénitamente puede presentar una o más de una serie de malformaciones conocidas como el "Síndrome de la Rubéola Congénita" (SRC).

En 1995 y 1996 la Organización Mundial de la Salud (OMS) realizó un estudio global sobre la rubéola, el CRS y la vacuna de la rubéola. Los datos recogidos registran una incidencia de SRC de 60 a 220 casos por cada 100.000 recién nacidos vivos en épocas de epidemias en Países en vías de desarrollo, una tasa similar a la de los Países industrializados antes de la vacunación [138,139].

Se ha demostrado que la inmunidad frente al virus de la rubéola relacionada con la persistencia de los anticuerpos, adquirida de forma natural o inducida por la vacuna, proporciona protección contra la reinfección [140,141,142].

La presencia en una muestra de al menos 10 unidades internacionales (UI) de anticuerpos/mL indica "estado inmune" frente al virus de la rubéola. Las concentraciones de anticuerpos inferiores a 10 UI/ml pueden ser insuficientes para proteger contra la infección después de una exposición al virus de la rubéola [143].

Principios biológicos del procedimiento.

El ensayo ARCHITECT Rubella IgG, es un inmunoanálisis de 2 pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) con protocolos de ensayos flexibles, denominados Chemiflex, para la determinación cuantitativa y cualitativa, de "anticuerpos IgG frente al virus de la rubéola" en suero y plasma humanos.

En un primer paso se combinan, la muestra, el diluyente del ensayo y las micropartículas paramagnéticas recubiertas del virus de la rubéola parcialmente purificado. Los anticuerpos IgG frente al virus de la rubéola presentes en la muestra, se unirían a las micropartículas recubiertas del antígeno-virus de la rubéola.

Después del lavado, se añade el conjugado anti-IgG humana marcado con acridinio, para crear en el segundo paso una mezcla de reacción.

Las soluciones preactivadora y activadora se añaden a la mezcla de reacción después de otro ciclo de lavado y la reacción quimioluminiscente resultante, se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la “*cantidad de anticuerpos anti-IgG*” frente al virus de la rubéola presentes en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del ARCHITECT *i* System.

Reactivos.

Equipo de reactivos, 100 test/500 test

ARCHITECT Rubella IgG Reagent Kit (equipo de reactivos) (6C17)

- 1 frasco (6,6 mL en el envase de 100 test y 27,0 mL en el envase de 500 test) de micropartículas recubiertas del virus de la rubéola parcialmente purificado, en tampón TRIS con agente tensioactivo. Conservantes: azida sódica y ProClin 950.
- 1 frasco (5,9 mL en el envase de 100 test y 26,3 mL en el envase de 500 test) de conjugado de anticuerpo (monoclonal de ratón) anti-IgG humana marcado con acridinio en tampón MES con agente tensioactivo y estabilizante proteínico (bovino). Concentración mínima: 16 ng/mL. Conservantes: agentes antimicrobianos.
- 1 frasco (10,0 mL en el envase de 100 test y 50,9 mL en el envase de 500 test) de diluyente del ensayo en tampón TRIS con agente tensioactivo y estabilizantes proteínicos (bovinos, de cabra y de ratón). Conservantes: ProClin 950 y ProClin 300.

Diluyente del ensayo

ARCHITECT *i* Multi-Assay Manual Diluent (diluyente manual multiensayo) (7D82-50)

- 1 frasco (100 mL) de diluyente manual multiensayo ARCHITECT *i* que contiene solución salina en tampón fosfato. Conservante: agente antimicrobiano.

Otros reactivos

ARCHITECT *i* Pre-Trigger Solution (solución preactivadora).

- Solución preactivadora, que contiene 1,32% (p./v.) de peróxido de hidrógeno.

ARCHITECT *i* Trigger Solution (solucion activadora)

- Solución activadora que contiene 0,35 N de hidróxido sódico.

ARCHITECT *i* Wash Buffer (tampon de lavado)

- El tampón de lavado contiene solución salina en tampón fosfato.
- Conservantes: agentes antimicrobiano.

Advertencias y precauciones

No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo, si no se siguen exactamente sus instrucciones de uso.

- Precauciones de seguridad:

Reactivos: Instrucciones de uso. Al no existir métodos de análisis que garanticen la inocuidad de materiales de origen humano o de microorganismos inactivados, todos los materiales de origen humano se deben considerar “*potencialmente infecciosos*”.

Por ello los reactivos y las muestras de origen humano se deben manejar de acuerdo con las instrucciones especificadas en la publicación "OSHA Standard on Bloodborne Pathogens"[144,145]. En el caso de materiales que contengan o que pudieran contener agentes infecciosos, se deben seguir las prácticas de seguridad biológica "Biosafety Level 2 (BSL-2)" u otras normativas equivalentes [146,147], pero en nuestro Laboratorio se siguen la BSL-2. y las indicadas por la UPRL del Hospital

1. Las micropartículas contienen metilisotiazolonas, que son componentes de ProClin, y han sido clasificadas según las Directivas de la Comunidad Europea (CE) como: irritantes (**Xi**). A continuación se indican las frases relativas a los Riesgos (R) y las medidas de Seguridad (S).
 - R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.
 - S24 Evitar el contacto con la piel.
 - S35 Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
 - S37 Usar guantes adecuados.
 - S46 En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrar la etiqueta o el envase.
2. El diluyente del ensayo contiene metilisotiazolonas, que son componentes de ProClin, y han sido clasificadas según las Directivas de la Comunidad Europea (CE) como: irritantes (Xi). A continuación se indican las frases relativas a los Riesgos (R) y las medidas de Seguridad (S).
 - R36 Irrita los ojos.
 - R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

- S24 Evitar el contacto con la piel.
- S26 En caso de contacto con los ojos, lavar inmediata y abundantemente con agua, y acudir a un médico con la etiqueta o envase
- S35 Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
- S37/39 Usar guantes adecuados y protección para los ojos/la cara.
- S46 En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrarle la etiqueta o el envase.

• Para aquellos productos que no hayan sido clasificados como peligrosos según la Directiva Europea 1999/45/EC, versión corregida, la Ficha de Datos de Seguridad está a disposición del usuario profesional en nuestro Laboratorio y en la UPRL del Hospital (NTP- Nota Técnica de Prevención 636 del Instituto Nacional Seguridad e Higiene en el Trabajo – 2003); y RD. 664/1997 de Protección contra Riesgos Biológicos.

• El producto de micropartículas recubiertas contiene azida sódica; para obtener una enumeración más específica, consultar el apartado REACTIVOS. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. Se eliminan los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.

- Precauciones de manipulación:

- No utilizar los equipos de reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad.
- No mezclar entre sí reactivos del mismo equipo ni de equipo diferentes.
- Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Rubella IgG en el sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el transporte. Para más información sobre como mezclar las micropartículas, consultar el apartado PROCEDIMIENTO, subtítulo.

- Procedimiento del ensayo:

- Se deben utilizar septos (tapones de protección) para evitar la evaporación y la contaminación de los reactivos, y para asegurar su buen estado. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo si los septos no se manejan, según las instrucciones indicadas en las Instrucciones de Uso.

- Para evitar la contaminación, utilizar guantes limpios cuando se coloque un septo en un frasco de reactivo destapado.

- Utilizar guantes que no hayan estado en contacto con plasma o suero humanos cuando se manejen frascos de conjugado, ya que la IgG humana, puede neutralizar el conjugado.

- Una vez que se haya colocado un septo en el frasco de reactivo, no invertir el frasco, ya que el reactivo se puede derramar y esto podría afectar a los resultados del análisis.

- Con el tiempo, los residuos líquidos se pueden secar en la superficie del septo. Generalmente se trata de sales secas, que no afectan al funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento del reactivo.

- El equipo de reactivos ARCHITECT Rubella IgG se debe almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C en posición vertical, y se puede utilizar inmediatamente después de sacarlo del refrigerador.

- Si se almacenan y se manejan según las Instrucciones, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad.

- El equipo de reactivos ARCHITECT Rubella IgG se puede almacenar en el ARCHITECT *i* System durante un máximo de 30 días. Transcurrido este período de tiempo, desecharlo. La recalibración puede ser necesaria para maximizar el tiempo de almacenamiento de los reactivos en el sistema.

Si retiramos los reactivos del Sistema, almacenarlos a una temperatura entre 2°C y 8°C (con los septos y los tapones para los reactivos) en posición vertical. Si se almacenan los reactivos fuera del sistema, se recomienda que se guarden en sus bandejas y cajas originales, para asegurarse de que se almacenan en posición vertical.

Si el frasco de micropartículas no se almacena en posición vertical (con un septo instalado) durante el almacenamiento refrigerado fuera del Sistema, el equipo de reactivos se debe desechar.

Indicaciones de descomposición de los reactivos.

Si el valor de un control se encuentra fuera del intervalo especificado, puede ser indicio de una descomposición de los reactivos o de errores técnicos. Los resultados de estos ensayos no son válidos y el análisis de las muestras se debe repetir. A veces es necesario calibrar de nuevo.

Funcionamiento del instrumento.

- Antes de realizar el ensayo ARCHITECT Rubella IgG, se debe instalar el Fichero del Ensayo en el sistema ARCHITECT *i* . Esta instalación se efectúa mediante el CD-ROM de ensayos del Sistema ARCHITECT *i*

Recogida y preparación de las muestras para el análisis:

- Tipos de muestras:

Los tubos de recogida de muestras enumerados a continuación han sido validados para su uso con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG. No se han validado para este ensayo, otros tubos que no sean los enumerados.

- Suero humano (incluyendo el suero recogido en tubos con separador de suero)
- Plasma humano recogido con:
 - EDTA potásico (etilén diamino tetraacético)
 - Heparina sódica
 - Heparina de litio

- Heparina de litio (tubo con separador de plasma)
- Citrato sódico*

* Con anticoagulantes líquidos, los valores de los resultados obtenidos en las muestras de pacientes están disminuidos, debido a su efecto de dilución. Las muestras en citrato sódico, pueden presentar una desviación de un 16,8% al compararlas con las muestras de suero.

• El ARCHITECT *i* System no puede comprobar el tipo de muestra utilizado. Por lo tanto, el usuario tiene la responsabilidad de comprobar que se haya utilizado el tipo de muestra adecuada con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG.

Condiciones de las muestras.

No utilizar muestras en las siguientes condiciones:

- Inactivadas con calor
- Mezcladas
- Intensamente hemolizadas
- Con contaminación microbiana evidente
- Procedentes de cadáveres o de otros líquidos corporales
- Para obtener resultados exactos, las muestras de suero y plasma, no deben presentar fibrina, eritrocitos ni partículas en suspensión. Los especímenes de suero de pacientes en tratamiento con anticoagulantes o terapia trombolítica, podrían tener fibrina debido a la formación incompleta del coágulo.
- Manejar con cuidado las muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipetas desechables.
- Para obtener resultados óptimos, comprobar que no haya burbujas en las muestras. Si las hubiese, retirarlas con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, utilizar un bastoncillo nuevo para cada muestra.

Preparación para el análisis.

- Seguir las Instrucciones del Fabricante de los tubos de recogida de suero y plasma para su procesamiento. La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de las muestras.
- Mezclar bien las muestras descongeladas en un agitador de tubos tipo Vortex a baja velocidad o invirtiendo los frascos 10 veces. Comprobar visualmente las muestras. Si se observa capas o estratificación, seguir mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas.
- Antes del análisis y para asegurar la reproducibilidad de los resultados, las muestras deben transferirse a un tubo de centrifuga y centrifugarse a una FCR (fuerza centrifuga relativa) de 10.000 durante 10 minutos si: contienen fibrina, eritrocitos u otras partículas en suspensión, o es necesario repetir el análisis, o han sido congeladas y descongeladas.
Para el análisis, dispensar la muestra aclarada en una copa de muestra o en un tubo secundario.
- Las muestras centrifugadas con una capa de lípidos en la superficie se deben transferir a una copa de muestra o a un tubo secundario.
Procurar transferir solo la muestra clarificada sin el material lipémico.

Almacenamiento de las muestras.

- Las muestras se pueden almacenar con o sin el coágulo, los eritrocitos o el separador de gel, durante un máximo de 14 días refrigeradas, a una temperatura entre 2° C y 8° C.
- Si el análisis se retrasa más de 14 días, retirar del suero o plasma el separador de gel, los eritrocitos o el coágulo y congelar las muestras a una temperatura igual o inferior a -10° C.
- Las muestras almacenadas congeladas durante 1 mes presentarán resultados correctos. No someta las muestras a múltiples ciclos de congelación y descongelación.

Transporte.

- Antes de transportar las muestras, se recomienda retirar el coágulo, el gel separador o los eritrocitos.
- En caso de transporte a Centro de Referencia, cosa que no hemos tenido en las muestras de esta Tesis, las muestras se deben preparar y etiquetar adecuadamente según las Normativas vigentes que rigen el Transporte de Muestras para diagnóstico y sustancias infecciosas (categoría B/ UN-3373).
- Las muestras se deben enviar con hielo o nieve carbónica. No sobrepasar el tiempo de almacenamiento de las muestras, mencionado anteriormente.

Procedimiento del ensayo.

- Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Rubella IgG en el Sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el transporte. Una vez cargadas las micropartículas no es necesario volver a mezclarlas.

Invertir el frasco de micropartículas 30 veces.

- Comprobar visualmente que las micropartículas del frasco se han resuspendido. Si las micropartículas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiendo el frasco hasta que estas estén completamente resuspendidas.
- Si las micropartículas no se resuspenden, **NO UTILIZAR ESTE REACTIVO** y ponerse en contacto con Abbott.
- Una vez que las micropartículas se hayan resuspendido, colocar un septo (tapón de protección) en el frasco.
- Cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Rubella IgG en el ARCHITECT *i* System.
- Comprobar que se encuentren todos los reactivos del ensayo necesarios.

- Asegurarse de que todos los frascos de reactivos tengan septos (tapones de protección).
- Si se considera necesario, realizar una calibración.
- Solicitar los ensayos en el sistema.
- El Sistema calcula el volumen mínimo de la copa de muestra y lo imprime en el informe de la lista de peticiones. No se pueden analizar más de 10 replicados de la misma copa de muestra. Para evitar al máximo la evaporación, asegurarse de que haya el volumen adecuado en la copa de muestra antes de realizar el análisis.
- Prioridad: 70 μl para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG, mas 20 μl para cada análisis adicional con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG de la misma copa de muestra.
- ≤ 3 horas en el Sistema: 150 μl para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG mas 25 μl para cada análisis adicional con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG de la misma copa de muestra.
- > 3 horas en el Sistema: se necesita volumen de muestra adicional.
- Si se utiliza tubos primarios o con alícuotas, usar las marcas de nivel de muestra, para asegurarse de que haya suficiente muestra de la paciente.
- Preparar los calibradores y los controles.
- Antes de su uso, invertir suavemente los frascos de los calibradores y de los controles ARCHITECT Rubella IgG, para mezclar su contenido.
- Los volúmenes requeridos para los calibradores y los controles ARCHITECT Rubella IgG se obtienen dispensando verticalmente en las copas de muestra correspondientes 5 gotas de cada calibrador o 5 gotas de cada control.
- Cargue las muestras.
- Pulsar PROCESAR.

Procedimientos para la dilución de las muestras.

- Las muestras con concentraciones de anticuerpos IgG frente al virus de la rubéola superiores a 500,0 UI/ml generan una alerta tipo “ >500 IU/mL” y se pueden diluir con el protocolo de dilución automática, o con el procedimiento de dilución manual.
- Si se utiliza el protocolo de dilución automática, el sistema realiza una dilución al 1:10 de la muestra, calcula automáticamente la concentración de la muestra antes de diluirla, y proporciona el resultado.

- Las diluciones manuales se deben realizar de la siguiente manera:
 - La dilución recomendada para el ensayo ARCHITECT Rubella IgG es de 1:10.
 - Añadir 20 µL de muestra de la paciente a 180 µL de calibrador A del ARCHITECT Rubella IgG o de diluyente manual multiensayo ARCHITECT *i*.
 - El usuario debe introducir el factor de dilución en la pantalla de peticiones de muestras de pacientes o controles.

El Sistema utiliza este factor de dilución para calcular automáticamente la concentración de la muestra antes de la dilución y comunica el resultado. El resultado (antes de introducir el factor de dilución) debe ser superior a 5 UI/mL.

Calibración.

- Para realizar una calibración del ensayo ARCHITECT Rubella IgG, analizar por duplicado los calibradores A, B, C, D, E y F. Se debe analizar única muestra de cada concentración del control, para evaluar la calibración del ensayo. Asegurarse de que los valores de los controles del ensayo se encuentren dentro de los intervalos de concentración especificados en las instrucciones de uso de los controles. Los calibradores se deben cargar con prioridad.
- Intervalo de la calibración: 0,0 UI/ml a 500,0 UI/ml.
- Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT Rubella IgG haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analicen las muestras, excepto cuando:
 - Se utilice un equipo de reactivos con distinto Número de Lote.
 - Los controles NO se encuentren dentro del intervalo especificado.

Procedimientos de control de calidad.

El requisito de control de calidad recomendado para el ensayo ARCHITECT Rubella IgG, es el análisis de muestra única de todos los controles cada 24 horas, cada día de su uso. Si los procedimientos de control de calidad del laboratorio así lo requieren, se pueden utilizar los controles más frecuentemente para verificar los resultados de los análisis.

Los valores de los controles ARCHITECT Rubella IgG se deben encontrar dentro de los intervalos de valores aceptables, especificados en las instrucciones de uso de los controles. Si un control se encuentra fuera del intervalo especificado, los resultados del análisis no son validos y se debe repetir. La recalibración puede ser necesaria.

Resultados.

Interpretación de los resultados:

- Negativa: 0,0 UI/mL a 4,9 UI/mL.
- Zona gris (dudosa): 5,0 UI/mL a 9,9 UI/mL.
- Positiva: $\geq 10,0$ UI/mL.

Limitaciones del procedimiento.

- Los resultados con fines diagnósticos se deben utilizar en combinación con otros datos, como síntomas, resultados de otros análisis, impresiones clínicas, etc.

- Los anticuerpos heterófilos presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo e interferir en los inmunoanálisis “*in vitro*” [148]. Aquellos pacientes habitualmente en contacto con animales o con productos con suero de origen animal pueden ser propensos a esta interferencia y dar valores anómalos.

Para fines diagnósticos puede ser necesaria información adicional.

- Las muestras de los pacientes que hayan recibido preparados a base de anticuerpos monoclonales de ratón con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA) [149]. Estas muestras pueden dar valores anómalos al analizarlas con equipos de ensayo (como ARCHITECT Rubella IgG) que empleen anticuerpos monoclonales de ratón [150,151].

Valores esperados.

La incidencia de anticuerpos IgG frente al virus de la rubéola varía según las prácticas de vacunación entre las distintas poblaciones.

Linealidad de la dilución.

El ensayo ARCHITECT Rubella IgG, ha sido diseñado para que sea lineal entre 5 UI/ml y 500 UI/ml según un estudio realizado de acuerdo al protocolo EP6-A16 del CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute-USA).

Interferencias.

La interferencia potencial de la bilirrubina, la hemoglobina, las proteínas totales y los triglicéridos con el ensayo ARCHITECT Rubella IgG en las concentraciones

indicadas más abajo ha sido diseñada para que sea $\leq 10\%$ como se demuestra en un estudio según el protocolo EP7-A2 del CLSI [152].

Sustancia con capacidad de interferir, y referencias a la Concentración % de interferencia:

- Bilirrubina 20 mg/dl $\leq 10,0$
- Hemoglobina 500 mg/dl $\leq 10,0$
- Eritrocitos 0,4% v/v $\leq 10\%$
- Proteínas totales 3 g/dl a 12 g/dl $\leq 10,0$
- Triglicéridos 3 000 mg/dl $\leq 10,0$

3.2.2.2 TOXOPLASMOSIS

3.2.2.2.1 *Toxoplasma* IgG

ARCHITECT Toxo IgG es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG frente al *Toxoplasma gondii* en suero y plasma humano.

Principios biológicos del procedimiento.

El ensayo ARCHITECT Toxo IgG es un inmunoanálisis de 2 pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) con protocolos de ensayos flexibles, denominados Chemiflex, para la determinación cuantitativa de anticuerpos IgG frente al *Toxoplasma gondii* en suero y plasma humanos.

En el **primer paso**, se combinan la muestra prediluida, el diluyente del ensayo y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de antígeno recombinante de *Toxoplasma gondii* [que contiene P30(SAG1) y P35(GRA8)]. Los anticuerpos específicos frente al *Toxoplasma gondii* presentes en la muestra, se unen a las micropartículas recubiertas de antígeno recombinante de *Toxoplasma gondii*. Después del lavado, se añade el conjugado de anticuerpo (de ratón) anti-IgG humana marcado con acridinio, para crear en el **segundo paso** una mezcla de reacción. Las soluciones preactivadora y activadora, se añaden a la mezcla de reacción después de otro ciclo de lavado.

La reacción quimioluminiscente resultante, se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de anticuerpos IgG anti-Toxo presente en la muestra, y las URL detectadas por el sistema óptico ARCHITECT *i*.

Reactivos.

Equipo de reactivos, 100/500 test

ARCHITECT Toxo IgG Reagent Kit (6C19) [equipo de reactivos] 1 frasco (6,6 mL en el envase de 100 test/27,0 mL en el envase de 500 test) de micropartículas recubiertas de antígeno recombinante de *Toxoplasma gondii* en tampón MES con estabilizantes proteínicos. Concentración mínima: 0,03% de partículas sólidas.

Conservante: ProClin 300. 1 frasco (5,9 ml en el envase de 100 test/ 26,3 ml en el envase de 500 test) de anticuerpo (de ratón) anti-IgG humana marcado con acridinio en tampón MES con estabilizantes proteínicos. Concentración mínima: 0,05 µg/mL.

Conservantes: agentes antimicrobianos 1 frasco (10,0 mL en el envase de 100 test/ 50,9 mL en el envase de 500 test) de diluyente del ensayo Toxo IgG que contiene tampón TRIS con estabilizantes proteínicos. Conservante: ProClin 300.

Otros reactivos:

ARCHITECT *i* Pre-Trigger Solution (solución preactivadora) Solución preactivadora que contiene 1,32 % (p/v) de peróxido de hidrógeno.

ARCHITECT *i* Trigger Solution (solución activadora) Solución activadora que contiene 0,35 N de hidróxido de sodio. ARCHITECT *i* Wash Buffer (tampón de lavado)

El tampón de lavado contiene solución salina en tampón fosfato. Conservantes: agentes antimicrobianos.

Advertencias y precauciones:

Este producto requiere el manejo de muestras de origen humano. Todos los materiales de origen humano, se deben considerar potencialmente infecciosos y se deben manejar según las prácticas de seguridad biológica apropiadas.

Precauciones de seguridad:

Las micropartículas y el diluyente del ensayo, contienen metil iso tiazolonas, que son componentes de ProClin. Estos componentes han sido clasificados según las Directivas de la Comunidad Europea (CE) como: Irritante (**Xi**). A continuación se indican las frases relativas a los Riesgos (**R**) y medidas de Seguridad (**S**).

R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

S24 Evitar el contacto con la piel.

S35 Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.

S37 Usar guantes adecuados.

S46 En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrarle la etiqueta o el envase.

Para aquellos productos que no hayan sido clasificados como peligrosos según la Directiva Europea 1999/45/EC, versión corregida, la ficha de datos de seguridad estarán a disposición del usuario profesional.

Precauciones de manejo:

No se deben utilizar los equipos de reactivos, una vez transcurrida la fecha de caducidad.

No se mezclaran entre sí reactivos, del mismo equipo ni de equipos diferentes.

Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT ToxoIgG en el Sistema por primera vez, se mezcla el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el transporte.

Se utilizan septos (tapones de protección) para evitar la evaporación y la contaminación de los reactivos y para asegurar su buen estado. No se podrían garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo, si los septos no se manejan según las instrucciones indicadas en el prospecto.

Para evitar la contaminación, se utilizan guantes limpios cuando se coloque un septo en un frasco de reactivo destapado. Se recomienda utilizar guantes que no hayan estado en contacto con plasma o suero humanos, cuando se manejen frascos de conjugado, ya que la IgG humana puede neutralizar el conjugado.

Con el tiempo, los residuos líquidos se pueden secar en la superficie del septo. Generalmente se trata de sales secas que no afectan al funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento.

El equipo de reactivos ARCHITECT Toxo IgG se almacena a una temperatura entre 2 °C y 8 °C en posición vertical, y se puede utilizar inmediatamente después de sacarlo del refrigerador.

Si se almacenan y se manejan según las Instrucciones, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad.

El equipo de reactivos ARCHITECT Toxo IgG, se pueden almacenar en el ARCHITECT *i* System durante un máximo de 30 días. Transcurrido este período de tiempo, debe desecharse.

Los reactivos se pueden almacenar dentro y fuera del ARCHITECT *i* System. Si retiran los reactivos del Sistema hay que, almacenarlos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con los septos y los tapones para los reactivos) en posición vertical. Si almacena los reactivos fuera del Sistema, se recomienda que se guarden en sus bandejas y cajas originales para asegurarse de que se almacenan en posición vertical. Si el frasco de micropartículas no se almacena en posición vertical (con un septo instalado) durante el almacenamiento refrigerado fuera del sistema, el equipo de reactivos se debe desechar. Después de retirar los reactivos del Sistema, debe realizarse una lectura de éstos, para actualizar el tiempo de estabilidad de los reactivos en el sistema.

Indicaciones de descomposición de los reactivos.

Si el valor de un control se encuentra fuera del intervalo especificado, puede ser indicio de una descomposición de los reactivos o de errores técnicos. Los resultados de estos ensayos no son válidos y el análisis de las muestras se debe repetir. A veces es necesario calibrar de nuevo.

Funcionamiento del instrumento.

Antes de realizar el ensayo ARCHITECT Toxo IgG, se debe instalar el fichero del ensayo en el ARCHITECT *i* System.

Esta instalación se efectúa mediante el CD-ROM de ensayos ARCHITECT *i*. Para más información sobre la instalación del fichero del ensayo y sobre la visualización y la modificación de los parámetros del ensayo consultar con la firma.

“Toxo IgG R” – diluye y analiza de nuevo las muestras con concentraciones de anticuerpos IgG anti-Toxo >200 IU/ mL automáticamente. Para configurar los criterios de reanálisis se borra el valor máximo “2000.0” del intervalo de resultados.

Recogida y preparación de las muestras para el análisis.

Los tubos de recogida de muestras enumerados a continuación han sido validados para su uso con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG. No se han validado para este ensayo otros tubos que no sean los enumerados.

Suero humano (incluyendo el suero recogido en tubos con separador de suero)
Plasma humano recogido con:

- Tubos con separador de plasma (heparina de litio)

- EDTA potásico
- Citrato sódico
- Heparina de litio
- Heparina de sodio

Con anticoagulantes líquidos, los valores de los resultados obtenidos en las distintas muestras de pacientes pueden ser inferiores debido a su efecto de dilución. El ARCHITECT *i* System no puede comprobar el tipo de muestra utilizado. Por lo tanto, el usuario tiene la responsabilidad de comprobar que se haya utilizado el tipo de muestra adecuada con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG. En nuestra Tesis solo utilizamos muestras de sueros obtenidas de las gestantes en ningún caso se utilizo muestras con anticoagulantes

Condiciones de las muestras.

No utilizar muestras en las siguientes condiciones:

- Inactivadas con calor.
- Mezcladas.
- Intensamente hemolizadas (> 500 mg/dL).
- Con contaminación microbiana evidente.

Para obtener resultados exactos, las muestras de suero y plasma no debían tener, fibrina, eritrocitos, ni partículas en suspensión. Los especímenes de suero de pacientes en tratamiento con anticoagulantes o sometidos a terapia trombolítica, podrían tener fibrina, debido a la formación incompleta del coágulo.

Se manejan con cuidado las muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipetas desechables.

Para obtener resultados óptimos, hay que comprobar que no haya burbujas en las muestras. Si las hubiese, fueron retiradas con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, se utiliza un bastoncillo nuevo para cada muestra.

Todas las muestras (calibradores, controles y muestras de pacientes) se deben analizar en un periodo de 3 horas una vez cargadas en el ARCHITECT *i* System.

Preparación para el análisis.

Se han seguido las Instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de suero para su procesamiento. La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de las muestras.

Se mezclan bien las muestras completamente descongeladas, en un agitador de tubos tipo Vortex a baja velocidad o invirtiendo los frascos 10 veces. Se comprueban visualmente las muestras.

Si observa capas o estratificación, se siguió mezclando hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas.

Antes del análisis y para asegurar la reproducibilidad de los resultados, las muestras deben transferirse a un tubo de centrifuga y centrifugarse a una FCR (fuerza centrífuga relativa) ≥ 10.000 durante 10 minutos si: contienen fibrina, eritrocitos u otras partículas en suspensión, es necesario repetir el análisis si han sido congeladas y descongeladas.

Para el análisis, se dispensa la muestra aclarada en una copa de muestra o en un tubo secundario.

Las muestras centrifugadas con una capa de lípidos en la superficie, se deben transferir a una copa de muestra o a un tubo secundario. Procurar transferir sólo la muestra clarificada sin el material lipídico.

Almacenamiento.

- Las muestras se pueden almacenar con o sin el coágulo, los eritrocitos o el separador de gel, durante un máximo de 14 días refrigeradas, a una temperatura entre 2° C y 8° C.
- Si el análisis se retrasa más de 14 días, se retira del suero el separador de gel, los eritrocitos o el coágulo y congelar las muestras a una temperatura igual o inferior a -10° C.

Transporte.

Antes de transportar las muestras, se recomienda retirar el coágulo, el separador de gel o los eritrocitos de las muestras.

En caso de transporte, las muestras se deben preparar y etiquetar de acuerdo con las Normativas vigentes que rigen el transporte de muestras y sustancias infecciosas (UN-3373).

Las muestras se pueden enviar con hielo o nieve carbónica. No sobrepase el tiempo de almacenamiento de las muestras mencionado anteriormente.

Materiales suministrados.

6C19 ARCHITECT Toxo IgG Reagent Kit (equipo de reactivos)

Procedimiento del ensayo.

Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Toxo IgG en el Sistema por primera vez, se mezcla el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el transporte. Una vez que se hayan cargado las micropartículas por primera vez, no será necesario volver a mezclarlas. Se invierte el frasco de micropartículas 30 veces.

Compruebe visualmente que las micropartículas del frasco se hayan resuspendido. Si las micropartículas continúan adheridas al frasco, siga invirtiendo el frasco hasta que éstas estén completamente resuspendidas.

- Una vez que las micropartículas se hayan resuspendido, coloque un septo (tapón de protección) en el frasco.
- Cargue el equipo de reactivos ARCHITECT Toxo IgG en el ARCHITECT *i* System.
- Compruebe que todos los reactivos del ensayo estén disponibles.
- Asegúrese de que todos los frascos de reactivos tengan septos (tapones de protección).
- Si se considera necesario, realizar una calibración.
- Solicitar los ensayos en el sistema.

El Sistema calcula el volumen mínimo de la copa de muestra y lo imprime en el informe de la lista de peticiones. No se pueden analizar más de 10 replicados de la misma copa de muestra. Para evitar al máximo la evaporación, asegúrese de que haya el volumen adecuado en la copa de muestra antes de realizar el análisis. Prioritaria: 75 μL para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG, más 25 μL para cada análisis adicional con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG de la misma copa de muestra. Si ≤ 3 horas en el sistema: 150 μL para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG, más 25 μL para cada análisis adicional con el ensayo ARCHITECT Toxo

IgG de la misma copa de muestra. Si > 3 horas en el sistema: se necesita volumen de muestra adicional.

Se utilizaron tubos primarios o con alícuotas, usando las marcas de nivel de muestra para asegurarse de que hubiese suficiente muestra de paciente.

Se prepararon los calibradores y los controles.

Antes de su uso, se invertirán suavemente los frascos de los calibradores y de los controles ARCHITECT Toxo IgG para mezclar su contenido.

Los volúmenes requeridos para los calibradores y los controles ARCHITECT Toxo IgG se obtienen dispensando verticalmente 6 gotas de cada calibrador ó 4 gotas de cada control en las copas de muestra correspondientes.

Para garantizar un funcionamiento óptimo, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento habituales.

Procedimientos para la dilución de las muestras.

Las muestras con concentraciones de anticuerpos IgG anti-Toxo $> 200,0$ IU/mL generan una alerta “ > 200.0 IU/mL” y se pueden diluir con el protocolo de dilución automática:

El sistema realiza una dilución al 1:10 de la muestra, calcula automáticamente la concentración de la muestra antes de diluirla, y proporciona el resultado.

Cuando utilice el fichero de ensayo “Toxo IgG R”, las muestras generan una alerta > 200.0 IU/mL y se vuelven a analizar automáticamente a una dilución al 1:10

Calibración.

Para realizar una calibración del ensayo ARCHITECT Toxo IgG, analice los calibradores A a F por duplicado. Se debe analizar una única muestra de cada concentración de los controles ARCHITECT Toxo IgG para evaluar la calibración del ensayo. Asegúrese de que los valores de los controles del ensayo se encuentren dentro de los intervalos de concentración especificados en el prospecto de los controles.

Los calibradores se deben cargar con prioridad. Intervalo de la calibración: entre 0 IU/mL y 200,0 IU/mL.

Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT Toxo IgG haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analicen las muestras, excepto cuando:

Se utilice un equipo de reactivos con distinto número de lote.

Los controles no se encuentren dentro del intervalo especificado.
Se recomienda calibrar el ensayo cada 30 días.

Procedimientos de control de calidad.

El requisito de control de calidad recomendado para el ensayo ARCHITECT Toxo IgG es el análisis de una muestra única de cada una de las concentraciones de los controles cada 24 horas, cada día de su uso.

Los valores de los controles ARCHITECT Toxo IgG se deben encontrar dentro de los intervalos de valores aceptables especificados en el prospecto de los controles. Si un control se encuentra fuera del intervalo especificado, los resultados del análisis no son válidos y se debe repetir. La recalibración puede ser necesaria.

Resultados.

Las muestras con **valores de concentración $< 1,6$ IU/mL** se consideran “**No reactivas**” para los anticuerpos IgG anti- *Toxoplasma gondii*. Se considera que las gestantes que presentan estas concentraciones no están infectados por *Toxoplasma gondii* y son propensas a padecer una infección aguda. Un resultado negativo no siempre excluye la infección por *Toxoplasma gondii*. Las muestras de pacientes que presenten resultados negativos y en ellas exista sospecha de enfermedad se deben volver a analizar transcurridas 3 semanas de acuerdo con el servicio de Obstetricia

Las muestras con **valores de concentración $\geq 3,0$ IU/mL** se consideraron “**reactivas**” para los anticuerpos IgG anti-*Toxoplasma gondii* e indican una infección aguda o pasada.

Las muestras con **concentraciones entre $1,6$ IU/ml y $< 3,0$ IU/ml** se consideraron en la “**zona gris**” y pueden mostrar concentraciones bajas de IgG. Se analizaron dichas muestras con un ensayo para Toxo IgM o se extrajo una segunda muestra transcurrido un tiempo razonable (de dos semanas) que se utilizará para repetir el análisis con el ensayo ARCHITECT Toxo IgG.

Limitaciones del procedimiento.

Si los resultados del ensayo ARCHITECT Toxo IgG no se corresponden con los datos clínicos, se recomienda realizar otro análisis para confirmar los resultados. Los resultados con fines diagnósticos se deben utilizar junto a otros datos, por ejemplo, resultados obtenidos con otros análisis (Toxo IgM, Toxo IgG Avidity), impresiones clínicas... y así lo utilizamos para los casos IgG positivos en gestantes.

Los anticuerpos heterófilos presentes en el suero humano, pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo e interferir en los inmunoanálisis *in vitro*. Aquellas

pacientes habitualmente en contacto con animales o con productos con suero de origen animal, pueden ser propensos a esta interferencia y dar valores anómalos. Para fines diagnósticos puede ser necesaria información adicional.

Las muestras de pacientes que hayan recibido preparados a base de anticuerpos monoclonales de ratón, con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA) Estas muestras pueden dar valores falsamente elevados o disminuidos al analizarlas con equipos de ensayo que empleen anticuerpos monoclonales de ratón. Los reactivos ARCHITECT Toxo IgG contienen un componente que reduce el efecto de las muestras con reactividad HAMA.

Resultados variables entre ensayos: Los valores de concentración de Toxo IgG en una muestra dada, pueden variar según el método de ensayo y el patrón que se haya usado con éste, y por tanto no se deben intercambiar.

Los calibradores ARCHITECT Toxo IgG se correlacionan con el primer patrón internacional (01/600) de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para anti-Toxoplasma IgG.10

Es posible que los anticuerpos IgG frente al *Toxoplasma gondii* no se diluyan linealmente en todas las muestras. No utilizar diferentes protocolos de dilución al analizar muestras secuenciales de pacientes.

Valores esperados.

Es importante tener presente que la prevalencia del anticuerpo Toxo IgG anti-*Toxoplasma gondii* varía en función de la edad y de la ubicación geográfica, especialmente a considerar en gestantes inmigrantes de ciertas regiones.

Características específicas del funcionamiento.

Imprecisión

El ensayo ARCHITECT Toxo IgG ha sido diseñado para tener una imprecisión tal que el CV total sea < 10% para muestras representativas dentro del intervalo de valores de 3,0 IU/ml a 120,0 IU/ml.

Interferencias

El fabricante no se observó ninguna interferencia entre controles experimentales y muestras no reactivas o reactivas analizadas con concentraciones elevadas de bilirrubina (20 mg/dL), triglicéridos (3.000 mg/dL), proteínas (12 g/dL), eritrocitos (0,4% v/v) o hemoglobina (500 mg/dL).

Sensibilidad funcional (límite de cuantificación)

El ensayo ha sido diseñado para tener una Sensibilidad funcional (CV del 20% en el límite del intervalo de confianza del 95%) inferior a 1,6 IU/ml.

3.2.2.2.2 *Toxoplasma IgG Aidez.*

Para estudiar la Aidez de los Anticuerpos IgG en las gestantes se utilizo el VIDAS TOXO IgG Avidity es una prueba cualitativa automatizada en los instrumentos VIDAS (Bio-Merieux), que permite la determinación de la aidez de las IgG anti-toxoplasma en el suero o el plasma humano (heparina de litio, citrato sódico, EDTA) mediante una técnica ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Introducción y objeto de la prueba.

La determinación del “**Índice de Aidez**” es una prueba complementaria a la detección de las IgG y de las IgM anti-toxoplasma. Tras una primera detección de IgG y de IgM anti-toxoplasma, el Índice de Aidez contribuye a la “exclusión de infecciones recientes de menos de 4 meses por toxoplasma” en base al siguiente criterio: (Baja aidez de < 4 meses y Alta aidez > 4 meses).

Uno de los elementos que permite establecer el diagnóstico de la toxoplasmosis en la gestante inmunocompetente es la “**detección de las IgM específicas**”. Sin embargo, si la seroconversión no puede ser demostrada formalmente, será necesario aplicar otras técnicas para determinar la fecha de la infección con la máxima precisión posible, especialmente en los casos de embarazo. Efectivamente, el riesgo de infección y la gravedad de las consecuencias que dicha infección tendrá sobre el feto, están estrechamente relacionados con el periodo en el cual se haya producido la infección materna.

A la hora de establecer un diagnóstico de infección por toxoplasma es habitual asociar la búsqueda de varios marcadores y/o el uso de distintas técnicas. A pesar de ello, los elementos de información obtenidos resultarán a menudo incompletos y la fecha de infección poco precisa, en especial si se detectan IgM residuales.

La evaluación de la “Aidez de las IgG específicas” permite un establecimiento más preciso de la fecha, ya que la aidez aumenta paulatinamente con el tiempo. VIDAS TOXO IgG Avidity es una técnica simple que permite distinguir los anticuerpos de **Baja Aidez** y de **Alta Aidez**. La detección de anticuerpos de “**Alta Aidez están claramente a favor de una primo-infección de más de 4 meses**”.

Principio.

La introducción de un “*agente perturbador del enlace Ag (Antígeno)-Ac (Anticuerpo)*” durante la realización de una prueba ELISA (por ejemplo la urea) no afecta demasiado al enlace Ag-Ac de Alta avidez, pero tiene un fuerte impacto sobre los enlaces de Baja avidez.

La comparación de los resultados obtenidos con y sin agente disociador equivale a una medida de la avidez. El principio del ensayo asocia a un método inmunoenzimático sándwich en 2 etapas, una detección final por fluorescencia (ELFA).

El cono (SPR®) de uso único sirve a la vez de fase sólida y de sistema de pipeteo. Los otros reactivos de la reacción inmunológica están listos para su uso y previamente repartidos en el cartucho.

La prueba VIDAS TOXO IgG Avidity utiliza un Sistema de doble cartucho, compuesto por un “*cartucho de referencia*” y un “*cartucho de prueba*”. La muestra a analizar se deposita tras su disolución en ambas cubetas de muestras del cartucho doble, el de referencia y el de prueba.

Si la muestra de la gestante contiene IgG anti-toxoplasma, estas “*forman complejos*” con el antígeno fijado en la fase sólida.

En el cartucho de referencia, el lavado permite eliminar los anticuerpos no específicos, mientras que los anticuerpos específicos permanecen fijados a la fase sólida.

En el cartucho de prueba, el lavado mediante el agente disociador modifica los enlaces antígeno-anticuerpo.

Sólo los anticuerpos de “Alta avidez” permanecen fijados a la fase sólida, mientras que los de baja avidez son eliminados.

Los anticuerpos anti-IgG humanos, conjugados con la fosfatasa alcalina, son a continuación aspirados y expulsados varias veces del interior del cono, y se fijan en la pared del mismo, junto con las IgG humanas que pudieran encontrarse presentes. El conjugado no fijado es eliminado mediante lavado.

Todas las etapas de la prueba son efectuadas automáticamente por el instrumento.

Están constituidas por una sucesión de ciclos de aspiración/expulsión del medio reactivo. Durante la etapa final de revelado, el substrato (4-Metil-umbeliferil fosfato) es aspirado y luego expulsado del cono; la enzima del conjugado cataliza la reacción de

hidrólisis de este sustrato, en un producto (4- Metil-umbeliferona) cuya fluorescencia se mide a 450 nm.

El valor de la señal fluorescente es proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en la muestra. Al final de la prueba, los resultados son calculados automáticamente por el instrumento y luego se imprimen.

La relación entre la concentración de “*anticuerpos de alta avidéz*” (cartucho de prueba) y la concentración total de anticuerpos (cartucho de referencia) proporciona un “*índice que refleja la avidéz de los anticuerpos presentes en la muestra*”.

El Cono.

El cono (SPR) es sensibilizado en el momento de su fabricación con antígenos toxoplásmicos de membrana y citoplasma. Cada cono está identificado con el código TXGA. Utilizar únicamente el número de conos necesarios y dejar los conos no utilizados en su bolsa. Cerrar correctamente la bolsa tras su apertura.

El cartucho doble

Ambos cartuchos están compuestos por 10 cubetas recubiertas por una hoja de aluminio sellada y etiquetada. En la etiqueta hay un código de barra donde figura principalmente el código de la prueba, el número de lote y la fecha de caducidad del equipo. La primera cubeta lleva una parte precortada para facilitar la introducción de la muestra. La última cubeta permite la lectura de la fluorescencia. Los distintos reactivos necesarios para el análisis están contenidos en las cubetas intermedias.

Material necesario pero no suministrado con el equipo.

- Pipetas de puntas desechables que permitan la distribución de 10µl, 50µL, 100µL, y 1000µL.
- Guantes sin talco.

Precauciones de uso.

- Solo para uso “*in Vitro*”.
- Solo para uso profesional.
- El equipo contiene componentes de origen humano. Se recomienda utilizarlos con las precauciones de uso relativas, a los productos potencialmente infecciosos.
- Contiene productos de origen animal, por lo que se recomienda manipularlos con las precauciones de uso relativas a los productos potencialmente infecciosos.

- No utilizar los conos cuyas bolsas estén perforadas
- No utilizar cartuchos visiblemente alterados
- No utilizar los productos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del estuche
- No mezclar los reactivos de lotes distintos
- No utilizar guantes con talco, ya que el talco puede falsear los resultados en algunas pruebas inmunoenzimáticas
- Los reactivos contienen un conservante, azida sódica, susceptible de reaccionar con las tuberías de plomo o de cobre, formando azidas metálicas explosivas. Se recomienda enjuagar con agua todos los vertidos para evitar su acumulación
- El sustrato contiene un agente irritante (Xi)
- Las salpicaduras deben tratarse con un líquido detergente o con una solución de lejía con al menos un 0,5% de hipoclorito de sodio.
- El módulo analítico debe limpiarse y descontaminarse periódicamente.

Condiciones de almacenamiento.

- Conservar el equipo Toxo IgG Avidity entre 2-8° C.
- No congelar los reactivos.
- Dejar a 2-8° C los reactivos no utilizados.
- Abrir el equipo, comprobar la integridad de las bolsas de conos y que cierran correctamente. En caso contrario no utilizar los conos.
- Después de la utilización cerrar bien la bolsa con su deshidratante para conservar la estabilidad de los conos y llevar de nuevo todo el equipo a 2-6°.

Muestras.

Suero o plasma (heparina de litio o EDTA o citrato sódico) de gestantes inmunocompetentes. Ciertos tubos de muestras pueden contener sustancias que interfieren con la prueba y, por consiguiente, es aconsejable validarlos antes de su utilización.

Se aconseja que el Laboratorio valide el tipo de toma de muestras utilizados.

Ninguno de los factores siguientes posee una influencia significativa sobre el ensayo:

- Hemólisis
- Lipemia

- Bilirrubinemia

No obstante se aconseja no utilizar muestras visiblemente hemolizadas, lipémicas o ictericas y efectuar si es posible una nueva toma.

Los sueros inactivados a 56° C durante 30 minutos, pueden ser analizados con Vidas TOXO IgG Avidity.

Estabilidad de las muestras:

Las muestras pueden ser almacenadas 5 días a 2-8° C como máximo mas allá de este tiempo, se han de congelar a -25° C

Evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas. Las muestras que contengan impurezas deben centrifugarse antes de proceder a su análisis. Análisis de muestras congeladas durante dos meses, no han mostrado influencia alguna sobre la calidad de los resultados.

Modo operatorio.

Para instrucciones completas, consultar el Manual del Usuario del VIDAS o del Mini VIDAS.

- Introducción de datos de la tarjeta MLE

Al abrir un nuevo lote, deben introducirse en el instrumento (VIDAS), las especificaciones (o datos de fábrica) mediante la tarjeta MLE (ficha de especificaciones) incluida en cada equipo. Si esta operación no se lleva a cabo antes de comenzar las pruebas, el instrumento no podrá editar resultados. Estas especificaciones se introducen una sola vez por lote.

Es posible introducir las especificaciones de forma manual o automática, gracias a la tarjeta MLE.

- Realización de la prueba

Todas las muestras a analizar con VIDAS TOXO IgG Avidity fueron analizadas previamente con ARCHITECT i System y fueron positivas (Valores de concentración > 3 IU/mL)

Sólo el título de IgG determinado mediante esta técnica podrá ser empleado en el establecimiento del factor de dilución que nos permitirá llevar el título a una tasa de 15 U/I mL.

1.- Importante - Cálculo del factor de dilución: para analizar la muestra con VIDAS TOXO IgG Avidity, es necesario conseguir un título de 15 IU/mL, diluyéndola según un factor que obtenemos del siguiente modo:

$$d = \text{Título en IU/mL (VIDAS TOXO IgG II)} / 15$$

Ejemplo: título VIDAS TOXO IgG II = 150 IU/mL

$$d = 150/15 = 10$$

Por consiguiente, en este ejemplo la muestra deberá diluirse en proporción 1/10 con el diluyente del equipo ref. 30 222, tras lo cual podrá analizarse en VIDAS TOXO IgG Avidity.

Toda muestra positiva < 15 IU/mL se analizará “*sin diluir*”.

2.- Sacar únicamente los reactivos necesarios, dejarlos 30 minutos a temperatura ambiente antes de usarlos.

3.- Utilizar un doble cartucho "TXGA" y dos conos "TXGA" por cada muestra o control a analizar. Comprobar que se cierra correctamente la bolsa de conos después de cada uso.

4.- Teclear o seleccionar "TXGA" en el instrumento para introducir el código de la prueba. Si debe ser analizado el control de alta avidez, será identificado como "C1". Si debe ser analizado el control de baja avidez, será identificado como "C2".

5.- Homogeneizar los controles y las muestras mediante un agitador tipo vortex.

6.- Distribuir 100 µl de muestra previamente diluida o de control (listo para su uso) en cada una de las cubetas de muestra del cartucho doble.

7.- Colocar en el instrumento los conos y los cartuchos. Comprobar la correcta concordancia de códigos (colores y letras) entre los conos y el doble cartucho.

8.- Iniciar el análisis (consultar el Manual del Usuario). Todas las etapas son ahora gestionadas automáticamente por el instrumento. Los resultados se obtienen en 40 minutos aproximadamente.

9.- Al finalizar el análisis, retirar los conos y los cartuchos del instrumento.

10.- Eliminar los conos y cartuchos utilizados en un recipiente apropiado.

Resultados e interpretación.

Al finalizar la prueba, los resultados son automáticamente analizados por el Sistema Informático. El instrumento efectúa dos mediciones de fluorescencia en la cubeta de lectura para cada uno de los cartuchos.

La “*primera lectura*” toma en cuenta el ruido de fondo debido a la cubeta sustrato antes de la puesta en contacto del sustrato con el cono. La “*segunda lectura*” se efectúa después de la incubación del sustrato con la enzima presente en el cono. El cálculo del RFV (*Relative Fluorescence Value*) resulta de la diferencia de las dos mediciones. Los RFV de los ensayos de referencia y de prueba figuran en la hoja de resultados.

Si los RFV del ensayo de referencia se encuentran fuera de los valores esperados, el instrumento mostrará un mensaje de alarma.

Si la muestra probada era pura o su grado de dilución muy elevado, y los RFV son inferiores a los límites, el resultado no podrá ser interpretado. En tal caso, el ensayo deberá realizarse de nuevo, con un grado de dilución adecuado.

Si los RFV son superiores a los límites, ello indica que la dilución de la muestra es insuficiente. Realizar de nuevo el ensayo con un grado de dilución adecuado. Para interpretar el resultado, el instrumento calcula automáticamente la siguiente relación:

$$\text{Índice} = \frac{\text{RFV prueba (lavado con agente disociador)}}{\text{RFV referencia (lavado sin agente disociador)}}$$

La interpretación del Índice de Avidéz es la siguiente:

| <u>Avidéz</u> | <u>Interpretación</u> |
|----------------------------------|---------------------------|
| <u>índice < 0,200</u> | <u>IgG de baja avidéz</u> |
| <u>0,200 d índice < 0,300</u> | <u>Avidéz media</u> |
| <u>índice > 0,300</u> | <u>IgG de alta avidéz</u> |

Un “*índice de avidéz superior o igual a 0,300*” está fuertemente a favor de una “*primoinfección datada en más de 4 meses*”. Este resultado debe ser sistemáticamente confirmado con una segunda muestra realizada dos a tres semanas posteriormente.

Un “índice inferior a 0,300” no permite distinguir una infección reciente de una infección antigua. Para estas muestras deberá utilizarse otros marcadores u otros métodos.

La interpretación de los resultados de la prueba debe efectuarse tomando en cuenta el contexto clínico y eventualmente los resultados de otras pruebas.

Control de calidad.

Cada kit VIDAS TOXO IgG Avidity incluye dos controles.

Estos controles deben ser utilizados al abrir cada nuevo kit con el fin de comprobar la ausencia de alteración de los reactivos. El usuario deberá verificar que el valor de fluorescencia relativa (RFV) del control de alta avidez C1 (cartucho de referencia) se encuentra efectivamente dentro del intervalo indicado en la tarjeta MLE.

El instrumento verificará automáticamente el índice de avidez de los controles, siempre que éstos hayan sido identificados como C1 y C2.

Si el valor de alguno de los controles se desvía de los valores esperados, los resultados no pueden ser validados.

3.2.2.2.3 *Toxoplasmosis IgM*

El ensayo ARCHITECT Toxo IgM es un inmunoensayo de dos pasos para la detección cualitativa de anticuerpos IgM contra *Toxoplasma gondii* en suero y plasma utilizando la tecnología CMIA con protocolos de ensayo flexibles, denominado Chemiflex.

En la primera etapa, la muestra y los anticuerpos monoclonales IgM de ratón recubiertas de micropartículas paramagnéticas de Anticuerpos, se combinan. Junto con Anticuerpos IgM de otras especificidades, contra-Toxo IgM específica presente en el muestra está obligado por el anticuerpo IgM monoclonal de ratón anti-humano revestido de micropartículas, la formación de un complejo anticuerpo-anticuerpo.

Después del lavado, un conjugado complejo que consiste en un anti-Toxo p30 marcado con acridinio antígeno monoclonal de ratón F (ab ') 2 fragmentos y nativa *Toxoplasma gondii* lisado, que contiene el antígeno p30, se añade para crear una mezcla de reacción en el segundo paso. Este complejo conjugado está obligado por el anti-Toxo específica IgM que ha sido capturado por el anticuerpo monoclonal de ratón anti-IgM humana micropartículas recubiertas de anticuerpo en el primer paso, formando un anticuerpo-anticuerpo conjugado complejo. Después de otro ciclo de lavado, pre-trigger y soluciones de activación se añaden a la mezcla de reacción.

La reacción quimioluminiscente resultante se mide como unidades relativas de luz (RLU). Existe una relación directa entre la cantidad de anti-Toxo IgM en la muestra y las RLU detectadas por la óptica del sistema ARCHITECT *i* 2000.

La presencia o ausencia de anti-Toxo IgM en la muestra se determina mediante la comparación de la señal quimioluminiscente en la reacción para el punto de corte señal determinada a partir de una curva de calibración activa. Si la señal en la muestra es mayor o igual a la señal de corte, la muestra se considera reactiva para anti-Toxo IgM.

Reactivos

Kit de reactivos, 100 pruebas / 500 pruebas

1 Botella (6,6 ml por botella de 100-test / 27.0 ml por 500-prueba de la botella) IgM (ratón, monoclonal) de anticuerpos anti-humano revestido con micropartículas en tampón Tris con estabilizadores de proteínas y detergente.

Concentración mínima: 0,08% de sólidos. Los agentes conservantes antimicrobianos: 1 Botella (5,9 ml por botella de 100-test / 26.3 ml por 500-test complejo botella) conjugado que consta de acridinio marcado con antígeno p30 anti-Toxoplasma (ratón, monoclonal) anticuerpos y nativa.

Lisado de *Toxoplasma gondii* en tampón fosfato con estabilizadores de proteínas y detergente. Concentración mínima: 25 mg / ml. Conservante: azida de sodio.

Instrucciones para el almacenamiento

El Kit de Toxo IgM Reactivo ARCHITECT debe ser almacenado a 2-8 ° C en una posición vertical y puede ser utilizado inmediatamente después de sacarlo de la nevera a 2-8 ° C . Cuando se almacena y aplica como se indica, los reactivos son estables hasta la fecha de vencimiento.

El Kit de Toxo IgM Reactivo ARCHITECT se puede almacenar en el System *i* ARCHITECT por un máximo de 30 días. Después de 30 días, el kit de reactivo debe ser desechado.

Los reactivos pueden almacenarse dentro o fuera del ARCHITECT System *i*. Si los reactivos se sacan del sistema, hay que guardarlos a 2-8 ° C (con tabiques y tapas de recambio) en una posición vertical. Para los reactivos almacenados fuera del sistema, se recomienda que se almacenen en sus bandejas originales y cajas para asegurarse de que se mantienen en pie.

Indicaciones del deterioro del reactivo

Cuando un valor de control se encuentra fuera del rango especificado, puede indicar deterioro de los reactivos o errores en la técnica. Los resultados no son válidos y las muestras deben ser reexaminadas. La recalibración del ensayo puede ser necesaria.

Almacenamiento

Las muestras pueden almacenarse con gel separador por un máximo de 3 días a 15-30 ° C o 14 días refrigerado a 2-8 ° C. Si las muestras se almacenan a 15-30 ° C y el ensayo se retrasará más de 3 días, separar el suero y almacenar congelada a -20 ° C o menos.

Si las muestras se almacenan a 2-8 ° C y la prueba se retrasará más de 14 días, separar el suero o plasma del coágulo y tienda de congelados a -20 ° C o menos.

No se observaron diferencias de rendimiento entre controles cualitativos experimentales y especímenes no reactivos o reactivos sometidos a 6 ciclos de congelación / descongelación. Sin embargo, múltiples ciclos de congelación / descongelación deben ser evitados.

3.2.2.3 VIRUS DE LA HEPATITIS B.

3.2.2.3.1 HBsAg

Para determinar en mujer gestante analítica de portadora de antígeno de superficie de virus de la hepatitis B hemos utilizado ARCHITECT HBsAg que es un inmunoanálisis quimioluminiscente de macropartículas (CMIA) para la determinación cuantitativa del antígeno de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) en suero y plasma humanos.

Resumen y explicación del ensayo.

Los enzimoimmunoanálisis para la determinación del HBsAg fueron descritos por primera vez en 1971 por Engvall y Perlmann [153, 154,155] y Van Weemen y Schuurs [156]. Más tarde, en 1976 y 1977, se desarrollaron enzimoimmunoanálisis de tipo “sandwich”, en los que se capturaba el HBsAg en una fase sólida recubierta de anticuerpos policlonales frente al HBsAg (antiHBs) y, a continuación, se detectaba con anti HBs conjugado con una enzima [157,158,159]. A principios de los años 80, se desarrollaron ensayos con antiHBs monoclonal para la detección del HBsAg

[160,161,162,163,164,165]ARCHITECT HBsAg es un inmunoanálisis quimioluminiscente de “micropartículas (CMIA) que utiliza micropartículas recubiertas de anti HBs monoclonal” para la detección del HBsAg.

Distingue pacientes con infección que se convierte en portadora crónica del virus. En el diagnóstico de hepatitis crónica o aguda se debe tener en cuenta tanto la reactividad para el HBsAg como el historial clínico del paciente y la presencia de otros marcadores serológicos de hepatitis B. Aquellas muestras que no presenten reactividad según el ensayo ARCHITECT HBsAg se consideran negativas para el HBsAg y no se necesitan análisis posteriores, y así se coordina con Obstetricia.

En cambio, una “muestra reactiva” se debe analizar por duplicado con el ensayo ARCHITECT HBsAg para determinar si es repetidamente reactiva. Si se determina que una muestra es repetidamente reactiva, se debe “confirmar” con un procedimiento “confirmatorio de neutralización” que utilice antiHBs humano, como por ejemplo el ensayo ARCHITECT HBsAg Confirmatory (9C94). Si la muestra “se neutraliza”, se la considera positiva para el HBsAg, y así se hizo en nuestras gestantes positivas

Es conveniente realizar un “ensayo confirmatorio”, antes de proporcionar un resultado positivo para VHB.

Principios biológicos del procedimiento.

ARCHITECT HBsAg es un inmunoanálisis de 2 pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) con protocolos de ensayo flexibles conocidos como Chemiflex, para la determinación cuantitativa de HBsAg en suero y plasma humanos.

En el “primer paso” se combinan la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de antiHBs. El HBsAg presente en la muestra de la gestante, se une a las micropartículas recubiertas de anti HBs. Después del lavado, en el “segundo paso”, se añade el conjugado de antiHBs marcado con acridinio. Las soluciones activadora y preactivadora se añaden a la mezcla de reacción, después de otro ciclo de lavado, y la reacción quimioluminiscente resultante, se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de HBsAg presente en la muestra y las URL detectadas por el conjunto óptico del ARCHITECT *i* System.

La concentración de antígeno de superficie del virus de la hepatitis B se determina mediante una curva de calibración ARCHITECT HBsAg previamente generada. Si la concentración en la muestra es igual o superior a 0,05 UI/ml, la muestra se considera reactiva para el HBsAg.

Reactivos.

ARCHITECT HBsAg Reagent Kit (6C36) Equipo de reactivos

- 1 ó 4 frascos(6,6 mL en el frasco de 100 test y 27,0 mL en el frasco de 500 test) de micropartículas recubiertas de antiHBs (IgM, IgG, monoclonal de ratón) en tampón MES, con estabilizantes proteínicos. Concentración mínima: 0,0675% de partículas sólidas. Conservante: ProClin 300.
- 1 ó 4 frascos (5,9 ml en el frasco de 100 test y 26,3 mL en el frasco de 500 test) de conjugado de antiHBs (IgG, de cabra) marcado con acridinio en tampón MES con estabilizantes proteínicos (plasma bovino y humano). Concentración mínima: 0,25 µg/mL. Conservante: ProClin 300.

Diluyente de ensayo.

ARCHITECT HBsAg Manual Diluent (6C36 40) [Diluyente manual]

- 1 frasco (100 mL) de diluyente manual ARCHITECT HBsAg que contiene plasma humano recalcificado. Conservantes: agente antimicrobiano y ProClin 300.

Otros reactivos

- ARCHITECT *i* Pretrigger Solution (Solución preactivadora) que contiene 1,32% (p./v.) de peróxido de hidrógeno.
- ARCHITECT *i* Trigger Solution (Solución activadora) que contiene 0,35 mol/L de hidróxido sódico.
- ARCHITECT *i* Wash Buffer (Tampón de lavado) que contiene solución salina en tampón fosfato.
Conservantes: agentes antimicrobianos.

Advertencias y precauciones.

- Para uso en diagnóstico *in vitro*.
- Leer atentamente las instrucciones de uso antes de utilizar el producto.
No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo si no se siguen las instrucciones indicadas.

- El producto contiene componentes de origen humano infecciosos o potencialmente infecciosos. Si se desea, consultar el apartado reactivos de instrucciones de uso. Al no existir métodos de análisis que garanticen la inocuidad de materiales de origen humano o de microorganismos inactivados, todos los materiales de origen humano deben considerarse potencialmente infecciosos. Seguir las instrucciones especificadas en la publicación “OSHA Standard on Bloodborne Pathogens”. [166,167,168] En el caso de materiales que contengan o que pudieran contener agentes infecciosos, se deben seguir las prácticas de seguridad biológica “Biosafety Level 2” u otras normativas equivalentes.

- El plasma humano utilizado en el conjugado, no presenta reactividad para el HBsAg, ni para el antígeno del VIH-1 o el RNA del VIH-1, ni reactividad de anticuerpos anti VHC, ni anti VIH-1/VIH-2, ni anti HBs.

- El plasma humano utilizado en el diluyente manual, no presenta reactividad para el HBsAg, ni para el antígeno del VIH 1 o el RNA del VIH 1, ni reactividad de anticuerpos anti VHC, ni anti VIH 1/VIH 2, ni anti HBs.

Precauciones de seguridad.

Las micropartículas, el conjugado y el diluyente manual contienen metilisotiazolonas, que son componentes de ProClin, y han sido clasificados según las directivas de la Comunidad Europea (CE) como: irritante (**Xi**).

A continuación se indican las frases relativas a los Riesgos (R) y medidas de Seguridad (S). R43 Posibilidad de sensibilización en contacto con la piel.

- S24 Evitar el contacto con la piel.
- S35 Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.
- S37 Usar guantes adecuados.
- S46 En caso de ingestión, acudir inmediatamente al médico y mostrarle la etiqueta o el envase.

Para aquellos productos que no hayan sido clasificados como peligrosos según la Directiva Europea 1999/45/EC, versión corregida, la Ficha de Datos de Seguridad están a disposición del usuario profesional en nuestro Laboratorio y en la UPRL del Hospital.

Precauciones de manipulación.

- No se pueden utilizar los equipos de reactivos transcurrida la fecha de caducidad.

- No mezclar entre sí frascos de reactivos de un mismo equipo, ni los reactivos de distintos equipos.

- Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT HBsAg en el Sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el transporte.

- Se deben utilizar septos (tapones de protección) para evitar la evaporación y la contaminación de los reactivos y para asegurar su buen estado. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo si no se manejan los septos según las Instrucciones indicadas en estas instrucciones de uso.

- Para evitar la contaminación, utilizar guantes limpios cuando se coloque un septo en un frasco de reactivo destapado.

- Una vez que haya colocado un septo en un frasco de reactivo abierto, no invertir el frasco, ya que el reactivo se puede derramar y esto podría afectar a los resultados del ensayo.

- Con el tiempo, los residuos líquidos se pueden secar en la superficie del septo. Generalmente se trata de sales secas que no ejercen ningún efecto sobre el funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento.

- El equipo de reactivos, los calibradores y los controles ARCHITECT HBsAg se deben almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C en posición vertical, y se pueden utilizar inmediatamente después de sacarlos del refrigerador.

- Si se almacenan y se manejan según las Instrucciones, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad.

- El equipo de reactivos ARCHITECT HBsAg se puede almacenar en el sistema ARCHITECT *i* durante un máximo de 30 días. Transcurrido este período de tiempo, el equipo de reactivos se debe desechar.

- Los reactivos se pueden almacenar dentro y fuera del sistema ARCHITECT *i*. Si retira los reactivos del sistema, almacénelos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con los septos y los tapones para los reactivos) en posición vertical. Si almacena los reactivos fuera del Sistema, se recomienda que los guarde en las bandejas y cajas originales para asegurarse de que se almacenan en posición vertical. Si el frasco de micropartículas no se ha almacenado en posición vertical (con los septos instalados) durante el almacenamiento fuera del sistema, el equipo de reactivos se debe desechar.

Después de retirar los reactivos del Sistema, debe realizar una lectura para actualizar el tiempo de estabilidad de los reactivos en el sistema.

Indicaciones de descomposición de los reactivos.

Si el valor de un control se encuentra fuera del intervalo especificado, puede ser indicio de una descomposición de los reactivos o de errores técnicos.

Los resultados de los análisis no son válidos y se deben repetir. Puede ser necesario calibrar de nuevo.

Recogida y preparación de las muestras para el análisis.

Con el ensayo ARCHITECT HBsAg se pueden utilizar muestras de suero (incluido el suero recogido en tubos con separador) o plasma (recogido con heparina sódica, EDTA potásico, heparina de litio, citrato sódico, oxalato potásico...) humanos. Con anticoagulantes líquidos los valores de los resultados obtenidos en las muestras de pacientes pueden ser inferiores debido a su efecto como diluyente. Seguir las instrucciones del fabricante de los tubos de suero o plasma para su procesamiento.

El sistema ARCHITECT *i*, no puede comprobar el tipo de muestra utilizado. Por lo tanto, el usuario tiene la responsabilidad de comprobar que se haya utilizado el tipo de muestras adecuado con el ensayo ARCHITECT HBsAg.

- Manejar con cuidado las muestras de pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipetas desechables.
- No se utilizan muestras intensamente hemolizadas.
- Para obtener resultados satisfactorios, se comprobará que no haya burbujas en las muestras. Si las hubiese, retirarlas con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, se utiliza un bastoncillo nuevo para cada muestra.
- Para obtener resultados satisfactorios, las muestras de suero y plasma se utilizan sin fibrina, eritrocitos ni partículas en suspensión. Estas muestras pueden proporcionar resultados inconsistentes y por tanto se deben transferir a un tubo de centrifuga y centrifugarlos a una FCR (Fuerza Centrífuga Relativa) de al menos 10.000 durante 10 minutos.
- .Antes de centrifugar, se comprueba que la formación del coágulo en las muestras de suero se haya completado. Se comprueba que algunas muestras, especialmente las de pacientes sometidos a terapia con anticoagulantes o terapia trombolítica, pueden presentar tiempos de coagulación prolongados. Si la

muestra se centrifuga antes de que se complete la formación del coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos

- Las muestras de gestantes tratados con heparina se pueden coagular parcialmente y producir resultados erróneos debido a la presencia de fibrina. Para evitarlo, se debe recoger la muestra antes de la terapia con heparina.
- La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de las muestras. Se debe separar el coágulo o los eritrocitos de las muestras mediante centrifugación, tal y como recomienda el fabricante de los tubos.
- Las muestras se pueden almacenar con o sin coágulo o eritrocitos hasta 14 días a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.
- Si el análisis se retrasara más de 14 días, retirar el coágulo, el separador de suero o los eritrocitos del suero o plasma y almacenar la muestra congelada a una temperatura igual o inferior a 20 °C.
- Las muestras se deben mezclar BIEN, después de descongelarlas, en un agitador de tubos tipo Vortex a BAJA velocidad.
- Las muestras centrifugadas con una capa de lípidos en la superficie, se deben transferir a una copa de muestra o a un tubo secundario. Procurar transferir sólo la muestra clarificada sin el material hipérico.
- Se deben evitar los ciclos múltiples de congelación y descongelación.
- En caso de transporte, las muestras se deben preparar y etiquetar de acuerdo con las Normativas vigentes que rigen el transporte de muestras y sustancias infecciosas (UN-3373).
- Las muestras se pueden enviar bien a temperatura ambiente, a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con hielo), o a una temperatura igual o inferior a 20 °C (con nieve carbónica). No exceder el tiempo de almacenamiento de las muestras mencionado anteriormente. Antes del envío, se recomienda retirar el coágulo, el separador de suero o los eritrocitos de las muestras.
- Antes del uso, los calibradores y los controles ARCHITECT HBsAg se deben mezclar invirtiéndolos suavemente.

Procedimiento.

Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT HBsAg en el Sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el envío:

- Invertir el frasco de micropartículas 30 veces.
- Comprobar que las micropartículas del frasco se hayan resuspendido. Si las micropartículas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiendo el frasco hasta que las micropartículas estén completamente resuspendidas.
- Una vez que las micropartículas se hayan resuspendido, retirar y desechar el tapón. Utilizando guantes limpios, coger un septo (tapón de protección) del envase. Colocar cuidadosamente el septo en el frasco.
- Si las micropartículas no se resuspenden, NO SE UTILIZA este reactivo.
- Si se considera necesario, se realizara una calibración.
- Seleccionar los ensayos en el Sistema.
- Cargar el equipo de reactivos ARCHITECT HBsAg en el sistema ARCHITECT *i*. Asegurarse de que todos los frascos de reactivos tengan septos.
- El volumen de muestra mínimo necesario para realizar un único análisis de HBsAg con el sistema ARCHITECT *i* es de 150 μL , para el primer análisis de HBsAg, más 75 μL , para cada análisis adicional de HBsAg de la misma copa de muestra. Antes de iniciar el análisis, comprobar que haya el volumen de muestra mínimo necesario en la copa de muestra. El Sistema calcula el volumen mínimo de muestra, el cual aparece en la pantalla de peticiones de muestras de pacientes, calibradores y controles y en el informe de la lista de peticiones.
- En el caso de que una muestra se haya cargado con prioridad, con 3 o menos replicados solicitados, se necesita un volumen en la copa de muestra menor que el que se visualiza en la pantalla de peticiones. En este caso, el volumen mínimo en la copa de muestra es de 75 μL , para cada replicado, más 50 μL .
- Para evitar al máximo la evaporación, todas las muestras (muestras de pacientes, calibradores y controles) se deben analizar antes de que transcurran 3 horas de almacenamiento en el sistema ARCHITECT *i*. Si la muestra permanece en el sistema durante más de 3 horas, es necesario un volumen adicional de muestra.

- Si se utilizan tubos primarios o con alícuotas, usar las marcas de nivel de muestra para asegurarse de que haya suficiente muestra de paciente.
- Antes del uso, los calibradores y los controles ARCHITECT HBsAg se deben mezclar invirtiéndolos suavemente. Los volúmenes requeridos para los calibradores y los controles ARCHITECT HBsAg se obtienen dispensando **verticalmente** en las copas de muestra correspondientes X gotas de cada calibrador (para 2 replicados) ó VI gotas de cada control (para 1 replicado).
- Cargar las muestras.
- Pulsar RUN (en marcha). El sistema ARCHITECT *i* realiza las funciones siguientes:
 - Lleva la muestra al punto de aspiración.
 - Carga una cubeta de reacción (CR) en la vía de procesamiento.
 - Aspira y transfiere la muestra a la CR.
 - Adelanta la CR una posición y transfiere las micropartículas a la CR.
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Añade el conjugado a la CR.
 - Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
 - Añade las soluciones preactivadora y activadora.
 - Mide la emisión quimioluminiscente para determinar la cantidad de HBsAg presente en la muestra.
 - Aspira el contenido de la CR y lo transporta al recipiente de desechos líquidos y deposita la CR en el recipiente de desechos sólidos.
 - Calcula el resultado.
 - Para garantizar un funcionamiento adecuado, es importante realizar los procedimientos habituales de mantenimiento.

Procedimiento de dilución de muestras.

Las muestras con concentraciones de HBsAg superiores a 250 UI/mL, se señalizan con el código “>250.00 IU/mL” y se pueden diluir con el procedimiento de dilución manual.

Las diluciones manuales se deben realizar como se indica a continuación:

- La dilución recomendada para el ensayo ARCHITECT HBsAg es 1:500. Se recomienda realizar diluciones que no excedan de 1:999.
- Para realizar una dilución al 1:20, añade 25 μ L, de la muestra de paciente a 475 μ L de diluyente manual ARCHITECT HBsAg. Para realizar una dilución al 1:500, añade 20 μ L de la dilución al 1:20 a 480 μ L, de diluyente manual ARCHITECT HBsAg.
- El usuario debe introducir el factor de dilución en la pantalla de peticiones de muestras de pacientes o controles. El sistema utiliza este factor de dilución para calcular automáticamente la concentración de la muestra antes de la dilución y proporciona el resultado. La dilución se debe efectuar de modo que los resultados diluidos sean superiores a 0,05 UI/ml.
- Para realizar una calibración del ensayo ARCHITECT HBsAg, analizar por duplicado los calibradores 1 y 2. Se debe analizar una única muestra de cada uno de los controles HBsAg de diferente concentración, para evaluar la calibración del ensayo.

Asegurarse de que los valores de los controles se encuentran dentro de los intervalos de concentración especificados en las instrucciones de uso de los controles. Los calibradores se deben cargar con prioridad.

- Intervalo de valores de los calibradores: 0 UI/mL a 250 UI/mL.
- Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT HBsAg haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analicen las muestras, excepto cuando:

- Se utilice un equipo de reactivos con un número de lote nuevo.
- Los controles no se encuentren dentro del intervalo especificado.

Se recomienda analizar el control positivo 1, el control positivo 2 y el control negativo ARCHITECT HBsAg, para verificar la calibración.

El requisito de control recomendado para el ensayo ARCHITECT HBsAg es el análisis de una muestra única de cada uno de los controles cada 24 horas, cada día de su uso. Si los procedimientos de Control de Calidad del Laboratorio así lo requieren, se pueden utilizar los controles más frecuentemente para verificar los resultados del análisis. Asegurarse de que los valores de los controles se encuentran dentro de los intervalos de concentración, especificados en las instrucciones de uso de los controles.

Interpretación de los resultados.

- Las muestras con valores de “*concentración inferiores a 0,05 UI/mL*” se consideraron “*no reactivas*” según el criterio del ensayo ARCHITECT HBsAg.
- Las muestras con valores de “*concentración iguales o superiores a 0,05 UI/mL*” se consideran “*reactivas*” según el criterio del ensayo ARCHITECT HBsAg.
- Todas las muestras inicialmente reactivas se deben analizar de nuevo por duplicado. Si los valores de ambos análisis son no reactivos, se deben considerar las muestras no reactivas para el HBsAg. Si cualquiera de los 2 valores es reactivo, la muestra se debe considerar repetidamente reactiva para el HBsAg según el criterio del ensayo ARCHITECT HBsAg.
- Las muestras “*repetidamente reactivas*” se deben analizar mediante un ensayo “*confirmatorio*” de neutralización. Sólo las muestras confirmadas mediante neutralización con anti HBs humano, se deben considerar “*positivas*” para el HBsAg. ARCHITECT. La interpretación de la zona gris y de la reactividad alta es un parámetro modificable y se deben utilizar según las necesidades del usuario.

Limitaciones del procedimiento.

Las muestras de las gestantes que hayan recibido preparados a base de anticuerpos monoclonales de ratón, con fines diagnósticos o terapéuticos, pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA). Estas muestras pueden dar valores falsamente elevados o disminuidos al analizarlas con equipos de ensayos que empleen anticuerpos monoclonales de ratón. [169,170]

Para determinar el estado de la paciente, se necesitan conocer datos clínicos o diagnósticos adicionales.

- Para fines diagnósticos, los resultados del ensayo se deben utilizar junto con el historial clínico de la paciente y otros marcadores de hepatitis para el diagnóstico de infección aguda o crónica y valorara Obstetricia

- Antes de realizar el análisis, se deben centrifugar aquellas muestras que contengan partículas en suspensión o eritrocitos.

- No utilizar muestras inactivadas con calor.

- Las muestras de pacientes tratadas con heparina se pueden coagular parcialmente y producir resultados erróneos debido a la presencia de fibrina. Para evitarlo, se debe recoger la muestra antes de la terapia con heparina.

3.2.2.3.2 *HBeAg*.

ARCHITECT (HBeAg) es un inmunoanálisis quimio luminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa del antígeno e del virus de la hepatitis B (HBeAg) en suero y plasma humanos, y está indicado como ayuda en el diagnóstico y el seguimiento de las infecciones por el virus de la hepatitis B.

Resumen y explicación de la prueba

Las determinaciones de HBeAg se pueden utilizar para monitorizar la evolución de la infección por el virus de la hepatitis B. El HBeAg se detecta en la fase inicial de la infección por el virus de la hepatitis B, después de la aparición del antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg). Los títulos de ambos antígenos aumentan rápidamente durante el periodo de replicación vírica en la infección aguda. La presencia de HBeAg se correlaciona con un número elevado de virus infecciosos (partículas de Dane), con la aparición de partículas del cuerpo vírico (core) en el núcleo de los hepatocitos y con la presencia de polimerasa del DNA y DNA específicos del virus de la hepatitis B en el suero. El HBeAg puede persistir junto con el HBsAg en la hepatitis vírica B crónica. Sin embargo, un subconjunto de pacientes con hepatitis B crónica no presenta HBeAg detectable en suero, pero es positivo para el anticuerpo frente al HBeAg (anti-HBe). El suero de estos pacientes puede ser también positivo para el DNA del virus de la hepatitis B.

Principios biológicos del procedimiento

El ensayo ARCHITECT HBeAg es un inmunoanálisis de dos pasos para la detección cualitativa de HBeAg en suero y plasma humanos, que utiliza la tecnología CMIA con protocolos de ensayos flexibles, denominados Chemiflex.

1. Se combinan la muestra, el diluyente del ensayo y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de anticuerpo (monoclonal, de ratón) anti-HBe. El HBeAg presente en la muestra se une a las micropartículas recubiertas de anti-HBe.

2. Después del lavado, se añade el conjugado de anti-HBe marcado con acridinio. de reacción después de otro ciclo de lavado.

3 .Las soluciones preactivadora y activadora se añaden a la mezcla de reacción después de otro ciclo de lavado.

4. La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de HBeAg presente en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del ARCHITECT iSystem.

La presencia o ausencia de HBeAg en el espécimen se determina comparando la señal quimioluminiscente de la reacción con la señal del punto de corte determinada a partir de una calibración activa.

Si la señal quimioluminiscente de la reacción es inferior a la señal del punto de corte, el espécimen se considera no reactivo para el HBeAg.

Reactivos

Contenido del equipo

Micropartículas recubiertas de anticuerpo (monoclonal, de ratón) frente al antígeno e del virus de la hepatitis B en tampón fosfato con estabilizante proteínico (bovino). Concentración mínima: 0,08% de partículas solidas. Conservantes: ProClin 300 y otros agentes antimicrobianos. Conjugado de anticuerpo (monoclonal, de ratón) frente al antígeno e del virus de la hepatitis B marcado con acridinio en tampón MES con estabilizante proteínico (bovino). Concentración mínima: 0,04 µg/ml. Conservante: ProClin 300. Tampon fosfato con plasma humano recalcificado y estabilizante proteínico (bovino). Conservantes: ProClin 300

Funcionamiento del instrumento

Antes de realizar el ensayo, se debe instalar el fichero del ensayo ARCHITECT HBeAg en ARCHITECT iSystem. Esta instalación se efectúa mediante el CD-ROM de ensayos ARCHITECT iSystem.

Recogida y preparación de los especímenes para el análisis

Tipos de especímenes

Tipos de especímenes validados para su uso con este ensayo

Tipos de especímenes; Tubos de recogida:

- Suero humano (Suero Tubos con separador de suero)
- Plasma humano (EDTA de potasio, Citrato sódico, Heparina de sodio Oxalato de potasio)
- No se ha validado el uso de otros anticoagulantes con el ensayo ARCHITECT HBeAg.

Condiciones de los especímenes

- Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipetas desechables para evitar la contaminación cruzada.
- No utilizar especímenes en las siguientes condiciones:
- Antes de centrifugar, comprobar que la formación del coágulo en los especímenes de suero se haya completado. Algunos especímenes, especialmente de embarazadas sometidas a terapia con anticoagulantes o terapia trombolítica, pueden presentar tiempos de coagulación prolongados. Si el espécimen se centrifuga antes de que se complete la formación del coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos o errores de aspiración.
- Los especímenes de pacientes tratados con heparina pueden coagularse parcialmente y producir resultados erróneos debido a la presencia de fibrina. Para prevenirlo, se debe recoger el espécimen antes de la aplicación terapéutica de la heparina.
- Para obtener resultados exactos, los especímenes de suero y plasma no deben presentar fibrina, eritrocitos ni partículas en suspensión.

Preparación para el análisis:

- Hay que seguir las instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de especímenes. La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de los especímenes.
- Se deben separar los coágulos o los eritrocitos de los especímenes mediante centrifugación, tal y como recomienda el fabricante de los tubos de recogida.
- Antes del análisis y para asegurar la reproducibilidad de los resultados, los especímenes deben transferirse a un tubo de centrifuga y centrifugarse a una FCR (fuerza centrífuga relativa) $\geq 10\ 000$ durante 10 minutos si:
 - contienen fibrina, eritrocitos u otras partículas en suspensión,
 - es necesario repetir el análisis o
 - han sido congelados y descongelados.
- Para el análisis, dispensar el espécimen aclarado en una copa de muestra o en un tubo secundario. Para especímenes centrifugados con una capa de lípidos, se debe transferir solo el espécimen clarificado sin el material lipídico.
- Los especímenes descongelados se deben mezclar mediante una inversión de 180 grados a partir de la posición vertical y de vuelta a la posición de partida, hasta un total de 10 veces.
- Comprobar visualmente que no haya estratificación en los especímenes. Si se observan capas o estratificación, repetir este movimiento hasta que los especímenes sean visiblemente homogéneos.
- Centrifugar a una FCR ≥ 10.000 durante 10 minutos para eliminar las partículas en suspensión y asegurar la reproducibilidad de los resultados.
- Comprobar que no haya burbujas en los especímenes. Si las hubiese, retirarlas con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, utilizar un bastoncillo nuevo para cada espécimen.

Almacenamiento de los especímenes:

Tipo de espécimen Suero/plasma

Temperatura de almacenamiento.- 2 °C - 8 °C . Igual o inferior a -20 °C.

Tiempo máximo de almacenamiento \leq 7 días.

Los especímenes se pueden almacenar con o sin él coagulo o los eritrocitos.

Si se supera el tiempo de almacenamiento máximo a una temperatura entre 2 °C y 8 °C, retirar el coagulo, el separador de suero o los eritrocitos del suero o plasma, y congelar el espécimen (temperatura igual o inferior a -20 °C).

Tras 6 ciclos de congelación y descongelación no se observaron diferencias cualitativas entre los resultados de controles experimentales y 23 especímenes no reactivos o especímenes reactivos con sustancias añadidas. No obstante, se recomienda no someter los especímenes a múltiples ciclos de congelación y descongelación.

Transporte de los especímenes:

- Los especímenes se deben empaquetar y etiquetar de acuerdo con las normativas vigentes que rigen el transporte de especímenes clínicos y sustancias infecciosas.
- Se recomienda retirar el coagulo, el gel separador o los eritrocitos de los especímenes.
- Los especímenes se pueden transportar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con hielo), o igual o inferior a -20 °C (con nieve carbónica).
- No sobrepasar el tiempo de almacenamiento mencionado anteriormente.

Procedimiento del ensayo:

Antes de cargar el equipo de reactivos en el sistema por primera vez, hay que mezclar el frasco de microparticulas para resuspender las microparticulas que se hayan podido asentar.

Una vez que haya cargado las microparticulas por primera vez, no será necesario volver a mezclarlas.

Invertir el frasco de microparticulas 30 veces.

Comprobar visualmente que las microparticulas del frasco se hayan resuspendido. Si las microparticulas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiendo el frasco hasta que estas estén completamente resuspendidas.

Si las microparticulas no se resuspenden, NO SE DEBE UTILIZAR ESTE PRODUCTO.

- Una vez que las microparticulas se hayan resuspendido, colocar un septo (tapón de protección) en el frasco. Utilizando guantes nuevos, coger un septo (tapón de protección) del envase. Colocar cuidadosamente el septo en el frasco. Cargue el equipo de reactivos en el ARCHITECT iSystem.

- Comprobar que tiene todos los reactivos necesarios.
- Asegurarse de que todos los frascos de reactivos tengan septos (tapones de protección).
- Si se considera necesario, realizar una calibración.
- Solicitar los ensayos en el sistema.
- El sistema calcula el volumen mínimo de la copa de muestra y lo imprime en el informe de la lista de peticiones. Para evitar al máximo la evaporación, asegurarse de que haya el volumen adecuado en la copa de muestra antes de realizar el ensayo.
 - Prioritaria: Volumen de muestra para el primer análisis: 80 μ l Volumen de muestra para cada análisis adicional con la misma copa de muestra: 30 μ l
 - \leq 3 horas en el sistema: Volumen de muestra para el primer análisis: 150 μ l Volumen de muestra para cada análisis adicional con la misma copa de muestra: 30 μ l
 - $>$ 3 horas en el sistema: se necesita volumen de muestra adicional.
 - Si utilizamos tubos primarios o con alícuotas, usar las marcas de nivel de muestra para asegurarse de que haya suficiente espécimen de paciente.
 - Prepar los calibradores y controles ARCHITECT HBeAg.
 - Antes de su uso, invertir delicadamente los frascos de los calibradores y de los controles para mezclar su contenido.
 - Sostener los frascos **verticalmente** y dispense los volúmenes recomendados en la copa de muestra correspondiente.
 - Volúmenes recomendados: para cada calibrador: 4 gotas; para cada control: 4 gotas.
 - Cargar las muestras.
 - Pulsar la tecla PROCESAR.
- Para garantizar un funcionamiento óptimo, es importante realizar los procedimientos de mantenimiento habituales El mantenimiento podrá ser más frecuente si los procedimientos del laboratorio así lo requieren.

Procedimientos para la dilución de los especímenes:

Los especímenes no se pueden diluir para el ensayo ARCHITECT HBeAg.

Calibración:

• Analizar los calibradores 1 y 2 por triplicado. Los calibradores se deben cargar con prioridad.

Debemos analizar una única muestra de cada uno de los controles de diferente concentración para evaluar la calibración del ensayo. Asegurarse de que los valores de los controles se encuentren dentro de los intervalos de valores aceptables especificados en las instrucciones de uso de los controles correspondientes.

• Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT HBeAg haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analicen muestras, excepto cuando:

- Se utilice un equipo de reactivos con un número de lote nuevo o
- Los controles no se encuentren dentro del intervalo especificado.

Procedimientos de control de calidad:

El requisito de control mínimo recomendado para el ensayo ARCHITECT HBeAg es el análisis de una muestra única de cada uno de los controles cada 24 horas,

cada día de su uso y para cada lote de reactivos. Si los procedimientos de control de calidad de su laboratorio así lo requieren, se pueden utilizar los controles más frecuentemente para verificar los resultados del análisis.

Los valores de los controles ARCHITECT HBeAg se deben encontrar dentro de los intervalos de valores aceptables especificados en las instrucciones de uso de los controles. Si un control se encuentra fuera del intervalo especificado, los resultados del análisis no son válidos y se debe repetir. Puede ser necesario calibrar de nuevo.

Resultados

ARCHITECT iSystem calcula la media de las señales quimioluminiscentes (URL = unidades relativas de luz) de los calibradores 1 (Cal 1) y 2 (Cal 2) ARCHITECT HBeAg a partir de los 3 replicados de cada calibrador y almacena los resultados.

Cálculo.

El analizador ARCHITECT iSystem calcula los resultados del ensayo ARCHITECT HBeAg basándose en el cociente de las URL de la muestra y las URL del punto de corte (S/CO) para cada espécimen y control.

- URL del punto de corte = [(media de URL del calibrador 2 - media de URL del calibrador 1) x 0,1] + media de URL del calibrador 1
- Las URL del punto de corte se almacenan para cada calibración del lote de reactivos.
- S/CO = URL de la muestra/URL del punto de corte

Interpretación de los resultados:

Resultados iniciales

Valores S/CO Señalización del analizador Interpretación del analizador

Procedimiento de reanálisis:

< 1,000 NONREACTIVE No reactivo El reanálisis no es necesario.

≥ 1,000 REACTIVE Reactivo Vuelva a analizar por duplicado.

Interpretación del analizador Clasificación del espécimen:

Ambos resultados no reactivos El espécimen se considera no reactivo para el HBeAg.

Uno o ambos resultados reactivos El espécimen se considera repetidamente reactivo para el HBeAg.

Todos los especímenes inicialmente reactivos se deben dispensar en un tubo de centrifuga, volver a centrifugar a una FCR ≥ 10 000 durante 10 minutos y analizar de nuevo por duplicado.

La señalización de los resultados reactivos altos y en zona gris (dudosos) son parámetros modificables y se pueden utilizar de acuerdo con las necesidades del usuario.

Alertas

Para algunos resultados puede aparecer información en la columna de alertas.

Limitaciones del procedimiento

- Para fines diagnósticos, los resultados del análisis se deben utilizar junto con el historial clínico del paciente y otros marcadores de hepatitis para el diagnóstico de infección aguda o crónica.
- Si los resultados del análisis de HBeAg no son coherentes con los datos clínicos, se recomienda realizar análisis adicionales para confirmar los resultados.
- Los especímenes de pacientes que hayan recibido preparados a base de anticuerpos monoclonales de ratón con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA). Estos especímenes pueden dar valores falsamente elevados o disminuidos al analizarlos con equipos de ensayos como ARCHITECT HBeAg que empleen anticuerpos monoclonales de ratón.

Los reactivos ARCHITECT HBeAg contienen un componente que reduce el efecto de los especímenes con reactividad HAMA. En estos casos, para determinar el estado del paciente puede que sea necesaria información clínica o diagnóstica adicional.

- Los anticuerpos heterofilos presentes en el suero humano pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo e interferir en los inmunoanálisis *in vitro*. Las muestras de pacientes habitualmente en contacto con animales o con productos procedentes de suero animal pueden ser propensas a esta interferencia y dar valores anómalos

Características específicas del funcionamiento

Imprecisión:

El ensayo ARCHITECT HBeAg tiene una imprecisión $\leq 10\%$ para especímenes reactivos ($S/CO \geq 1,000$).

Sensibilidad:

El límite de detección del ensayo ARCHITECT HBeAg es $\geq 99,5\%$.

3.2.2.4 SÍFILIS

3.2.2.4.1 RPR

El método empleado para la determinación de Sífilis en mujeres embarazadas en nuestro estudio fue el de RPR-carbón (Spinreact). Es una técnica “*No Treponémica*” de aglutinación en porta para la detección cualitativa y semicuantitativa de “*reaginas plasmáticas*” en suero humano. Las partículas de carbón sensibilizadas con una mezcla de lípidos, son “aglutinadas en presencia de reaginas presentes en la muestra de la gestante afectada por sífilis venérea *Treponema pallidum*”.

Las reaginas son un grupo de anticuerpos dirigidos contra componentes del propio organismo, originadas en pacientes que sufren infección por *Treponema pallidum*, agente causal de la sífilis venérea. Este microorganismo produce lesiones en

el hígado y corazón, “*liberando al torrente circulatorio pequeños fragmentos de estos órganos no reconocidos por el propio individuo*”. El sistema inmunológico del paciente reacciona dando lugar a la formación de “*reaginas anticuerpo frente a estos fragmentos*”.

Procedimiento a seguir en el modo cualitativo: Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente, pues la Sensibilidad del ensayo disminuye a temperaturas bajas.

- Se depositan 50 microlitros de la “muestra” de la gestante y una gota de los controles, positivo y negativo, sobre un círculo de un porta.
- Homogeneizar suavemente el reactivo de RPR-carbón antes de usar y eliminar las burbujas de aire.
- Situar las micropipetas en posición vertical y perpendicular al porta y dispensar una gota (20 microlitros) de este reactivo, junto a cada una de las gotas anteriores.
- Mezclar las gotas con un palillo, procurando extender la gota por todo el círculo. Emplear siempre palillos distintos para cada muestra.
- Situar el porta sobre un agitador rotatorio 80 - 100 r.p.m. durante 8 minutos. Si nos excedemos en el tiempo podrían aparecer falsos positivos.
- Se utiliza en todos los casos un control de calidad Positivo y otro Negativo para controlar la funcionalidad del reactivo de carbón, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.
- En ningún caso fenómeno prozona (según el fabricante se debería observar por debajo de títulos 1/128).

Lectura e interpretación de la reacción.

Examinar microscópicamente la presencia o ausencia de aglutinaciones inmediatamente después de retirar el porta del agitador. Agitar el porta manualmente un par de veces antes de realizar la lectura

- Si aparecen “*agregados grandes o medianos*” : “*Resultado Positivo*”.
- “*Agregados pequeños*”: “*Reacción débil*”.
- “*Ningún agregado*” o ligera rugosidad : “*Reacción Negativa*”.

En este tipo de reacciones de aglutinación, es necesario conocer las posibles interferencias, en este caso:

- Bilirrubinas > 20 mgr/dl.
- Hemoglobinas > 10 gr/L.

- Lípidos > 10gr/L. No interfieren.
- Los Factores Reumatoides (300 UI/mL), sí interfieren.

En la primera determinación se realiza una determinación cualitativa de anticuerpos frente a “*Antígenos no Treponémicos*” en el primer trimestre del embarazo (R.P.R.). Si el resultado es NEGATIVO se descarta infección por *T. pallidum* en ausencia de manifestaciones clínicas o sospecha de infección.

Las técnicas “*No Treponémicas*” (RPR) posee una serie de ventajas como:

- Rapidez.
- Sencillez de manejo.
- Son más económicas.
- Permiten realizar determinaciones individuales.
- No requieren un equipamiento específico.
- Detecta conjuntamente IgG e IgM.

Pero poseen también algunas limitaciones que hemos de conocer:

- Falsos positivos biológicos.
- “*Requieren confirmación*” de una positividad con una “*prueba treponémica*”
- Pueden aparecer algunos falsos negativos debido al efecto prozona y a las limitaciones de la prueba (fase precoz de la sífilis primaria y en la sífilis tardía).

Pruebas “No Treponémicas”.

Todas ellas se basan en antígenos compuestos de soluciones alcohólicas con cantidades predeterminadas de cardiolípidinas, colesterol y lecitinas [171,172]. Miden simultáneamente inmunoglobulinas IgG e IgM frente a estas sustancias que son producidas en los tejidos dañados por el treponema o por otras enfermedades. Puesto que no miden anticuerpos específicos frente a “*T. pallidum*” no confirma la enfermedad sifilítica.

Para su realización, el suero del paciente es mezclado con el antígeno en un soporte circular de diámetro estándar. Si existen anticuerpos se combinan formando una floculación que es leída microscópicamente (100 aumentos). El VDRL y USR (Unheated Serum. Reagin) El USR tiene el mismo antígeno del VDRL estabilizado con EDTA y colina. Necesitan de un microscopio de 100 aumentos para su lectura y deberá realizarse meticulosamente tanto la preparación del antígeno, como la lectura de la reacción. El antígeno VDRL debe prepararse frecuentemente aunque puede estabilizarse, para su conservación durante unos días, mediante la adición de ácido benzoico al 1%.

Todas las pruebas No treponémicas pueden presentar fenómenos de prozona (falsos negativos) cuando las muestras son fuertemente reactivas, por lo que es conveniente “titularlas siempre”. Esto es especialmente cierto cuando la prueba se realiza con muestra no diluida y con un procedimiento incorrecto (como dispensar el antígeno sobre la muestra no extendida en el círculo de reacción). La temperatura de los reactivos es igualmente importantísima en relación con la Sensibilidad. También puede obtenerse un resultado negativo en las fases muy tempranas del período primario, incluso cuando la visualización de los treponemas es positiva.

Los falsos positivos no superan por lo general los títulos de 1/4 y pueden ser transitorios o permanentes según persistan o no más de seis meses. Las muestras hemolizadas o lipemias pueden producir también este tipo de resultados. La prueba RPR tiende a dar títulos más elevados, que la prueba VDRL.

Las “pruebas reagínicas” son fundamentales para evaluar la eficacia de los tratamientos. Si es eficaz, los títulos deberán disminuir significativamente (hasta 8 veces) durante los 6-12 meses siguientes a su inicio. Suele persistir reactividad a títulos muy bajos o en suero no diluido. Si el tratamiento se inicia en estadios latentes o tardíos lo habitual es conseguir una disminución de los títulos, de forma muy lenta, y sólo en un 25-40 % de las pacientes. En el resto, la persistencia de la seropositividad no indica ni fallo del tratamiento ni reinfección.

Características Generales de las pruebas serológicas (Sífilis venérea).

A) Pruebas “No Treponémicas”:

- V.D.R.L. (*Venereal Research Disease Laboratory*). Únicamente puede emplearse con suero; es un antígeno “no particulado”. La reacción que se obtiene con la muestra positiva, es de floculación. Lectura microscópica.
- R.P.R. (*Rapid Plasma Reagin*). Puede emplearse con suero y plasma. Es un antígeno con “partículas de carbón”[172].
- E.L.I.S.A. Se emplea con suero. Utiliza en la “fase sólida antígenos del tipo VDRL”.

B) Pruebas “Treponémicas”:

- FTA-Abs 200. (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción del suero*) Antígeno de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de la cepa Reiter. Puede realizarse sobre con suero y L.C.R.

- FTA-Abs 200 DS. (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción y doble tinción*). Utiliza el mismo antígeno y absorbente que en la prueba anterior y puede llevarse a cabo sobre el mismo tipo de muestras. Emplea como antisuero una IgG marcada con isotiocianato de tetrametil rodamina y como contraste un suero antitreponema marcado con isotiocianato de fluoresceína.
- TPHA. (*Microhemaglutinación*). Solo homologada para suero. Utiliza eritrocitos sensibilizados con antígenos de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de cepa Reiter [173,174].
- Captia Syphilis M. (*ELISA de captura anti cadena pesada*). Se realiza en suero. Su mayor utilidad se centra en el diagnóstico de la sífilis congénita, sobretodo la sintomática. Parece ser la prueba con mayor sensibilidad para la detección de esta clase de inmunoglobulina.
- ELISA IgG. Para utilizar con suero. Existen muchos estudios que demuestran su alta sensibilidad y especificidad.
- **FTA-Abs 19S IgM**. Para suero. Poca sensibilidad.
- Western blot. Debe utilizarse como prueba de confirmación.

Las pruebas “treponémicas” se utilizan principalmente para “confirmar los resultados positivos obtenidos con las pruebas reagínicas”. Producen escasos falsos positivos, un 1% FTA-Abs y muy pocos TPHA. Este hecho puede presentarse especialmente en la mononucleosis, lepra, enfermedades del colágeno, borreliosis y otras treponematoses patógenas, así como en los adictos a drogas por vía parenteral.

Todas ellas deben realizarse previa absorción del suero, para eliminar la reacción cruzada con otros treponemas. No son útiles para seguir los tratamientos, ya que suelen permanecer positivas en el 85-90% de los pacientes tratados y curados.

La “**FTA-Abs**”, en sus diferentes variantes, es una prueba compleja y está sometida a múltiples causas de error si no se estandarizan previamente todos los reactivos entre sí. Igualmente la lectura es menos objetiva. Presenta aproximadamente un 1% de falsos positivos. El TPHA es uno de los métodos más sencillos de realizar ensayándose la muestra a una dilución de 1/80. No está demostrada la utilidad de cuantificar el resultado; tampoco está homologada para su empleo en LCR. Produce menos falsos positivos que FTA-Abs existiendo estudios que demuestran su utilidad como prueba de rastreo.

“ELISA Captia sífilis IgM” es una prueba que se utiliza para el diagnóstico de sífilis congénita sobre muestras de suero. Existen trabajos que demuestran mayor

sensibilidad que la prueba FTA-Abs IgM 19S en el diagnóstico de esta forma clínica en estadios tempranos sintomáticos y algo menor en los estadios tardíos. En las sífilis congénitas asintomáticas, la sensibilidad de todas las pruebas para IgM son muy bajas de tal forma, que sólo un resultado positivo confirma el diagnóstico. En cualquier caso los resultados negativos obtenidos con esta prueba, deberán interpretarse junto con los datos que se tengan sobre el periodo de la enfermedad en el que inició el tratamiento en la madre, si este fue correcto o no y los signos y síntomas del recién nacido. Su negatividad no descarta la enfermedad congénita (ver sífilis congénita).

Las pruebas de “ELISA IgG” pueden emplearse en sustitución de las treponémicas TPHA y FTA-Abs ya que diferentes estudios han demostrado su excelente sensibilidad y especificidad en la detección de este tipo de anticuerpos. Estas pruebas permiten la automatización de grandes cantidades de muestras y lecturas objetivas.

Para el diagnóstico de la neurosífilis, se acepta que una prueba FTA-Abs negativa en muestra de LCR, probablemente más sensible que VDRL en este periodo, descarta la enfermedad.

La prueba (*Western blot*) tiene una gran utilidad en la confirmación de enfermedad congénita, cuando empleamos como revelador de la reacción Anti IgM. Su sensibilidad es del 90% y la especificidad del 83%.

Normas de seguridad que se aplicaron durante los ensayos fueron:

- Existe un riesgo biológico para todos los profesionales implicados en los procesos, desde la extracción de las muestras, transporte y procesamiento hasta la eliminación de las mismas.
- Existen normas de bioseguridad bien reglamentadas mediante normativas legales, Real Decreto 664/97 y la adaptación contenida en la Orden de 25 de Marzo de 1998.
- Durante los procesos se aplican los principios universales de precaución, considerando a todas las muestras potencialmente infecciosas, independientemente de los datos clínicos disponibles
- No comer, beber, ni fumar durante la ejecución del examen.
- No pipetear con la boca, se utilizan pipetas automáticas.
- Evitar el contacto directo con el material potencialmente contagioso usando batas de laboratorio, gafas de protección y guantes desechables. Lavarse cuidadosamente las manos al terminar el ensayo.
- Evitar salpicaduras o formación de aerosoles. En caso de que esto sucediera se eliminara con una solución de hipoclorito sódico al 5%
- Las muestras y los reactivos se consideraran como material capaz de transmitir agentes infecciosos, por lo que los residuos se eliminaran de acuerdo a las normativas vigentes.

3.2.2.4.2 FTA-Abs. Técnica de Confirmación para gestantes en la Tesis.

Los anticuerpos detectados por el FTA-Abs aparecen a los pocos días de la lesión. Su evolución es comparable a la de los anticuerpos inmovilizantes (Test de Nelson). Así mismo, después de tratar, estos anticuerpos persisten durante años a nivel residual.

Reactivos y Material necesarios.

- Reactivo FTA-Abs.
- Fluoline H.
- Serotrol (Suero testigo positivo Humano)
- BABS.
- PBS.
- Fluoprep.
- Reactivos auxiliares para los lavados: PBS- Tween ;PBS y Tween 80

Material.

- Microscopio de fluorescencia de luz ultravioleta objetivo x 40.
- Cubre objetos (60 x 24).
- Pipetas de puntas desechables de 10 a 1.000ul.

Precauciones de Utilización.

Se manipulan con precaución todo el material que puede ser potencialmente contagioso, pues no se puede garantizar de forma absoluta la ausencia total de agentes patógenos transmisibles. Por lo tanto se recomienda manipularlos con las precauciones relativas a los productos potencialmente infecciosos.

- No pipetear con la boca ni las muestras ni los reactivos.
- No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
- Evitar el contacto con los ojos, piel o boca.
- El equipo solo debe ser utilizado con la metodología indicada en la ficha técnica.
- No utilizar los portas cuya bolsa esté visiblemente alterada.
- Durante la identificación de los portas, no utilizar tinta susceptible de borrarse con los lavados. Utilizar preferentemente lápiz.

Principio del Test.

Se trata de una reacción inmunológica en dos etapas:

- Las “*inmunoglobulinas séricas humanas anti-Treponema pallidum*” eventualmente presente en la muestra, se fijan a los treponemas depositados sobre los portas de Trepo-Spot IF. Los elementos no fijados se eliminan por lavados.
- Las inmunoglobulinas “*fijadas se revelan*” con inmunoglobulinas de cabra anti-inmunoglobulinas humanas marcada con fluoresceína. Los elementos no fijados son eliminados mediante lavados.

La lectura de la reacción se hace con la ayuda de un microscopio de fluorescencia.

Para eliminar los anticuerpos no específicos, los sueros son tratados con un extracto proteico de treponema Reiter.

Muestras.

- Sueros recientes o congelados a $-25 \pm 6^{\circ}\text{C}$.
- Evitar congelaciones y descongelaciones sucesivas.
- Eliminar todo suero hemolizado, lipémico o contaminado.

Instrucciones de empleo.

- Sacar del equipo tan solo los portas necesarios, dejar que alcancen la temperatura de laboratorio aproximadamente 15 minutos antes de abrir las bolsas
- Diluciones de los sueros y del control Positivo
 - Protocolo cualitativo: Diluir los sueros a estudiar y el control positivo al 1/5 con FTA-Abs (50 uL + 200 μL ABS-FTA)
 - Protocolo cuantitativo : Realizar las diluciones en tampón BABS según el esquema.
- Depositar los sueros: Depositar 10uL de cada una de diluciones del suero en el interior de los círculos (una dilución por círculo). Emplear dos controles: Uno depositando únicamente 10 μL de BABS y otro depositando únicamente 10 μL de FTA-Abs
- Incubar 30 minutos a 37°C en cámara húmeda
- Preparar el PBS-Tween : En 1 litro de PBS añadir 65 uL mas 5uL de Tween 80

- Lavar con PBS-Tween 2 veces por inmersión durante cinco minutos: Enjuagar rápidamente en un baño de agua destilada. Escurrir y secar.
- Preparar el conjugado : diluir el Fluoline H con BABS a la dilución previamente determinada (consultar con ficha técnica)
- Recubrir cada círculo, incluido los controles, con 10 μ L de conjugado.
- Incubar 30 minutos a 37°C en cámara húmeda. Lavar los portas con PBS-Tween 2 veces por inmersión durante 5 minutos. Enjuagar rápidamente en un baño de agua destilada. Escurrir y secar. Depositar 2 gotas de Fluoprep en cada porta. Colocar un cubreobjetos.
- Leer los portas en un microscopio de fluorescencia
- Eliminar los portas utilizados.

Lectura de los resultados.

“Antes de leer las muestras, verificar la ausencia de fluorescencia en los dos controles”. Si los controles presentan fluorescencia, la serie no debe ser validada y las muestras deben repetirse en otra serie.

- Reacción Negativa: Ausencia de fluorescencia o treponemas débilmente teñidos de verde.
- “*Reacción Positiva*”: Presencia al microscopio de diferentes grados de fluorescencia verde.

El título del suero se expresa como la inversa de la última dilución con una reacción Positiva.

Interpretación.

Las reacciones Positivas al 1/5 en FTA-Abs deben ser “*confirmadas mediante un estudio cuantitativo*”.

Reacciones Positivas a título 1/50 en tampón BABS (a partir de la dilución 1/5 en FTA-Abs) corresponden al umbral patológico habitualmente admitido.

La interpretación de los resultados de la determinación, debe hacerse teniendo en cuenta la historia clínica de la paciente y eventualmente los resultados de otras pruebas.

Control de calidad.

Debe efectuarse un control de calidad de los reactivos con cada nuevo equipo y con cada serie de determinaciones.

Debe procesarse el suero control Positivo en cada serie. En el “*protocolo cuantitativo*”, debe obtenerse el título de positividad mas/menos 1 dilución (título indicado para cada lote).

En el protocolo cualitativo, la intensidad debe ser intensa.

Límites de la determinación.

Las causas de falsos positivos para esta determinación son:

- Infecciosas: Enfermedad de Lyme, Leptospirosis, Mononucleosis Infecciosa, Paludismo.
- No Infecciosas: Lupus Eritematoso

FTA-Abs

Es un reactivo utilizado en el pretratamiento de las muestras (eliminación de los anticuerpos no específicos) con el objetivo de detectar de forma específica las inmunoglobulinas totales anti-*Treponema pallidum* con TrepoSpot IF.

- Introducción.

FTA-Abs es un absorbente para utilizar con Trepo-Spot IF. Se utiliza para el diagnóstico de la sífilis por inmunofluorescencia indirecta (FTA-Abs Test), para eliminar los anticuerpos no específicos de *Treponema pallidum* de los sueros a analizar.

- Precauciones de utilización.
 - Para diagnóstico “in Vitro” únicamente.
 - Para uso profesional solamente.
 - Este equipo contiene componentes de origen humano. Se recomienda utilizarlo con precaución y como si fuera un producto potencialmente infeccioso (No ingerir ni inhalar).
 - No utilizar los reactivos después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase.
 - Evitar contacto con los ojos, la piel o la ropa.
 - No pipetear con la boca las muestras ni los reactivos.
- Condiciones de conservación.

- Conservar el reactivo a temperaturas entre 2 – 8°C
 - El reactivo es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del envase, si se conserva en las condiciones recomendadas.
- Principio.

FTA-Abs es un extracto de *Treponema cepa Reiter* capaz de absorber los anticuerpos dirigidos contra los antígenos del género *Spirochetæ*.

3.2.2.5 VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH).

3.2.2.5.1 ELISA VIH

Debido a que no existe ninguna manifestación clínica característica de la infección de VIH, la prueba para detectar esta infección ha de llevarse a cabo mediante pruebas de diagnóstico molecular en un Laboratorio. La prueba más habitual para detectar la presencia de VIH es la prueba de inmunodetección denominada ELISA.

Con esta técnica se pretende detectar los anticuerpos específicos que el organismo produce como respuesta a la presencia del virus. Cabe destacar que en Países donde la prevalencia de la enfermedad es baja, ante un resultado positivo mediante un ELISA, "no se debe informar a la gestante de la presencia de VIH sin haber confirmado antes la prueba, mediante un Western blot". La seropositividad frente al VIH se detecta a partir de una extracción sanguínea de la gestante con la que se realizará la determinación de anticuerpos anti-VIH por técnica de cribado ELISA. La prueba diagnóstica dirigida al VIH tiene una Especificidad del 99% y una Sensibilidad del 99%.

ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa simultánea del antígeno p24 del VIH y de los anticuerpos frente al virus de la inmunodeficiencia humana de tipos 1 y 2 (VIH-1/VIH-2) en suero o plasma humanos.

Para el cribado en la gestante con factor de riesgo (prácticas de riesgo), un resultado positivo del ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, no distingue entre la detección del antígeno p24 del VIH, el anticuerpo anti-VIH-1, o el anticuerpo anti-VIH-2.

Principios biológicos del procedimiento

El ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo es un inmunoanálisis de dos pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas

(CMIA) con protocolos flexibles, denominados Chemiflex, para determinar la presencia del “antígeno” p24 del VIH y de los “anticuerpos” frente al *VIH-1* (grupos M y O) y al *VIH-2* en suero y plasma humanos.

En el primer paso, se combinan la muestra, el tampón de lavado ARCHITECT *i*, el diluyente de ensayo y las micropartículas paramagnéticas. El “antígeno p24 del VIH y los anticuerpos anti-*VIH-1/VIH-2* presentes en la muestra”, se unen a las micropartículas recubiertas de antígeno del *VIH-1/VIH-2* y anticuerpo (monoclonal, de ratón) anti-p24 del VIH.

Después del lavado, el antígeno p24 del *VIH* y los anticuerpos anti-*VIH-1/VIH-2* se unen al conjugado de antígenos (recombinantes) del *VIH-1/VIH-2* marcados con acridinio, péptidos sintéticos del *VIH-1/VIH-2* marcados con acridinio y anticuerpo (monoclonal, de ratón) anti-p24 del *VIH* marcado con acridinio. Las soluciones preactivadora y activadora se añaden a la mezcla de reacción, después de otro ciclo de lavado. La reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre el antígeno del *VIH* y los anticuerpos anti-*VIH* presentes en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del ARCHITECT *i* System.

La presencia o ausencia de antígeno p24 del *VIH* o de anticuerpos anti-*VIH-1/VIH-2* en una muestra se determina, comparando la señal quimioluminiscente de la reacción con el valor del punto de corte determinado por una calibración del ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo. Las muestras con valores para la señal respecto a punto de corte (S/CO) iguales o superiores a 1,00 se consideran “reactivas” para el antígeno p24 del VIH o los anticuerpos anti-*VIH-1/VIH-2*.

Las muestras con valores S/CO inferiores a 1,00 se consideran no reactivas para el antígeno p24 del VIH o los anticuerpos anti-*VIH-1/VIH-2*.

Las muestras que son inicialmente reactivas con el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo se deben analizar de nuevo por duplicado. La “reactividad repetida” es un indicio importante de la presencia del antígeno p24 del *VIH* y de anticuerpos *VIH-1/VIH-2*. Sin embargo, como ocurre con todos los inmunoanálisis, el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo puede producir reacciones inespecíficas debidas a otras causas, especialmente cuando se analizan muestras de poblaciones con prevalencia baja.

Una muestra repetidamente reactiva se debe investigar siempre con otras pruebas suplementarias específicas para el *VIH* (de suficiente Sensibilidad) como por ejemplo, “ensayos de inmunotransferencia”, análisis para antígenos y análisis de ácido nucleico del *VIH*. Los análisis suplementarios de muestras repetidamente reactivas de individuos con riesgo de infección por el *VIH* confirman normalmente la presencia de

anticuerpos del *VIH* o del antígeno del *VIH* y de ácido nucleico del *VIH*. El diagnóstico diferenciado de SIDA o de enfermedades relacionadas con el SIDA debe incluir obligatoriamente un examen del estado inmunitario y de la historia clínica de la gestante.

Reactivos.

ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit (equipo de reactivos) (4J27).

- 1 o 4 frascos (6,6 mL cada uno (100 test) y 27,0 mL cada uno (500 test) de micropartículas recubiertas de antígeno (recombinante) del *VIH-1/VIH-2* y anticuerpo (monoclonal, de ratón) anti-p24 del *VIH* en solución salina con tampón TRIS.

Concentración mínima: 0,07% de partículas sólidas. Conservante: azida sódica.

- 1 o 4 frascos (5,9 mL cada uno (100 test) / 26,3 mL cada uno (500 test) de conjugado de antígenos (recombinantes) del *VIH-1* marcados con acridinio, péptidos sintéticos del *VIH-1/VIH-2* marcados con acridinio y anticuerpo (monoclonal, de ratón) anti-p24 del *VIH* marcado con acridinio en tampón fosfato con estabilizantes proteínicos (bovinos) y agentes tensioactivos. Concentración mínima: 0,05 µg/mL. Conservante: azida sódica.

- 1 o 4 frascos (5,9 mL cada uno (100 test) y 26,3 mL cada uno (500 test) de diluyente de ensayo HIV Ag/Ab Combo que contiene tampón TRIS. Conservante: azida sódica.

Otros reactivos

ARCHITECT *i* Pre-Trigger Solution (solución preactivadora)

- Solución preactivadora que contiene 1,32% (p./v.) de peróxido de hidrógeno.

ARCHITECT *i* Trigger Solution (solución activadora)

- Solución activadora que contiene hidróxido de sodio 0,35 N.

ARCHITECT *i* Wash Buffer (tampon de lavado)

- El tampón de lavado contiene solución salina en tampón fosfato. Conservantes: agentes antimicrobianos.

Advertencias y precauciones.

- Para uso en diagnóstico *in Vitro*.

Leer atentamente las Instrucciones de uso antes de utilizar el producto.

No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados del ensayo, si no se siguen exactamente las Instrucciones indicadas.

Precauciones de seguridad.

- **ATENCIÓN:** El producto requiere el manejo de muestras de origen humano. Manejar todos los materiales de origen humano como potencialmente infecciosos y seguir las instrucciones específicas en la publicación "OSHA Standard on Bloodborne Pathogens". En el caso de materiales que contengan o pudieran contener agentes Infecciosos, se deben seguir las prácticas de seguridad biológica "Biosafety Level 2".[166,167,168]

- El producto contiene azida sódica. En contacto con ácidos libera gases muy tóxicos. Eliminar los residuos del producto y sus recipientes con todas las precauciones posibles.

- Las Fichas de Datos de Seguridad están disponibles en la página web www.abbottdiagnostics.com o a través de la Asistencia Técnica de Abbott y en la UPRL del Hospital.

Precauciones de manejo.

- No utilizar los envases de reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad.

- No mezclar entre sí reactivos del mismo equipo, ni de equipos diferentes.

- Antes de cargar ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit en el sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas, para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el envío.

- Se deben utilizar septos (tapones de protección) para evitar la evaporación y la contaminación de los reactivos y para asegurar su buen estado. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo, si los septos no se manejan según las instrucciones indicadas en las instrucciones de uso.

- Para evitar la contaminación, utilizar guantes limpios cuando se coloque un septo en un frasco de reactivo destapado.

- Una vez que haya colocado un septo en un frasco de reactivo abierto, no invertir el frasco, ya que el reactivo se puede derramar y esto podría afectar a los resultados del análisis.

- Con el tiempo, los residuos líquidos se pueden secar en la superficie del septo.

Generalmente se trata de sales secas, que no afectan al funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento

- ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit se debe almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C, y se puede utilizar inmediatamente después de sacarlo del refrigerador. El equipo de reactivos debe almacenarse en posición vertical.

- ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit se puede almacenar en el ARCHITECT *i* System, durante un máximo de 30 días. Transcurrido este período de tiempo, lo desecharmos.

- Si se almacenan y se manejan según las Instrucciones, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad.

- Los reactivos se pueden almacenar dentro y fuera del ARCHITECT *i* System. Si se retiran los reactivos del Sistema, almacenarlos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con los septos y los tapones para los reactivos) en posición vertical. Si se almacenan los reactivos fuera del sistema, se recomienda guardar en las bandejas y cajas originales para asegurarse de que se almacenan en posición vertical.

Si el frasco de micropartículas no se almacena en posición vertical (con un septo instalado) durante el almacenamiento refrigerado fuera del Sistema, el equipo de reactivos se debe desechar.

Indicaciones de descomposición de los reactivos.

Si el valor de un control se encuentra fuera del intervalo especificado, puede ser indicio de una descomposición de los reactivos o de errores técnicos. Los resultados de estos ensayos no son válidos y se deben repetir. Puede ser necesario calibrar de nuevo.

Funcionamiento del instrumento.

- Antes de realizar el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, se debe instalar el fichero del ensayo en el ARCHITECT *i* System. Esta instalación se efectúa mediante el CD-ROM de ensayos ARCHITECT *i* System.

Recogida y preparación de las muestras para el análisis.

Tipos de muestras aprobadas:

- Suero humano (incluyendo el suero recogido en tubos con separador)
- Plasma recogido con:

- EDTA de potasio.
- Citrato de sodio.
- Heparina de sodio.
- Heparina de litio.
- Oxalato potásico.
- Tubos con separador de plasma.

• El ARCHITECT *i* System no puede comprobar el tipo de muestra utilizado. Por lo tanto, el usuario tiene la responsabilidad de comprobar que se haya utilizado el tipo de muestra adecuado con el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo.

Condiciones de las muestras.

- No utilizamos muestras:
 - Inactivadas con calor.
 - Mezcladas.
 - Intensamente hemolizadas (> 500 mg/dL).
 - Con contaminación microbiana evidente.
 - Procedentes de cadáveres o de otros líquidos corporales que no sean suero ó plasma.

- Antes de centrifugar, comprobar que la formación del coágulo en las muestras de suero se haya completado. Algunas muestras, especialmente las de pacientes bajo terapia con anticoagulantes o terapia trombolítica, pueden presentar tiempos de coagulación prolongados.

- Las muestras procedentes de pacientes bajo terapia con heparina, pueden estar parcialmente coaguladas y presentar fibrina. Se extraerían en su caso las muestras antes de la terapia con heparina.

- Para obtener resultados óptimos, las muestras de suero y plasma no deben presentar fibrina, eritrocitos ni otras partículas en suspensión.

- Manejar con cuidado las muestras de las pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda utilizar pipetas o puntas de pipetas desechables.

- Para obtener resultados óptimos, comprobar que no haya burbujas en las muestras. Si las hubiese, retirarlas con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, utilizar un bastoncillo nuevo para cada muestra.

- Según el fabricante se observan diferencias cualitativas en el rendimiento entre controles experimentales y una cantidad superior a 20 muestras no reactivas o

una cantidad superior a 20 muestras reactivas al analizarlas con concentraciones elevadas añadidas de bilirrubina (20 mg/dL), triglicéridos (3000 mg/dL), proteínas (4 - 12 g/dL), eritrocitos (0,4% v/v), o hemoglobina (500 mg/dL).

Preparación para el análisis.

- Se debe separar el coágulo o los eritrocitos de las muestras mediante centrifugación, tal y como recomienda el fabricante de los tubos de recogida. La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de las muestras.

- Antes del análisis y para asegurar la reproducibilidad de los resultados, las muestras que contengan partículas en suspensión o eritrocitos, las muestras que hayan sido descongeladas, y las muestras que requieran reanálisis, deben transferirse a un tubo de centrífuga y centrifugarse a una FCR (fuerza centrífuga relativa) ≥ 10.000 durante 10 minutos.

- Invertir las muestras descongeladas 10 veces para mezclar su contenido.

Revisar la ausencia de estratificación de la muestra. Si se observan capas de estratificación, seguir invirtiendo hasta que las muestras sean visiblemente homogéneas. Centrifugarlas antes del análisis.

- Las muestras centrifugadas con una capa de lípidos en la superficie, se deben transferir a una copa de muestra o a un tubo secundario. Procurar transferir sólo la muestra clarificada sin el material lipídico.

Almacenamiento.

- Después de su recogida, las muestras de suero o plasma no se deben almacenar más de 3 días a temperatura ambiente (entre 15 °C y 30 °C), ni más de 14 días a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. Si se prevé que el período de almacenamiento es superior a 3 días a temperatura ambiente o a 14 días a una temperatura entre 2 °C y 8 °C, retirar el coágulo, los eritrocitos, o el separador del gel de la muestra, y almacenar el suero o plasma congelado a una temperatura inferior o igual a menos 20 °C.

- El fabricante indica que tras 6 ciclos de congelación y descongelación no se observaron diferencias cualitativas entre los resultados de controles experimentales y 25 muestras no reactivas, ó 25 muestras reactivas con sustancias añadidas. No obstante, se recomienda no someter las muestras a múltiples ciclos de congelación y descongelación.

Transporte.

- Antes de transportar las muestras, se recomienda retirar el coágulo, el separador o los eritrocitos.
- En caso de transporte, las muestras se deben preparar y etiquetar de acuerdo con las Normativas vigentes que rigen el transporte de muestras clínicas y sustancias infecciosas (UN-3373). Las muestras se pueden enviar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con hielo), o a una temperatura igual o inferior a -20 °C (con nieve carbónica). No supere el período de almacenamiento de 14 días para las muestras transportadas entre 2 °C y 8 °C (con hielo).

Procedimiento del ensayo.

- Antes de cargar ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit en el Sistema por primera vez, mezclar el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el envío.
- Invertir el frasco de micropartículas 30 veces.
- Comprobar que las micropartículas del frasco se hayan resuspendido.

Si las micropartículas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiendo el frasco hasta que éstas estén completamente resuspendidas.

- Si las micropartículas no se resuspenden, NO se debe utilizar el REACTIVO.
- Una vez resuspendidas las micropartículas, quitar el tapón al frasco y desecharlo. Utilizando guantes limpios, coger un septo (tapón de protección) de la bolsa y colocarlo cuidadosamente en el frasco.
- Si se considera necesario, realizar una calibración.
- Solicitar los ensayos.
- Cargar ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Reagent Kit en el ARCHITECT*i* System.
- Comprobar que cuenta con todos los reactivos del ensayo necesarios. Asegurarse de que todos los frascos de reactivos tengan septos (tapones de protección).

- El sistema calcula el volumen mínimo de la copa de muestra y lo imprime en el informe de la lista de peticiones. No se pueden analizar más de 10 replicados en la misma copa de muestra. Para evitar al máximo la evaporación, asegurarse de que haya el volumen adecuado en la copa de muestra antes de realizar el ensayo.
- Prioritaria: 150 µL para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, más 100 µL, para cada análisis adicional de la misma copa de muestra.
- ≤ 3 horas en el Sistema: 150 µL para el primer análisis con el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, más 100 µL para cada análisis adicional de la misma copa de muestra.
- > 3 horas en el Sistema: se necesita un volumen de muestra adicional.
- Si utiliza tubos primarios o con alícuotas, usar las marcas de nivel de muestra para asegurarse de que haya suficiente muestra de paciente.
- Preparar el calibrador y los controles.
- Antes del uso, el calibrador 1 y los ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Controls, se deben mezclar invirtiéndolos suavemente.
- Los volúmenes requeridos para el calibrador 1 y los ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Controls se obtienen dispensando **verticalmente** XX gotas del calibrador o X gotas de cada control en las correspondientes copas de muestra.
- Cargar las muestras.
- Pulsar la tecla PROCESAR.

Procedimientos para la dilución de las muestras.

Con el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo no se deben diluir las muestras.

Calibración.

- Para realizar una calibración ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, analizar el calibrador 1 por triplicado. El calibrador 1 se debe cargar con prioridad. Se debe analizar muestra única de cada una de las concentraciones de los ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Controls, para evaluar la calibración del ensayo. Asegurar que los

valores de los controles se encuentran dentro de los intervalos (muestra/punto de corte [S(Standard)/CO(cut-off)]) especificados en las instrucciones de uso de los controles.

- Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analice una muestra, excepto cuando:

- Se utilice un envase de reactivos con distinto número de lote
- Los controles no se encuentren dentro del intervalo especificado.
- Si desea más información sobre cómo realizar una calibración del ensayo, consultar el capítulo 6 del Manual de operaciones del sistema ARCHITECT.

Procedimientos de control de calidad

El requisito de control de calidad recomendado para el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, es el análisis de una muestra única de los controles de diferente concentración cada 24 horas, cada día de su uso.

El procedimiento de control de calidad del Laboratorio del Hospital así lo especifica.

Asegurarse de que los valores de los ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo Controls se encuentran dentro de los intervalos de valores especificados en las Instrucciones de uso de los controles. Si un control se encuentra fuera del intervalo especificado, los resultados del ensayo no son válidos y se debe repetir. La recalibración puede ser necesaria.

Nuestro Laboratorio establece su propio intervalo de control para el control positivo 1 ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo, cuando se utiliza un nuevo lote de reactivos ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo.

Resultados.

El ARCHITECT *i* System calcula el punto de corte (CO) utilizando la señal quimioluminiscente media (URL) de 3 replicados del calibrador 1, y almacena el resultado.

Cálculo:

El ARCHITECT *i* System calcula un resultado para el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo basado en el cociente entre la URL de la muestra y la URL del punto de corte para cada muestra y control.

- Punto de corte (CO) = Valor medio en URL del calibrador 1 x 0,40

- $S/CO = \text{URL de la muestra dividido por URL del punto de corte}$
- La URL del punto de corte se almacena para cada calibración del lote de reactivos.

Interpretación de los resultados:

- Las muestras con valores de punto de corte $< 1,00$ se consideran “*NO reactivas (NR)*”.
- Las muestras con valores de punto de corte $\geq 1,00$ se consideran “*reactivas (R)*”.
- La interpretación de los resultados de muestras con un resultado final reactivo según el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo e indeterminado según un ensayo suplementario no está definida; se debe obtener información adicional analizando otra muestra obtenida transcurridas de 3 a 6 semanas.
- Los resultados del ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo y de ensayos suplementarios se deben interpretar junto con otros datos clínicos del paciente, historia médica y otros resultados de laboratorio.

Alertas

- Para algunos resultados puede aparecer información en la columna de alertas.

Limitaciones del procedimiento

- Si los resultados del ensayo no son coherentes con los datos clínicos, y prácticas de riesgo de la gestante se recomienda realizar otro análisis para confirmar los resultados.
- Las muestras de pacientes que hayan recibido preparados a base de anticuerpos monoclonales de ratón con fines diagnósticos o terapéuticos pueden contener anticuerpos humanos antirratón (HAMA).
Estas muestras pueden dar valores falsamente elevados o disminuidos al analizarlas con los equipos de ensayos que empleen anticuerpos monoclonales de ratón. Los reactivos ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo contienen un componente que reduce el efecto de las muestras reactivas para HAMA.
- Los anticuerpos heterófilos presentes en el suero humano, pueden reaccionar con las inmunoglobulinas del reactivo e interferir en los inmunoanálisis *in vitro*. Aquellas pacientes habitualmente en contacto con animales o con productos con suero de origen animal pueden ser propensas a esta interferencia y dar valores anómalos. Para fines diagnósticos puede ser necesaria información adicional.

Imprecisión

Según el fabricante, el ensayo ARCHITECT HIV Ag/Ab Combo presentó una imprecisión $\leq 14\%$, con muestras que mostraron 3 veces el valor del punto de corte en un estudio en el que se analizaron 3 lotes de calibradores, 3 lotes de controles y 1 panel compuesto por 4 muestras reactivas. El estudio se llevó a cabo en 4 laboratorios externos (Francia, Italia, Suiza y Alemania) con un instrumento cada uno y en un laboratorio interno con 2 instrumentos. Las muestras del panel se analizaron por triplicado con 2 lotes de reactivos en los laboratorios externos y con 3 lotes de reactivos en el laboratorio interno. Cada combinación de instrumentos, muestras del panel y lotes de reactivos se analizó en 4 series analíticas, a excepción de un lote de reactivos del laboratorio interno que se procesó en 6 series analíticas con un instrumento. La “desviación estándar (D.E.)” intraserial e interserial y el porcentaje de coeficiente de variación (CV%) se calcularon a partir de los componentes de varianza, utilizando un modelo de análisis mixto.

3.2.2.5.2 *Western-BLOT VIH. Test confirmatorio.*

El ensayo **HIV BLOT 2.2 de MP Diagnostics (MPD)** es un enzimoimmunoensayo cualitativo para la detección in vitro de anticuerpos frente a los virus de la inmunodeficiencia humana tipo 1 (*VIH-1*) y tipo 2 (*VIH-2*) en suero o plasma humanos. Su uso previsto es como análisis complementario más específico para muestras de suero o plasma humanos que presentan reactividad repetida utilizando procedimientos de detección selectiva como el ensayo de ELISA y tiene valor de “confirmación”.

Los kits **HIV BLOT 2.2 de MP Diagnostics** se diseñaron como análisis complementarios más específicos confirmatorios, para muestras de suero o plasma humanos que presentan reactividad repetida utilizando el ensayo ELISA. Los “antígenos víricos específicos separados del *VIH-1*”, que se adhieren a las tiras mediante procedimientos de electroforesis y electrotransferencia, se combinan en la misma tira con un péptido sintético específico del *VIH-2*, lo cual permite delimitar con mayor exactitud las respuestas de “anticuerpos específicos” frente a ante proteínas víricas específicas.

Cada tira incluye también un control interno de adición de muestras, para reducir al mínimo el riesgo de falsos negativos debidos a errores operativos y para garantizar la adición de las muestras.

Principio químico y biológico del procedimiento.

Mediante transferencia por electroforesis se adhieren a las tiras de nitrocelulosa las proteínas antigénicas ligadas separadas de VIH-1 inactivado y parcialmente purificado, más un péptido sintético específico del VIH-2. Las tiras de nitrocelulosa individuales se incuban con suero o plasma diluido y controles.

Si la muestra de la gestante contiene “anticuerpos específicos” frente al *VIH-1* y *VIH-2*, dichos anticuerpos se unirán a las proteínas del *VIH-1* y al péptido del *VIH-2* de las tiras. A continuación se lavan las tiras para eliminar los productos no ligados. Los anticuerpos que se “unen específicamente a las diferentes proteínas del *VIH*” se pueden visualizar mediante una serie de reacciones con anticuerpos de cabra anti-IgG humana conjugados con fosfatasa alcalina y el sustrato BCIP/NBT. La Sensibilidad de este método permite detectar en el suero o el plasma, cantidades ínfimas de “anticuerpos muy específicos frente al VIH”.

Tiras de Nitrocelulosa.

Contienen lisado de *VIH-1*, péptido específico de la “envoltura del *VIH-2*” y una banda de control para la adición de suero. Manténgalas secas y alejadas de la luz.

Control No Reactivo.

Suero humano normal inactivado, no reactivo para el antígeno de superficie de la hepatitis B (HBsAg) y sin anticuerpos frente al *VIH-1/2* y VHC. Contiene azida sódica y timerosal como conservantes.

Control Reactivo Fuerte.

Suero humano inactivado con una concentración elevada de anticuerpos frente al *VIH-1* y *VIH-2*, no reactivo para el HBsAg y sin anticuerpos frente al VHC. Contiene azida sódica y timerosal como conservante.

Conjugado.

Anticuerpo de cabra anti-IgG humana conjugado con fosfatasa alcalina. Contiene azida sódica como conservante.

Solución.

Solución de 5-bromo-4-cloro-3-indolil fosfato (BCIP) y nitroazul de tetrazolio (NBT).

Se pueden utilizar muestras de suero o plasma con EDTA, heparina o citrato sódico. Antes de guardar las muestras, verifique que se haya separado por centrifugación los coágulos o las células sanguíneas.

Las muestras deben conservarse a 2°C – 8°C si el análisis se va a llevar a cabo en los 7 días posteriores a la extracción, o congelarse a una temperatura de al menos -20 °C si el análisis se va a retrasar más de 7 días. Es preferible utilizar muestras transparentes y no hemolizadas. Las muestras lipémicas, ictéricas o contaminadas (por partículas) deben filtrarse o centrifugarse antes del análisis.

Procedimiento:

1. Se añaden 2 ml de tampón de lavado diluido a cada pocillo.
2. Utilizando unas pinzas, extraer con cuidado del tubo la cantidad de Tiras necesaria y colocar cada tira en su pocillo con el número hacia arriba. Incluir tiras para los controles “reactivo fuerte”, “reactivo débil” y “no reactivo”.
3. Incubar las tiras durante 1 ó 2 minutos a temperatura ambiente (25 +/- 3°C) en un plato basculante (velocidad 12-16 ciclospor minuto). Extraer el tampón por aspiración. (Nota: No permita que las tiras sequen falta puede dar lugar a marcas acuosas en las tiras desarrolladas para algunos especímenes.)
4. Añadir 2 ml de tampón Blotting de trabajo a cada pocillo.
5. Añadir 20 microlitros de “suero de la gestante” o de controles, según corresponda, en cada uno de los pocillos. Hay que tomar precauciones para evitar añadir las muestras directamente en las tiras.
6. Cubrir la bandeja con la tapa suministrada e incubar durante 1 hora a temperatura ambiente (25 +/-3 °C) en la plataforma basculante.
7. Destapar la bandeja con cuidado para evitar salpicaduras y el mezclado de las muestras. Inclinar la bandeja para aspirar la mezcla de los pocillos. Cambiar las puntas del aspirador entre muestras para evitar la contaminación cruzada.
8. Lavar 3 veces cada tira con 2 ml de Tampon de Lavado, dejando que se empapen durante 5 minutos en la plataforma basculante entre los lavados.
9. Añadir 2 ml de Solucion del Conjugado de trabajo a cada pocillo.
10. Cubrir la bandeja e incube durante 1 hora a temperatura ambiente (25 +/- 3 °C) en la plataforma basculante.
11. Aspirar el Conjugado de los pocillos. Lave como en el paso 8.
12. Añadir 2 ml de Solucion sustrato a cada pocillo.
13. Cubrir la bandeja e incube durante 15 minutos en la plataforma basculante.

14. Aspirar el Sustrato y aclarar las tiras un mínimo de tres veces con agua de calidad reactivo para detener la reacción (el lavado insuficiente durante esta etapa puede provocar la aparición de un fondo oscuro).
15. Utilizando unas pinzas, colocar las tiras con suavidad sobre paños de papel. Cubrir las tiras con los paños de papel y secarlas. Otra posibilidad es dejar que las tiras se sequen en los pocillos de la bandeja.
16. Colocar las tiras en una hoja de trabajo (papel blanco no absorbente). No aplicar cinta adhesiva sobre las bandas reveladas. Observar las bandas (véase Interpretación de los resultados) y calificar los resultados. Para el almacenamiento, mantener las tiras en la oscuridad.

Control de Calidad

Se recomienda que se analicen en todos los ensayos los “ controles no reactivo”, “reactivo fuerte” y “ reactivo débil”, independientemente del número de muestras que se analicen.

Para que los resultados obtenidos en cualquier ensayo se consideren válidos, se deben cumplir las siguientes condiciones:

1. Control No Reactivo

No deben observarse bandas específicas del *VIH-1* ni del *VIH-2* en las tiras de control no reactivo. La banda del control de suero debe ser visible.

2. Control Reactivo Fuerte

Todas las “**bandas**” del peso molecular que corresponda deben ser evidentes. Las bandas son p17, p24, p31, gp41, p51, p55, p66, gp120/gp160. Pueden ser visibles también otras bandas asociadas a los antígenos centrales [del core] (p39,p42). Hay que tener cuidado de no interpretarlas erróneamente como gp41. Los antígenos de la envoltura, gp41 y gp120/gp160, aparecen como las bandas difusas típicas de las glucoproteínas. La banda del control de suero debe ser visible. La banda específica del *VIH-2* también debe ser visible.

3. Control Reactivo Débil

El control reactivo débil proporciona una medida de la sensibilidad del kit. Deben aparecer bandas débiles en p24 y/o gp41 y en gp120/gp160. Puede haber o no algunas bandas débiles adicionales. La banda del control de suero debe ser visible.

Interpretación de los resultados

La “presencia” o “ausencia” de anticuerpos frente al VIH-1 en la muestra se determina comparando cada tira de nitrocelulosa con las tiras de control del ensayo con los controles No Reactivo, Reactivo Fuerte y Reactivo Fuerte. Hay que tener en cuenta que el extremo numerado de las tiras debe situarse hacia el fondo; es decir, las bandas gp120/gp160 son las más alejadas del extremo numerado.

Algunos de los antígenos derivan de la misma proteína precursora y pueden tener epítomos superpuestos. Este hecho debe tenerse en cuenta al interpretar el patrón. Por ejemplo:

1. Resulta “improbable detectar gp41 si no hay gp160” porque la gp160 es la forma polimérica de la gp41, y en el ensayo HIV BLOT 2.2 de MPD la concentración de gp160 es mayor que la de gp41. La gp41 aparece como una banda difusa.

Las bandas nítidas y discretas en la región de la gp41 no deben interpretarse como banda gp41. Muchas muestras normales y no infectadas por el VIH resultan reactivas frente a este antígeno no asociado al VIH, que probablemente tenga su origen en la línea celular humana utilizada para cultivar el virus.

2. La banda p55 se suele detectar cuando existe una reactividad fuerte para el p24 y/o el p17. Las bandas que aparecen como p42 y p39 son fragmentos GAG y no deben interpretarse como gp41 (ENV).

3. Las bandas POL p66, p51 y p31 suelen detectarse de forma simultánea. Sin embargo, la sensibilidad del p66 y del p31 es mayor que la del p51.

4. La reactividad cruzada con el VIH-2 es variable, pero resulta típica la reactividad con antígenos GAG, POL o ambos. Sin embargo, en algunos casos puede haber reactividad cruzada con la banda gp160, pero raramente con la gp41.

5. Existe también una banda de elevado peso molecular (aproximadamente 160 kD) que se cree que es una proteína precursora GAG-POL. Esta banda se observa en ciertos sueros con títulos elevados de VIH-2 o sueros dudosos (reactivos sólo para GAG), pero el patrón de banda es el de una banda nítida y discreta diferente de la banda difusa de la gp160 de ENV.

El proceso de interpretación consta de los siguientes elementos:

1. Verificación de que la “banda del control” de suero es visible. Si el control es negativo, los resultados deben considerarse no válidos, ya que ello indica un error técnico, como por ejemplo la falta de adición de muestra, de conjugado o de sustrato.

2. “Identificación del peso molecular de cada banda de la tira” de análisis utilizando como guía, las tiras de control REACTIVO FUERTE, de control REACTIVO DÉBIL o de ambos.
3. La interpretación posterior de la tira de análisis se basa en la detección de patrones específicos en las “bandas según las Recomendaciones de las autoridades pertinentes Organización Mundial de la Salud”.

Limitaciones del método (Solo detectamos seropositividad, pero no estadio de ciclo evolutivo)

La detección de “anticuerpos frente al VIH “ no implica que se haya establecido un diagnóstico de síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Una TRANSFERENCIA NEGATIVA no constituye una garantía de la ausencia del agente causal del SIDA. Aunque una transferencia POSITIVA para anticuerpos frente al *VIH-1* “indica infección por el virus”, el diagnóstico clínico de estadio SIDA sólo se puede establecer si la persona cumple los criterios definitorios de SIDA establecidos por los Centers for Disease Control de EE. UU., la Organización Mundial de la Salud u otra autoridad competente.

Es un hecho conocido que las personas que han experimentado una “seroconversión reciente” pueden presentar un patrón incompleto, pero se produce un aumento de la reactividad (tanto en el número como en la intensidad de las bandas) si se hace un seguimiento durante un periodo de dos a seis meses.

Las transferencias DUDOSAS no deben utilizarse como base para el diagnóstico de infección por *VIH-1*. Se recomienda repetir todas las transferencias con resultado DUDOSO utilizando la muestra original y muestras seriadas.

La interpretación de los resultados debe basarse en las transferencias posteriores y en las evaluaciones clínicas de Obstetricia.

Dada su elevada especificidad, la AUSENCIA DE REACTIVIDAD de las muestras con el péptido específico de la envoltura del *VIH-2* en una transferencia vírica dudosa no excluye la posibilidad de infección con otras cepas del *VIH-2*.

Las muestras señaladas como infección por *VIH-2* deben volverse a analizar con un kit de Western blot para *VIH-2*. En nuestro Hospital, para gestantes, solo se confirmó W-B para *VIH-1* en único caso de muestra en toda la serie temporal. No tuvimos otra necesidad.

3.2.2.6 VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC).

El ensayo ARCHITECT Anti-HCV es un inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA) para la detección cualitativa de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (anti-VHC) en suero y plasma humanos.

Resumen y explicación del ensayo

ARCHITECT Anti-HCV se utiliza para la detección de anticuerpos frente al virus de la hepatitis C (VHC). Los inmunoanálisis quimioluminiscentes son una variación del principio de los enzimoimmunoanálisis (EIA). A principios de los años 70 se describieron por primera vez los enzimoimmunoanálisis de fase sólida, los cuales usan antígenos y/o anticuerpos recubiertos en una superficie, para unirse a los análogos complementarios. El analito unido se detecta a través de una serie de reacciones antígeno-anticuerpo. Los enzimoimmunoanálisis se utilizan para identificar antígenos y anticuerpos relacionados con la infección hepática de origen vírico. Los conjugados unidos marcados con acridinio se utilizan en la reacción final del ARCHITECT Anti-HCV para generar una señal quimioluminiscente.

La presencia de “anticuerpos frente al VHC” puede indicar si una mujer gestante está infectada por el VHC, si es portadora del VHC infeccioso, y/o si puede transmitir la infección por VHC. Aunque la mayoría de las gestantes infectadas permanecen asintomáticas, la infección por VHC puede producir complicaciones tales como hepatitis crónica, cirrosis, y/o riesgo elevado de carcinoma hepatocelular.

La introducción del cribado de anticuerpos frente al VHC mediante enzimoimmunoanálisis en las muestras de donantes de sangre, ha supuesto una disminución notable en el riesgo de hepatitis transmitidas por transfusión.

El ensayo ARCHITECT Anti-HCV ha sido diseñado para “detectar anticuerpos frente a proteínas estructurales y no estructurales del genoma del VHC”. La relación entre las proteínas recombinantes del VHC usadas en el ensayo ARCHITECT Anti-HCV y las proteínas estructurales y no estructurales codificadas por el genoma del VHC.

- *HCr43*: la proteína *HCr43* se expresa en *Escherichia coli* (*E. coli*) y está compuesta por 2 regiones codificantes no contiguas de la secuencia del genoma del VHC. La primera región, representa los aminoácidos nº 1.192 a 1.457 (33c) de la secuencia del VHC. La segunda de las 2 regiones, representa los aminoácidos nº 1 a 150 (core) de la secuencia del VHC. Debido a la similitud en la organización genómica de los *Flavivirus*, se ha sugerido que la primera secuencia pertenece a la región codificante “NS3” y que la segunda pertenece a la región codificante “core” del VHC.

- *c100-3*: el antígeno *c100-3* es una proteína recombinante del *VHC* expresada en *Saccharomyces cerevisiae* (levadura). La organización genómica de los Flavivirus indica que la secuencia clonada está contenida en las regiones hipotéticas no estructurales (“*NS3*” y “*NS4*”) del *VHC*. La proteína *c100-3* es una proteína de fusión quimérica compuesta por 154 aminoácidos de la superóxido dismutasa humana (hSOD), 5 aminoácidos de enlace, los aminoácidos nº 1.569 a 1.931 de la poliproteína del *VHC* y 5 aminoácidos de enlace adicionales en el grupo carboxilo terminal.

Los antígenos *HCr43* y *c100-3* del virus de la hepatitis C se elaboran bajo licencia norteamericana de la compañía Chiron Corporation en virtud de un acuerdo de los fabricantes compartida. El ensayo ARCHITECT Anti-HCV se fabrica en virtud de un contrato de acuerdo entre Ortho Diagnostic Systems y Chiron Corporation.

Principios biológicos del procedimiento

ARCHITECT Anti-HCV es un inmunoanálisis de dos pasos que utiliza la tecnología de inmunoanálisis quimioluminiscente de micropartículas (CMIA), para la “*detección cualitativa de anti-VHC*” en suero y plasma humanos.

En el primer paso, se combinan la muestra y las micropartículas paramagnéticas recubiertas de “antígeno recombinante del *VHC*” y el diluyente del ensayo.

Los “anticuerpos anti-VHC presentes en la muestra” se unen a las micropartículas recubiertas de VHC. Después del lavado, y ya en el “*segundo paso*”, se añade el conjugado de anticuerpo antihumano marcado con acridinio. Tras otro ciclo de lavado, se añaden las soluciones preactivadora y activadora a la mezcla de reacción, produciéndose una reacción quimioluminiscente, que se mide en unidades relativas de luz (URL). Existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de anti-VHC presente en la muestra, y las URL detectadas por el sistema óptico del ARCHITECT *i* System.

La presencia o ausencia de anticuerpos anti-VHC en la muestra de la gestante se determina comparando la señal quimioluminiscente de la reacción, con la señal del punto de corte determinada en una calibración del ensayo ARCHITECT Anti-HCV previa. Si la señal quimioluminiscente en la muestra es “*igual o superior*” a la señal del punto de corte, la muestra se considera “reactiva” para anti-VHC.

Reactivos

ARCHITECT Anti-HCV Reagent Kit (6C37) [equipo de reactivos]

- 1 ó 4 frasco(s) (6,6 ml en el frasco de 100 ensayos y 27,0 ml en el frasco de 500 ensayos) de micropartículas recubiertas de antígeno del VHC (*E. coli*, de levadura, recombinante) en tampón MES. Concentración mínima: 0,14% de partículas sólidas. Conservantes: agentes antimicrobianos.

- 1 ó 4 frascos (5,9 ml en el frasco de 100 test y 26,3 ml en el frasco de 500 test) de conjugado de anticuerpo (de ratón) anti-IgG y anti-IgM marcado con acridinio en tampón MES. Concentración mínima: 8 ng/ml de IgG y 0,8 ng/ml de IgM.

Conservantes: agentes antimicrobianos.

- 1 ó 4 frasco(s) (10,0 ml en el frasco de 100 ensayos/ 50,9 ml en el frasco de 500 ensayos) de diluyente de ensayo Anti-HCV que contiene tampón TRIS con estabilizantes proteínicos.

Conservantes: agentes antimicrobianos.

Otros reactivos

Solución preactivadora ARCHITECT *i* :

- Solución preactivadora que contiene 1,32 % (p/v) de peróxido de hidrógeno.

Solución activadora ARCHITECT *i* :

- Solución activadora que contiene hidróxido de sodio 0,35 N. Tampón de lavado ARCHITECT *i*.

- El tampón de lavado contiene solución salina en tampón fosfato. Conservante: agente antimicrobiano.

Advertencias y precauciones

- Precauciones de seguridad
- ATENCIÓN: Este producto requiere el manejo de muestras humanas. Se manejan todos los materiales de origen humano como potencialmente infecciosos y seguimos las prácticas de seguridad biológica apropiadas.
- Precauciones de manipulación
 - No utilizamos los equipos de reactivos una vez transcurrida la fecha de caducidad.
 - No mezclamos entre sí frascos de reactivos.
 - Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Anti-HCV en el Sistema por primera vez, mezclamos el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado durante el envío.

Procedimiento.

- Se deben utilizar septos (tapones de protección) para evitar la evaporación y la contaminación de los reactivos y para asegurar su buen estado. No se puede garantizar la fiabilidad de los resultados de este ensayo, si los septos no se manejan según las Instrucciones indicadas en las instrucciones de uso.

- Para evitar la contaminación, utilizamos guantes limpios cuando se coloca un septo en un frasco de reactivo destapado.

- Utilizar guantes que no hayan estado en contacto con plasma o suero humanos cuando maneje frascos de conjugado, ya que la IgG/IgM humana puede neutralizar el conjugado.

- Una vez que haya colocado un septo en un frasco de reactivo abierto, no invertir el frasco, ya que el reactivo se puede derramar y esto podría afectar a los resultados del análisis.

- Con el tiempo, los residuos líquidos se pueden secar en la superficie del septo (tapón de protección). Generalmente se trata de sales secas, que no afectan al funcionamiento del ensayo.

Almacenamiento.

- El equipo de reactivos ARCHITECT Anti-HCV, los calibradores y los Controles se deben almacenar a una temperatura entre 2 °C y 8 °C en posición vertical y se pueden utilizar inmediatamente después de sacarlos del refrigerador.

- Si se almacenan y se manejan según las Instrucciones, los reactivos se mantienen estables hasta la fecha de caducidad.

- El equipo de reactivos ARCHITECT Anti-HCV se puede almacenar en el ARCHITECT *i* System durante un máximo de 30 días. Transcurrido este período de tiempo, se desecha

- Los reactivos se pueden almacenar dentro y fuera del ARCHITECT *i* System. Si se retiran los reactivos del Sistema, almacenarlos a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con los septos y los tapones para los reactivos) en posición vertical. Si se almacenan los reactivos fuera del sistema, se recomienda que se guarden en sus bandejas y cajas originales para asegurarse de que se almacenan en posición vertical.

Si el frasco de micropartículas no se almacena en posición vertical (con un septo) durante el almacenamiento refrigerado fuera del Sistema, el equipo de reactivos se debe desechar. Después de retirar los reactivos del Sistema, debe realizarse una lectura para actualizar el tiempo de estabilidad de los reactivos en el sistema.

Indicaciones de descomposición de los reactivos.

Si el valor de un control se encuentra fuera del intervalo especificado, puede ser indicio de una descomposición de los reactivos o de errores técnicos. Los resultados de estos ensayos no son válidos y se deben repetir. Puede ser necesario calibrar de nuevo.

Funcionamiento del instrumento:

- Antes de realizar el ensayo ARCHITECT Anti-HCV, se debe instalar el fichero del ensayo en el ARCHITECT *i* System.

Recogida y preparación de las muestras para el análisis.

- Con el ensayo ARCHITECT Anti-HCV se pueden utilizar muestras de suero (incluido el suero recogido en tubos con separador de suero) o plasma (recogido con EDTA de potasio, heparina de litio, heparina de sodio, citrato de sodio, ACD, CPDA-1, CP2D, CPD u oxalato de potasio) humanos. No se ha validado el uso de otros anticoagulantes con el ensayo ARCHITECT Anti-HCV. Seguir las Instrucciones del fabricante de los tubos de recogida de suero o plasma para su procesamiento.

- El ARCHITECT *i* System no puede comprobar el tipo de muestra utilizado. Por lo tanto, el usuario tiene la responsabilidad de comprobar que se haya utilizado el tipo de muestra adecuado con el ensayo

- Manejar con cuidado las muestras de las pacientes para evitar la contaminación cruzada. Se recomienda el uso de pipetas o puntas de pipetas desechables.

- Este ensayo ha sido diseñado y validado para el uso con suero o plasma humano obtenido de donantes de sangre y pacientes. No se utiliza mezclas de muestras, ya que no se ha validado la precisión de los resultados con este tipo de muestras.

- No utilizar muestras inactivadas con calor.

- No utilizar muestras intensamente hemolizadas.

- Para obtener resultados óptimos, comprobar que no haya burbujas en las muestras. Si las hubiese, se retiran con un bastoncillo antes del análisis. Para evitar la contaminación cruzada, se utiliza un bastoncillo nuevo para cada muestra.

- Para obtener resultados óptimos, las muestras de suero y plasma no deben presentar fibrina, eritrocitos, ni otras partículas en suspensión. Estas muestras pueden proporcionar resultados inconsistentes y por tanto se deben transferir a un tubo de centrífuga y centrifugar a una FCR (fuerza centrífuga relativa) mínima de 10 000 durante 10 minutos.

- Antes de centrifugar, comprobar que la formación del coágulo en las muestras de suero se ha completado. Algunas muestras, especialmente las de las pacientes sometidas a terapia con anticoagulantes o a terapia trombolítica, pueden presentar tiempos de coagulación prolongados. Si la muestra se centrifuga antes de que se complete la formación del coágulo, la presencia de fibrina puede causar resultados erróneos.

- Las muestras de pacientes tratados con heparina pueden coagularse parcialmente y producir resultados erróneos debido a la presencia de fibrina. Para prevenirlo, se debe recoger la muestra, antes de la terapia con heparina.

- La separación por gravedad no es suficiente para la preparación de las muestras. Se debe separar el coágulo o los eritrocitos de las muestras mediante centrifugación, tal y como recomienda el fabricante de los tubos de recogida.

- Las muestras se pueden almacenar con o sin el coágulo o los eritrocitos durante un máximo de 7 días a una temperatura entre 2 °C y 8 °C.

- Si el análisis se retrasa más de 7 días, retirar el coágulo, el separador de suero o los eritrocitos del suero o plasma, y almacenar la muestra congelada a una temperatura igual o inferior a -20 °C, aunque no ha sido el caso de esta Tesis.

- Las muestras congeladas se deben mezclar BIEN después de descongelarlas, en un agitador de tubos tipo Vortex a BAJA velocidad.

- Las muestras centrifugadas con una capa de lípidos en la superficie se deben transferir a una copa de muestra o a un tubo secundario. Procure transferir sólo la muestra clarificada, sin el material lipídico.

- Aunque el fabricante tras 6 ciclos de congelación y descongelación no ha observado diferencias cualitativas entre controles experimentales y 25 muestras no reactivas o 25 muestras reactivas con sustancias añadidas, no se recomienda someter las muestras a múltiples ciclos de congelación y descongelación.

- En caso de transporte, las muestras se deben preparar y etiquetar de acuerdo con las Normativas vigentes que rigen el transporte de muestras y sustancias

infecciosas. Las muestras se pueden enviar bien a temperatura ambiente, a una temperatura entre 2 °C y 8 °C (con hielo), o a una temperatura igual o inferior a -20 °C (con nieve carbónica). Antes del envío, se recomienda retirar el coágulo, el separador de suero o los eritrocitos de las muestras.

- Según el fabricante, no se observaron diferencias cualitativas en los resultados entre controles experimentales y 23 muestras no reactivas o 23 muestras reactivas, al analizarlos con concentraciones elevadas, añadidas de bilirrubina (≤ 20 mg/dL), hemoglobina (≤ 500 mg/dL), triglicéridos (≤ 3.000 mg/dL) o proteínas (≤ 12 g/dL).

- El fabricante observó diferencias cualitativas en el rendimiento de controles experimentales y las 25 muestras no reactivas o las 25 muestras reactivas al analizarlas con eritrocitos a una concentración de $\leq 0,4\%$ v/v.

- Antes del uso, los calibradores y los controles ARCHITECT Anti-HCV se mezclan invirtiéndolos suavemente.

Procedimiento del ensayo

- Antes de cargar el equipo de reactivos ARCHITECT Anti-HCV en el Sistema por primera vez, se mezcla el frasco de micropartículas para resuspender las micropartículas que se hayan asentado..

- Se invierte el frasco de micropartículas 30 veces.

- Se comprueba visualmente que las micropartículas del frasco se han resuspendido. Si las micropartículas continúan adheridas al frasco, seguir invirtiendo el frasco hasta que éstas estén completamente resuspendidas.

- Una vez que las micropartículas se hayan resuspendido, se retira y desecha el tapón. Utilizando guantes nuevos, se coge un septo (tapón de protección) del envase. Se coloca cuidadosamente el septo en el frasco.

- Si las micropartículas no se resuspenden, NO utilizamos el reactivo.

- Si se considera necesario, se realiza una calibración.

- Se solicita los ensayos en el Sistema.

- Se carga el equipo de reactivos ARCHITECT Anti-HCV en el ARCHITECT *i* System. Comprobar que se encuentren todos los reactivos necesarios. Asegurarse de que todos los frascos de reactivos tengan septos (tapones de protección).

- El volumen de muestra mínimo necesario para realizar un único ensayo anti-VHC con el ARCHITECT *i* System, es de 150 μL para el primer análisis de anti-VHC, más 20 μL para cada análisis adicional de anti-VHC de la misma copa de muestra. No se pueden analizar más de 10 replicados de la misma copa de muestra. Antes de iniciar el ensayo, comprobar que haya el volumen de muestra necesario en la copa de muestra. El Sistema calcula el volumen mínimo de muestra, el cual aparece en la pantalla de peticiones de muestras de pacientes, calibradores y controles y en el informe de la lista de peticiones.

- En el caso de que una muestra se haya cargado con prioridad, con 3 ó menos replicados solicitados, se necesita un volumen en la copa de muestra menor que el que se visualiza en la pantalla de peticiones. En este caso, el volumen mínimo en la copa de muestra es de 70 μL para el primer análisis de anti-VHC, más 20 μL para cada replicado adicional.

- Para evitar los efectos de la evaporación, todas las muestras (de pacientes, calibradores y controles) se deben analizar antes de que transcurran 3 horas tras su almacenamiento en el ARCHITECT *i* System. Si la muestra permanece en el Sistema durante más de 3 horas, deben sustituirse por una muestra nueva.

- Si se utilizan tubos primarios o con alícuotas, usar las marcas de nivel de muestra para asegurarse de que haya suficiente muestra de paciente.

Antes del uso:

- Los calibradores y los controles ARCHITECT Anti-HCV se deben mezclar invirtiéndolos suavemente. Los volúmenes requeridos para los calibradores y los controles ARCHITECT Anti-HCV se obtienen dispensando verticalmente en las copas de muestra correspondientes V gotas del calibrador ó VI gotas de cada control.

- Se cargan las muestras en la gradilla y se colocan en la cinta transportadora para el procesamiento de muestras.

- Se pulsa la tecla PROCESAR. El ARCHITECT *i* System realiza las funciones siguientes:

- Transporta la gradilla de muestras a la cola de procesamiento de muestras.
- Carga una cubeta de reacción (CR) en la vía de procesamiento.
- Aspira y transfiere la muestra a la CR.
- Adelanta la CR una posición y transfiere las micropartículas y el diluyente de ensayo a la CR.
- Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
- Añade conjugado a la CR.

- Mezcla, incuba y lava la mezcla de reacción.
- Añade las soluciones preactivadora y activadora.
- Mide la emisión quimioluminiscente, para detectar la presencia de anti-VHC en la muestra.
- Aspira el contenido de la CR y lo transporta al recipiente de desechos líquidos y deposita la CR en el recipiente de desechos sólidos.
- Calcula el resultado.

Procedimientos para la dilución de las muestras

Las muestras no se pueden diluir, para el ensayo ARCHITECT Anti-HCV.

Calibración:

- Para realizar una calibración del ensayo ARCHITECT Anti-HCV, se analiza el calibrador 1 por triplicado. Se debe analizar una única muestra de ambos controles anti-VHC para evaluar la calibración del ensayo.

Asegurarse de que los valores de los controles se encuentren dentro de los intervalos de concentración especificados en las Instrucciones de uso de los controles. El calibrador se debe cargar con prioridad.

- Una vez que la calibración del ensayo ARCHITECT Anti-HCV haya sido aceptada y almacenada, no hace falta volver a calibrar cada vez que se analicen las muestras, excepto cuando:
 - Se utilice un equipo de reactivos con distinto número de lote.
 - Los controles no se encuentren dentro del intervalo de valores especificado.

Procedimientos de control de calidad.

Se recomienda analizar los controles positivo y negativo ARCHITECT Anti-HCV para comprobar la calibración. El requisito de control recomendado para el ensayo ARCHITECT Anti-HCV es el análisis de muestra única de ambos controles ARCHITECT Anti-HCV cada 24 horas, cada día de su uso. Asegurarse de que los valores de los controles se encuentren dentro de los intervalos de concentración especificados en las Instrucciones de uso de los controles.

Resultados.

El ARCHITECT *i* System calcula la señal de quimioluminiscencia media del calibrador 1 Anti-HCV, a partir de tres replicados del calibrador 1, y almacena el resultado.

Cálculo :

El ensayo ARCHITECT Anti-HCV calcula un resultado, basándose en la tasa muestra/punto de corte (S/CO).

- Cálculo del punto de corte:

Valor medio de URL del calibrador $1 \times 0,074 = \text{URL del "punto de corte"}$

- $S/CO = \text{URL de la muestra dividido por URL del punto de corte.}$

Interpretación de los resultados:

- El ensayo ARCHITECT Anti-HCV considera las muestras con “valores $S/CO < 1,00$: no reactivas” y no es necesario volverlas a analizar.

- El ensayo ARCHITECT Anti-HCV considera las muestras con “valores $S/CO \geq 1,00$: reactivas”.

- Las muestras inicialmente reactivas se deben analizar de “nuevo por duplicado”. Si el resultado de ambos ensayos es “no reactivo”, la muestra se debe considerar no reactiva para anti-VHC. Si cualquiera de los dos resultados es “reactivo”, la muestra debe considerarse repetidamente reactiva para anti-VHC según los criterios del ensayo

Limitaciones del procedimiento

- Se pueden obtener resultados falsos positivos con cualquier equipo de ensayo. El número de muestras reactivas falsas depende de la especificidad del equipo de ensayo, del estado de las muestras y de la prevalencia de anticuerpos anti-VHC en la población estudiada.

- Si los resultados del ensayo ARCHITECT HCV no se corresponden con los datos clínicos, se recomienda realizar otro análisis para confirmar los resultados.

- Para fines diagnósticos, los resultados del análisis se deben utilizar junto con el historial clínico del paciente y otros marcadores de hepatitis para el diagnóstico de infección aguda o crónica.

- Antes de realizar el ensayo se deben centrifugar aquellas muestras que contengan partículas en suspensión o eritrocitos.

- No utilizar muestras inactivadas con calor.

- Las muestras de las pacientes tratadas con heparina pueden coagularse parcialmente y producir resultados erróneos debido a la presencia de fibrina. Para prevenirlo, se debe recoger la muestra antes de la terapia con heparina.

MÉTODOS MOLECULARES.

Hay varios métodos moleculares para detectar el RNA viral y cada Laboratorio los elegirá en función de sus necesidades.

- A- Las “**pruebas cualitativas se usan para confirmar**” una infección “activa” por VHC en algunos pacientes seropositivos ó con resultados dudosos ó para diagnosticar la infección en los seronegativos con sospecha clínica manifiesta (infección muy precoz) y en los pacientes inmunodeprimidos (menos de un 5%).
- B- Las “**pruebas cuantitativas**” de medición de la carga vírica y la detección de genotipos “**se usan para evaluar la enfermedad por el VHC y para establecer un pronóstico sobre la eficacia del tratamiento y para monitorizar la respuesta a éste**”.

La detección y cuantificación, generalmente, se realiza en muestras de suero o plasma, siendo muy importante una estricta y correcta manipulación de las muestras para obtener una buena rentabilidad. Deberían ser separadas de los hematíes en un plazo no superior a las cuatro horas tras la extracción de la sangre, para prevenir la degradación del RNA por las RNAasas endógenas, recomendándose su rápida refrigeración y almacenamiento a -70°C , para asegurar la óptima estabilidad del RNA.

Deben evitarse las sucesivas congelaciones y descongelaciones. El proceso de manipulación pre-analítica (separación de sueros y alícuotas) es proclive a producir contaminaciones cruzadas, entre muestras positivas y negativas, por lo que deben extremarse las precauciones, sobre todo si se utilizan técnicas cualitativas de una gran sensibilidad.

A- Pruebas cualitativas.

Las pruebas cualitativas informan de la presencia o ausencia de RNA del VHC. Los primeros ensayos cualitativos se basaban en la reacción en cadena de la polimerasa previa transcripción del RNA a cDNA (RT-PCR), de los que el Sistema más habitual es el comercial Roche Amplicor® 2.0.

Actualmente, existen “Sistemas comerciales” que facilitan su uso en los laboratorios. La Sensibilidad (límite de detección) de la RT-PCR cualitativa es muy alta y entre 50 a 700 copias de RNA viral/ml dependiendo de los sistemas. La Especificidad

es asimismo muy elevada. Inicialmente se utilizaron ensayos puestos a punto por cada laboratorio, pero en la mayoría de los Centros se usan actualmente métodos comerciales con diferentes desarrollos del proceso de automatización.

El más habitual, Roche Cobas Amplicor®, permite detectar hasta 50 UI/mL (100 copias /mL, aproximadamente) y una alta concordancia con el método estándar.

B- Pruebas cuantitativas.

Para determinar la “carga vírica del VHC” se han desarrollado diferentes ensayos cuantitativos, basados en distintas tecnologías, que difieren en variabilidad, intervalo lineal, precisión y reproducibilidad.

El utilizado en esta tesis es la RT-PCR cuantitativa de Roche.

Debido al auge que están alcanzando estos métodos moleculares, se hacía necesaria una normalización adecuada para poder intercambiar los resultados de las distintas técnicas. Valorando esto, la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomendó el desarrollo de un estándar, lo que se logró con el denominado WHO 96/7909, gracias a la ayuda de la Sociedad de Tecnologías de Amplificación (SoGAT).

El ensayo comercial Roche Amplicor® Monitor es el utilizado y dispone de un sistema semiautomatizado (Cobas Amplicor®) que puede complementarse con un procedimiento de extracción del RNA automático (Ampliprep®).

El límite de detección es de 10^3 copias/ml, aproximadamente 10 veces menos que su homólogo cualitativo. En la nueva versión de este ensayo, los títulos de RNA se informan en UI/ml, mediante la incorporación del estándar de la OMS. Al parecer, este ensayo cuantifica de forma similar todos los genotipos conocidos del VHC.

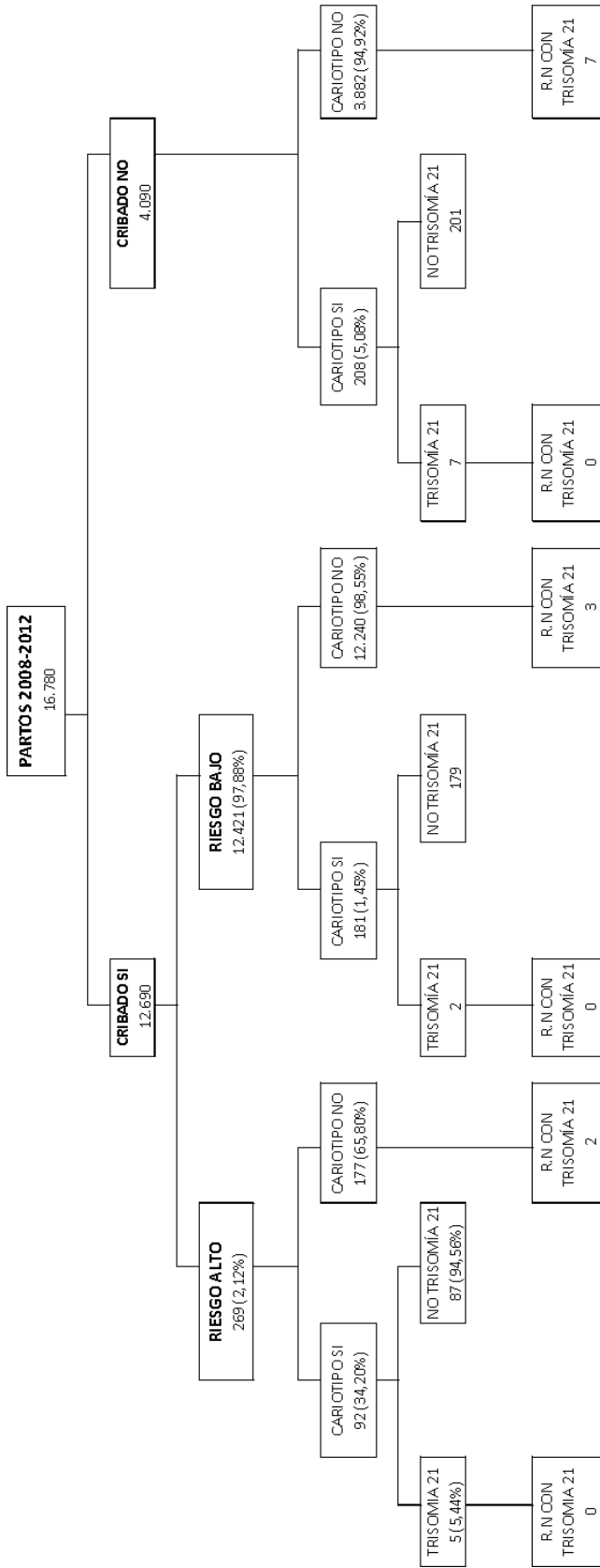
3.2.3 MÉTODO ESTADÍSTICO.

Para el estudio de las tendencias de las prevalencias de analíticas positivas serológicamente entre los años 2008-2012, se ha hecho uso de las técnicas de regresión logística, considerando como variable-dependiente los respectivos porcentajes de positividad (Anticuerpos específicos o antígenos concretos según cada etiología analizada), y como variable independiente o predictora el año correspondiente.

Los cálculos estadísticos han estado basados en el uso del software estadístico SPSS-V.20.0

4. RESULTADOS.

4.1. CRIBADO COMBINADO DE TRISOMÍA 21



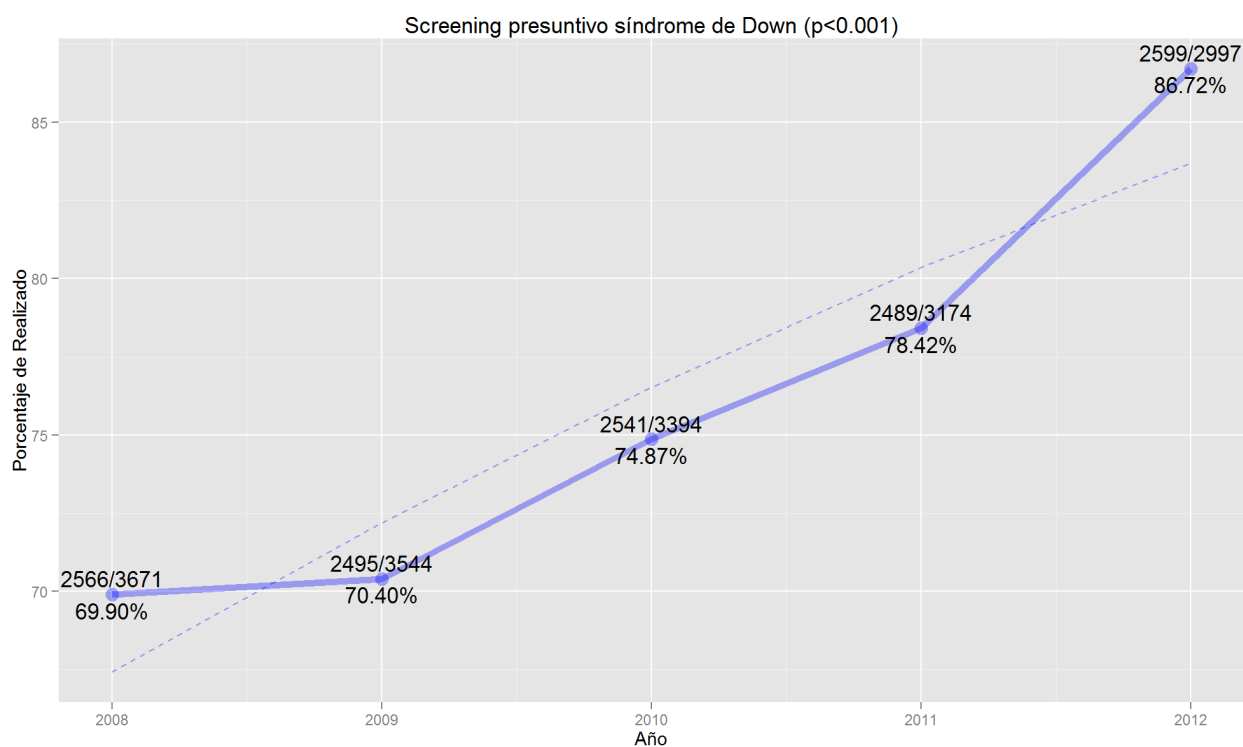
4.1.1 GLOBAL DEL PERIODO DE ESTUDIO (2008-2012)

Realizamos el “Cribado Combinado de 1º trimestre” de cromosomopatías durante los años 2008 a 2012.

En el periodo de estudio (2008-2012), tenemos en nuestro Hospital 16.780 partos: 3.671 partos en 2008, 3.544 partos en 2009, 3.394 partos en 2010, 3.174 en 2011 y 2.997 en 2012.

En las gestantes asistidas en nuestro Hospital, en la serie temporal, se ha producido un aumento en el porcentaje de mujeres que se realizaron el cribado combinado de cromosomopatías respecto al total de partos asistidos en nuestro Hospital (Gráfica 1), con un valor mínimo del 69,90 % en el año 2008 y un valor máximo de 86,72 % en el año 2012. Este aumento tiene significación estadística ($p < 0.001$). Queda manifiesta la mayor adherencia a la técnica de cribado de las gestantes en el transcurrir de nuestra serie temporal.

Gráfica 1. Número “Cribado Combinado 1º trimestre”-año/partos-año. 2008-2012.



Respecto al resultado final del cribado, durante este período se realiza el cribado a 12.690 mujeres entre la semana 10+0d y 13+6d de gestación. De ellas 269 (2,12 %) tienen un Índice Riesgo Alto para síndrome de Down y 12.421 (97,88 %) presentan un Índice de Riesgo Bajo en todo el período (Gráfica 2).

A continuación exponemos los resultados para cada año del estudio.

En el **año 2008**, realizamos en nuestro Laboratorio 2.566 cribados de cromosomopatías en el primer trimestre, de los cuales, 63 (**2.46 %**) resultaron con Índice de Riesgo Alto y 2.503 (**97.54 %**) tuvieron un Índice de Riesgo Bajo.

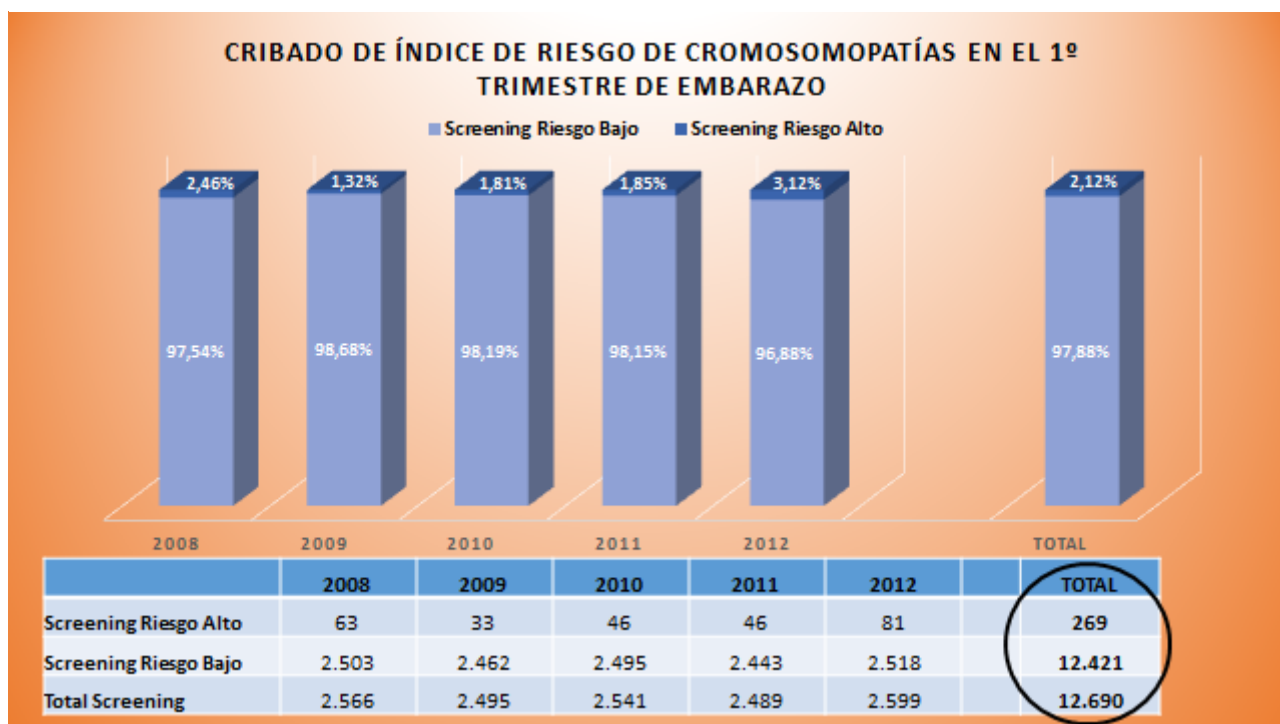
En el **año 2009**, realizamos en nuestro Laboratorio 2.495 cribados de cromosomopatías en el primer trimestre, de los cuales, 33 (**1.32 %**) resultaron con Índice de Riesgo Alto y 2.462 (**98.68 %**) tuvieron un Índice de Riesgo Bajo.

En el **año 2010**, realizamos en nuestro Laboratorio 2.541 cribados de cromosomopatías en el primer trimestre, de los cuales, 46 (**1.81 %**) resultaron con Índice de Riesgo Alto y 2.495 (**98.19 %**) tuvieron un Índice de Riesgo Bajo.

En el **año 2011**, realizamos 2.489 cribados de cromosomopatías en el primer trimestre, de los cuales, 46 (**1,85 %**) resultaron con Índice de Riesgo Alto y 2.443 (**98,15 %**) tuvieron un Índice de Riesgo Bajo.

En el **año 2012**, realizamos 2.599 cribados de cromosomopatías en el primer trimestre fueron realizados en el Hospital, de los cuales, 81 (**3.12 %**) resultaron con Índice de Riesgo Alto y 2.518 (**96.88 %**) tuvieron un Índice de Riesgo Bajo.

Gráfica 2. Cribado de Índice de Riesgo de Cromosomopatías en el 1º Trimestre.



4.1.2 RESULTADOS DE CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE CON RIESGO BAJO

Algunas mujeres que tienen un índice de “Bajo Riesgo”, se realizan un cariotipo de líquido amniótico o vellosidad corial (Gráfica 3). De las 12.421 embarazadas con un Índice de “**Bajo Riesgo**” en el periodo 2008-2012, 181 (**1,45 %**) se realizaron un cariotipo. Generalmente este cariotipo fue realizado a petición de la gestante a su Obstetra o por consideración clínica del Facultativo de la Consulta de Alto Riesgo.

En el año 2008, de 2.503 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo, 51 se realizaron cariotipo, obteniendo en las 51 mujeres una fórmula cromosómica normal (0 %).

En el año 2009, de 2.462 embarazadas que obtuvieron un Índice de Riesgo Bajo, 36 se realizaron cariotipo, siendo los 36 cariotipos con fórmula cromosómica normal (0 %).

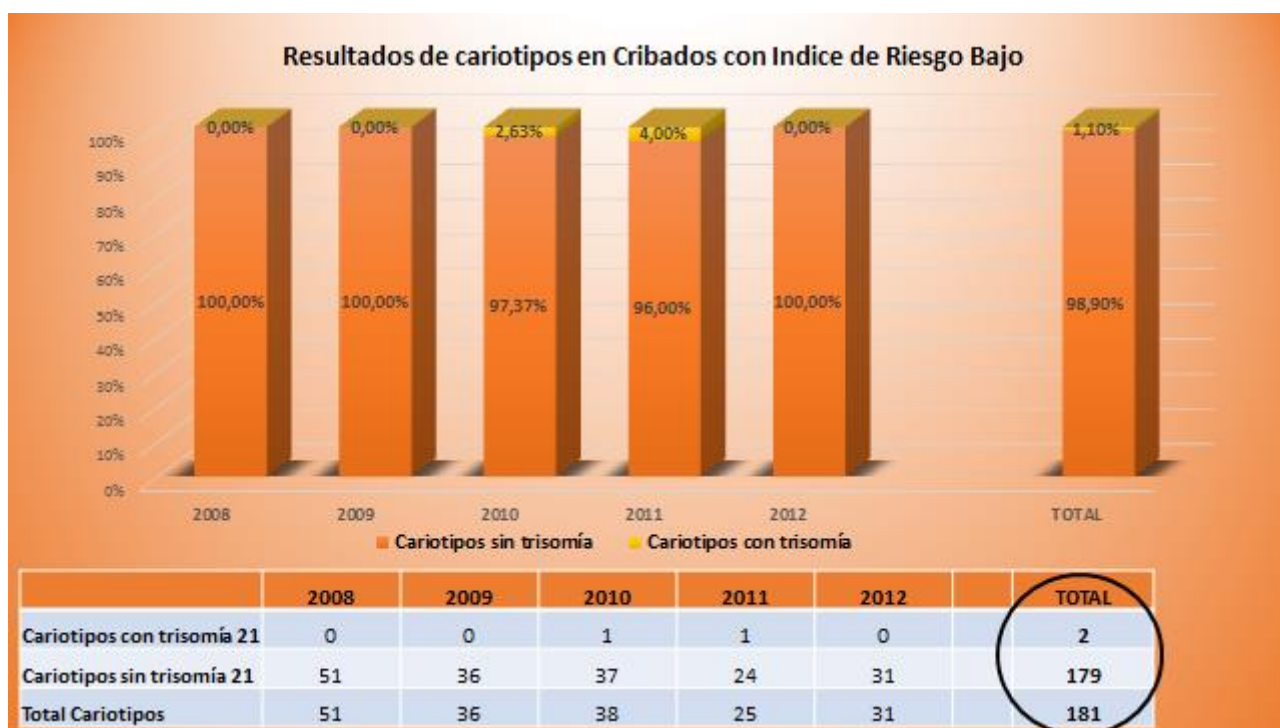
En el año 2010, de 2.495 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo, 38 se realizaron cariotipo, siendo 37 con fórmula cromosómica normal (97,37 %) y 1 *trisomía 21* (**2,63 %**).

En el año 2011, 2.443 embarazadas con un Índice de Riesgo Bajo y de estas 25 se realizaron cariotipo, siendo 24 (96 %) resultados con fórmula cromosómica normal y 1 *trisomía 21* (**4 %**).

Por último, **en el año 2012**, de la 2.518 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo, 31 se realizaron cariotipo, y todas ellas obtuvieron una fórmula cromosómica normal (0 %).

En total, durante el período estudiado (2008-2012), el **1,10% (2/181)** “**de los cariotipos realizados**” a embarazadas con Índice de Riesgo Bajo, presentan *una trisomía 21*.

Gráfica 3. Resultados de cariotipos en cribados con Índice de Riesgo Bajo.



Nos preguntamos qué resultado se obtuvo si hubo embarazo a término en las embarazadas con Índice de “Bajo Riesgo” y que no se realizan ninguna prueba adicional (Gráfica 4). En el período 2008-2012, encontramos 12.240 embarazadas que con un Índice de “Bajo Riesgo” en el Cribado Combinado en el primer trimestre, deciden, según Programa PACAC, no realizarse ninguna prueba diagnóstica. De todas ellas, Obstetricia y Neonatología tienen registrados 3 recién nacidos con trisomía 21, lo que corresponde a una fracción de los Falsos Negativos (FN) del Test de Cribado.

En el **año 2008**, 2.452 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo no se realizaron otra prueba confirmatoria y ninguna de ellas tuvo un niño con trisomía 21.

En el **año 2009**, hubo un niño nacido con trisomía 21 de las 2.426 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo sin cariotipo realizado (**0,04 %**).

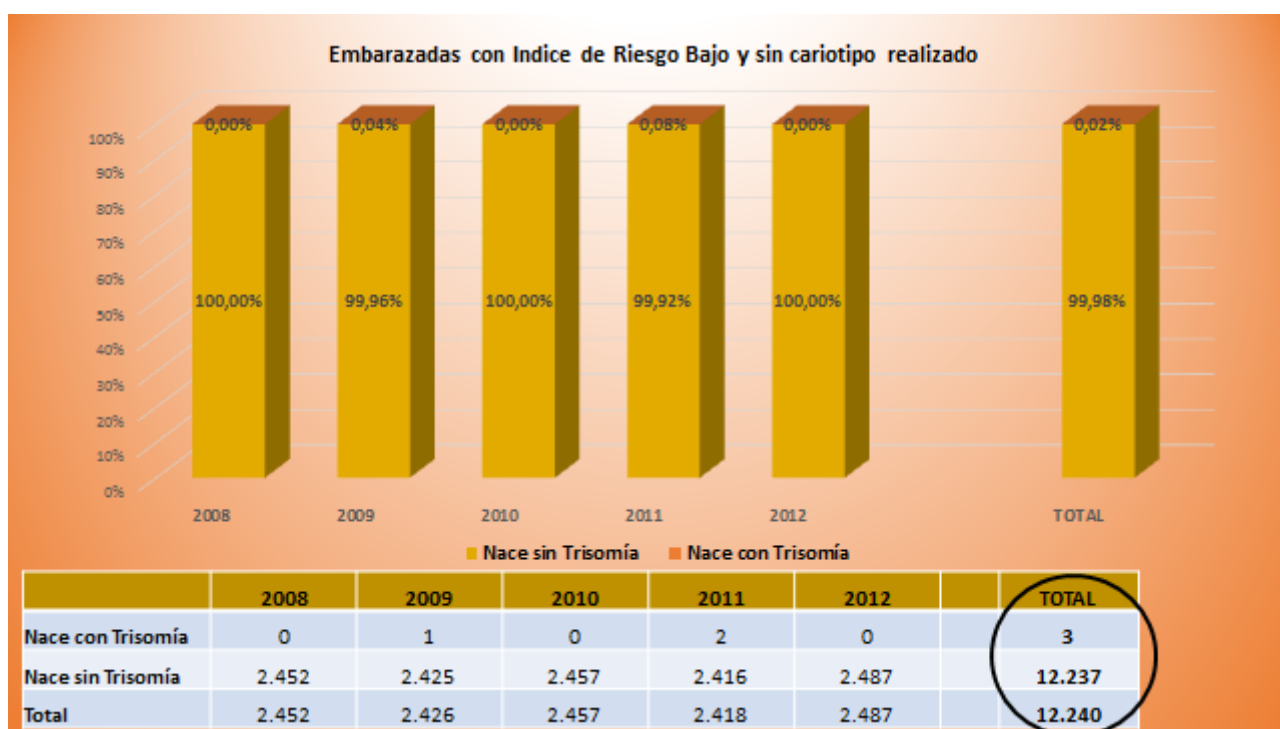
El **año 2010**, de 2.457 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo, no nació ningún niño con trisomía 21.

En el **año 2011**, de 2.418 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo sin cariotipo realizado, nacieron 2 niños con trisomía 21 (**0,08 %**).

En el año **2012**, de 2.487 embarazadas con Índice de Riesgo Bajo y sin cariotipo realizado, no hubo ningún nacimiento con trisomía 21.

En definitiva, de las 12.240 embarazadas con cribado con Índice de Riesgo Bajo y sin cariotipo realizado, 3 tienen un recién nacido con trisomía 21 (**0,02 %**).

Gráfica 4. Resultados de Embarazadas con Índice de Riesgo Bajo y sin cariotipo realizado.



En el período 2008-2012, 181 embarazadas con un Índice de “Bajo Riesgo” en Cribado Combinado de 1º Trimestre, se realizan cariotipo, lo que supone un 1,45 %, de las embarazadas con “Bajo Riesgo”, y de estas, obtenemos 2 resultados de cariotipo con Trisomía 21 (2/181), siendo estos 2 cariotipos con Trisomía 21, la otra fracción de Falsos Negativos.

En definitiva, de entre las embarazadas a las que le hemos practicado un cribado con “Bajo Riesgo” (12.421), nos encontramos con 2 *trisomía 21* en aquellas en que a pesar de “Bajo Riesgo”, se realizan cariotipo (2/181) y 3 *trisomía 21* de recién nacidos en los que la embarazada no se realiza cariotipo (3/12.240). Es decir **0,402 %** (5/12.421) de **tasa de falsos negativos** del Test de Cribado Combinado de 1º Trimestre.

4.1.3 RESULTADOS DE CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE CON RIESGO ALTO

Por otro lado, analizamos los resultados de embarazadas con Índice de “Alto Riesgo” en el período 2008-2012, que se realizan cariotipo (Gráfica 5) tras la consulta de Obstetricia. De las 269 embarazadas con Índice de Riesgo Alto en este período, 92 (**34,20 %**), se realizan cariotipo. Esto nos ha llevado a “insistir en la necesidad de la realización del cariotipo” durante y después de la finalización de esta Tesis y así lo expresamos como dato informativo. En el **año 2014**, se realizan cariotipo el **69,30 %** de las gestantes con Riesgo Alto en el Cribado Combinado de 1º Trimestre).

En el **año 2008**, 29 mujeres de las 63 con Índice de Riesgo Alto (46,03 %) se realizan cariotipo, obteniendo 1 resultado (**3,45%**) de *trisomía 21*.

En el **año 2009**, 12 mujeres de las 33 con Índice de Riesgo Alto (36,36 %) se realizan cariotipo, siendo todos los cariotipos con fórmula cromosómica normal (**0,0 %**).

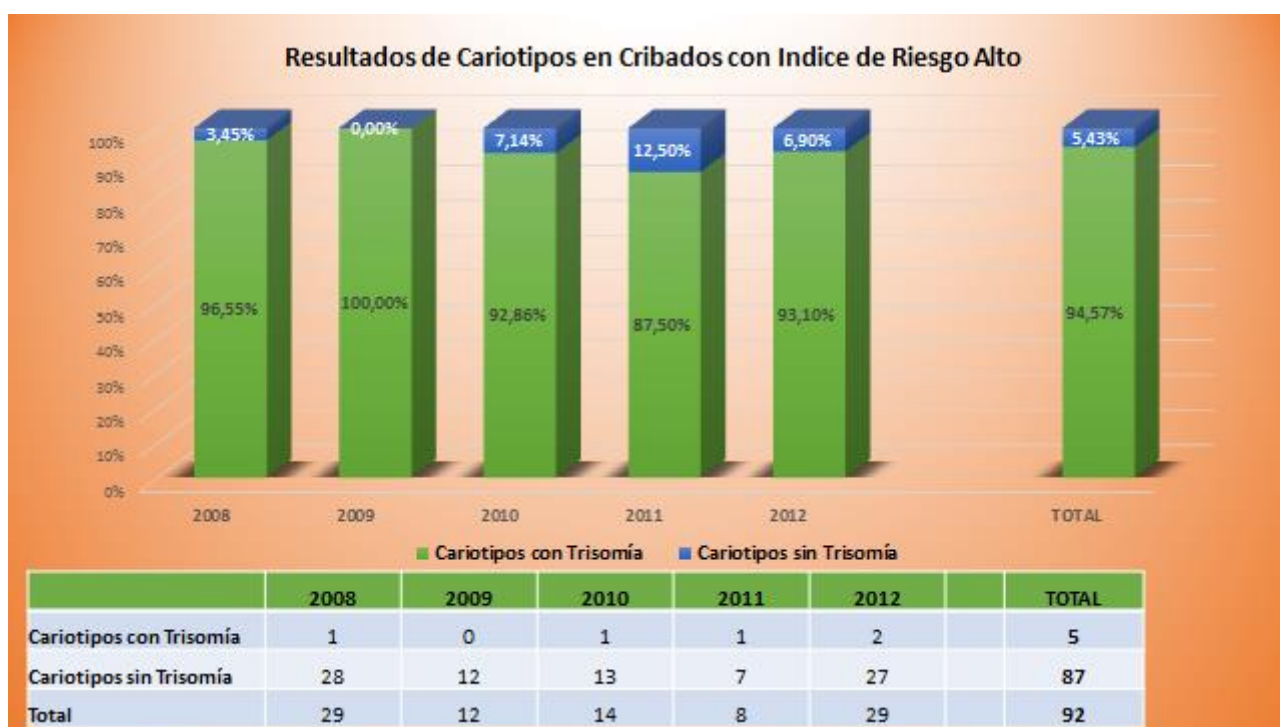
En el **año 2010**, 14 mujeres de las 46 con Índice de Riesgo Alto (30,43 %) se realizan cariotipo, obteniendo 1 resultado *trisomía 21* (**7,14 %**).

En el **año 2011**, 8 mujeres de las 46 con Índice de Riesgo Alto (17,39 %) se realizan cariotipo, con 1 *trisomía 21* (**12,50%**).

En el **año 2012**, 29 mujeres de las 81 con Índice de Riesgo Alto (35,80 %) se realizan cariotipo, obteniendo 2 resultados de *trisomía 21* (**6,90%**).

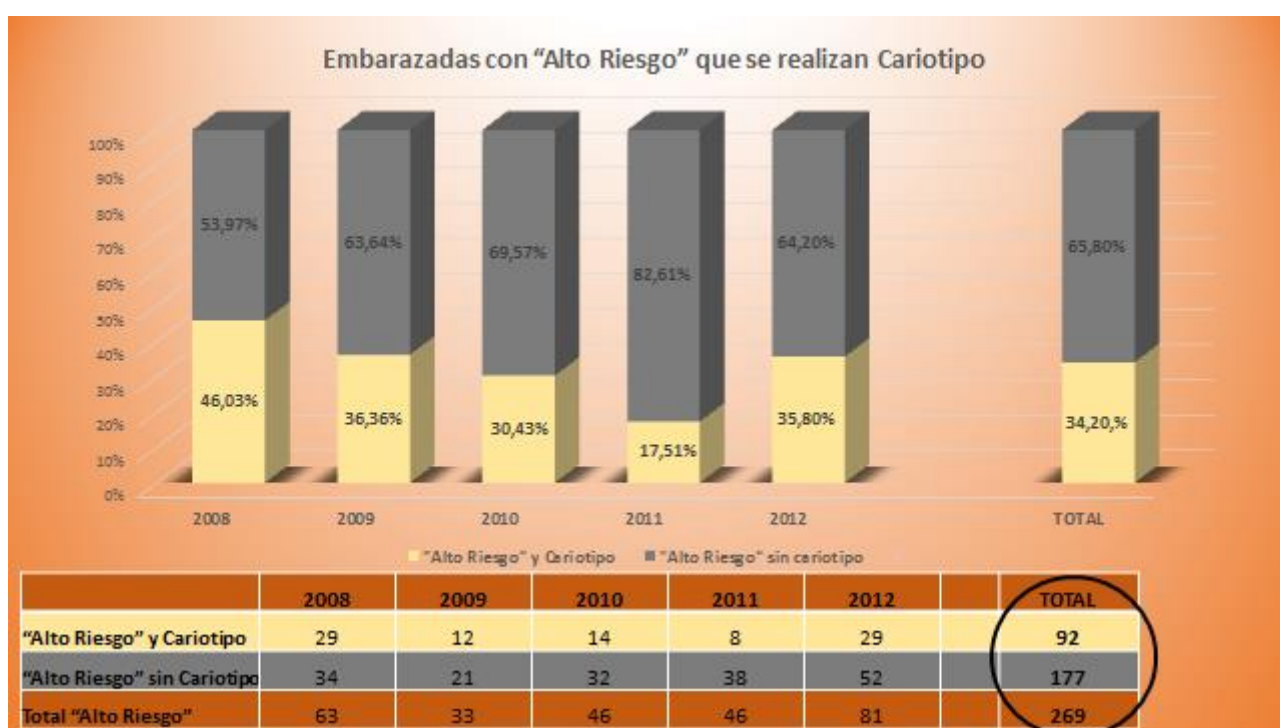
Es decir, de las 92 mujeres que se realizaron un cariotipo habiendo obtenido un resultado de Índice de Riesgo Alto en el cribado, tan solo **5** de ellas (**5,43 %**), presentan embarazo a término con registro de 1 feto con *trisomía 21*.

Gráfica 5. Resultados de cariotipos en Cribados con Riesgo Alto.



No hemos observado en nuestra serie temporal, un incremento en el porcentaje de embarazadas que habiendo obtenido un resultado de “Alto Riesgo” en el Cribado, se realicen el Cariotipo (Gráfica 6).

Gráfica 6. Embarazadas con “Alto Riesgo” que se realizan Cariotipo.



Respecto a embarazadas con índice de riesgo alto y sin cariotipo realizado (Gráfica 7) obtuvimos, en el periodo 2008-2012, que de las 269 embarazadas con índice de riesgo alto, 177 (65,80 %) no se realizan el estudio de cariotipo pese a estar indicado en el PACAC, obteniendo 2 nacimientos con trisomía 21.

En el **año 2008**, 34 mujeres de las 63 con Índice de Riesgo Alto (53,97 %) no se realizan cariotipo, y no nace ningún niño con trisomía 21 (**0,0 %**).

En el **año 2009**, 21 mujeres de las 33 con Índice de Riesgo Alto (63,64 %) no se realizan cariotipo, y no nace ningún niño con trisomía 21 (**0,0 %**).

El **año 2010**, 32 mujeres de las 46 con Índice de Riesgo Alto (69,56 %) no se realizan cariotipo, y nace un niño con trisomía 21 (**3,23 %**).

En el **año 2011**, 38 mujeres de las 46 con Índice de Riesgo Alto (82,61 %) no se realizan cariotipo, y no nace ningún niño con trisomía 21 (**0,0 %**).

En el **año 2012**, 52 mujeres de las 81 con Índice de Riesgo Alto (64,20 %) no se realizan cariotipo, y nace un niño con trisomía 21 (**1,92 %**).

En conclusión, de las 177 mujeres que no se han realizado cariotipo, habiendo obtenido un resultado en el test de cribado de “Alto Riesgo”, 2 de ellas (**1,12 %**) tienen embarazo a término registrado con 1 recién nacido con *trisomía 21*.

Gráfica 7. Recién nacidos con Trisomía 21 en Embarazadas con Índice de Riesgo Alto y sin cariotipo realizado.



4.1.4. RESULTADOS EN EMBARAZADAS SIN CRIBADO REALIZADO.

4.1.4.1 Embarazadas sin Cribado pero con Cariotipo realizado.

En el **año 2008**, de las 1.105 embarazadas que no se realizaron el cribado de cromosopatías del primer trimestre, 69 (6,24 %) se realizaron cariotipo y 1 de ellos (**1,45 %**) obtuvo un resultado de *trisomía 21* (Gráfica 8), el cual no llegó a nacer.

En el **año 2009**, 1.049 embarazadas no se realizaron el cribado de cromosopatías del primer trimestre de estas, 41 (3,90 %) se realizaron cariotipo y 1 de ellos (**2,44 %**) obtuvo un resultado de *trisomía 21*, el cual no nace.

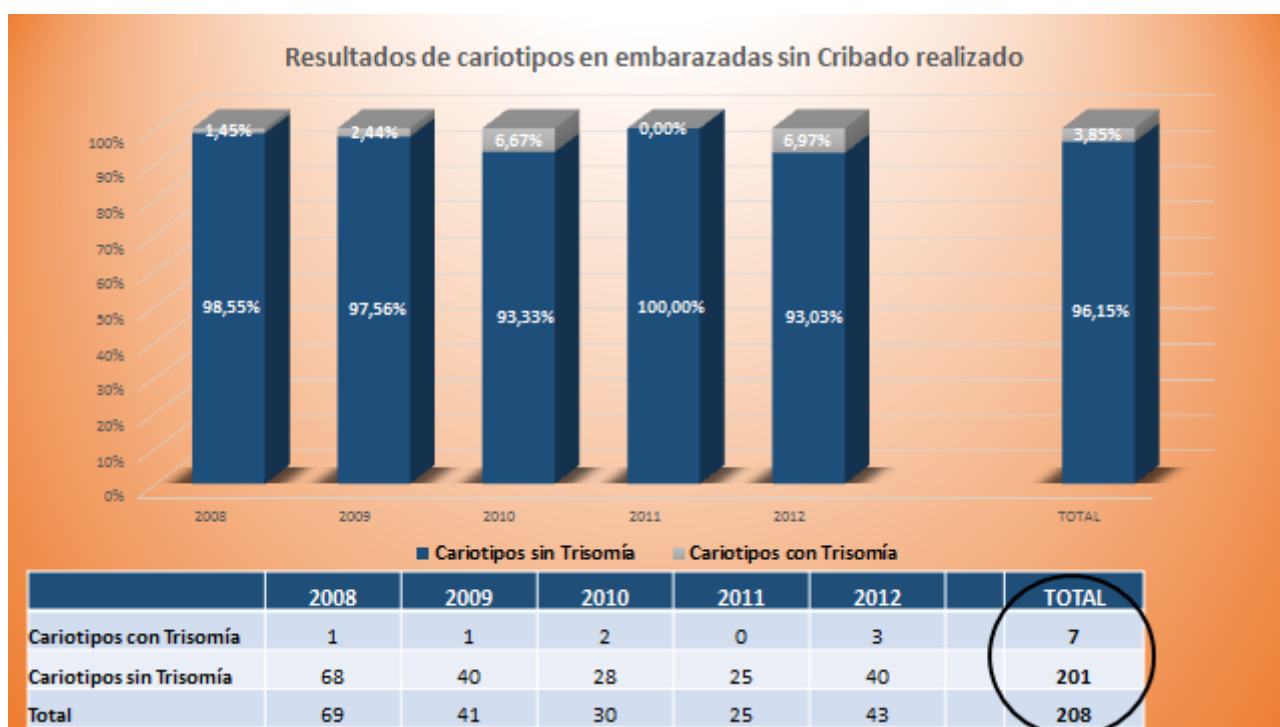
En el **año 2010**, 853 embarazadas no se realizaron el cribado de cromosopatías del primer trimestre de estas, 30 (3,51 %) se realizaron cariotipo y 2 de ellos (**6,67%**) obtuvieron un resultado de *trisomía 21* y ninguno nace.

En el **año 2011**, 685 embarazadas no se realizaron el cribado de cromosopatías del primer trimestre de estas, 25 (6,64 %) se realizaron cariotipo y todas presentaron una fórmula cromosómica normal (**0,0 %**).

En el **año 2012**, 398 embarazadas no se realizaron el cribado de cromosopatías del primer trimestre, de estas, 43 (10,80 %) se realizaron cariotipo y 3 de ellos (**6,97 %**) obtuvieron un resultado de *trisomía 21* y ninguno de ellos nace.

En conclusión de las 208 gestantes sin cribado, que sí se realizaron cariotipo, obtuvimos 7 diagnósticos de *trisomía 21* (**3,85 %**) ; y de estas 7, no hubo ningún recién nacido.

Gráfica 8. Resultados de cariotipos en embarazadas sin Cribado realizado.



4.1.4.2 Embarazadas sin cribado y sin cariotipo realizado.

Otro grupo de embarazadas son aquellas que no se realizan ni el cribado ni el cariotipo (Gráfica 9). En nuestro período de estudio son 3.882 embarazadas.

En el **año 2008**, tenemos 1.036 embarazadas sin cribado ni cariotipo y en ninguna de ellas quedó registrado un recién nacido con *trisomía 21* (**0,0 %**).

En el **año 2009**, tenemos 1.008 embarazadas sin cribado ni cariotipo y **“3 de ellas tienen recién nacidos con *trisomía 21*”** (**0,50 %**).

En el **año 2010**, tenemos 823 embarazadas sin cribado ni cariotipo y **“1 de ellas tiene un recién nacido con *trisomía 21*”** (**0,12 %**).

En el **año 2011**, tenemos 660 embarazadas sin cribado ni cariotipo y **“2 de ellas tienen recién nacidos con *trisomía 21*”** (**0,30 %**).

En el **año 2012**, tenemos 355 embarazadas sin cribado ni cariotipo y **“1 de ellas tiene un recién nacido con *trisomía 21*”** (**0,29 %**).

Es decir, de las 3.882 mujeres que **no se realizan cribado ni cariotipo**, nos encontramos **“7 recién nacidos con trisomía 21 (0,18 %)” = 1,8 cada 1000 embarazos, = 0,9 cada 500 embarazos.**

Gráfica 9. Recién Nacidos con trisomías en embarazadas Sin Cribado y Sin Cariotipo realizados.



Tenemos una incidencia del 1,803 % (7/3.882) de niños que nacen con *trisomía 21* en mujeres que no siguen el Protocolo, es decir, “no se realizan cribado ni amniocentesis ó biopsia corial para estudio de cariotipo”.

Si está descrita “en la población normal la aparición de trisomía 21 en 1/500 embarazos”, “**en nuestra serie ha sido de 7/3.882, es decir, 0,9/500 embarazadas**”, lo que nos indica la fiabilidad, que aceptamos para nuestro Trabajo.

4.1.5. DISTRIBUCIÓN ANUAL DE LOS RESULTADOS CON CRIBADO DE INDICE DE RIESGO ALTO, CARIOTIPOS Y RESULTADO FINAL DEL RECIEN NACIDO.

En el **año 2008**, de los 2.566 cribados de primer trimestre realizados, 63 (2,45 %) tienen riesgo alto. De estas embarazadas con riesgo alto, se realizan cariotipo 29, y de estas 29 embarazadas que se realizan cariotipo, tenemos 1 *trisomía 21* (**3,45 %**), el cual no nace.

En el **año 2009**, de los 2.495 cribados de primer trimestre realizados, 33 (1,48 %) tienen riesgo alto. De estas embarazadas con riesgo alto, se realizan cariotipo 12, y de estas 12 embarazadas que se realizan cariotipo, tenemos todos los resultados con fórmula cromosómica normal (**0,0 %**).

En el **año 2010**, de los 2.541 cribados de primer trimestre realizados, 46 (1,81 %) tienen riesgo alto. De estas embarazadas con riesgo alto, se realizan cariotipo 14, y de estas 14 embarazadas que se realizan cariotipo, tenemos 1 *trisomía 21* (**7,14 %**), el cual no nace.

En el **año 2011**, de los 2.489 cribados de primer trimestre realizados, 46 (1,84 %) tienen riesgo alto. De estas embarazadas con riesgo alto, se realizan cariotipo 8, y de estas 8 embarazadas que se realizan cariotipo, tenemos 1 *trisomía 21* (**12,5 %**), el cual no nace.

En el **año 2012**, de los 2.599 cribados de primer trimestre realizados, 81 (3,11 %) tienen riesgo alto, de estas embarazadas con riesgo alto, se realizan cariotipo 29, y de estas 29 embarazadas que se realizan cariotipo, tenemos 2 *trisomía 21* (**6,90 %**), los cuales no nacen.

En embarazadas que se realizan el cribado y que obtienen un resultado de Riesgo Alto y se realizan posteriormente un cariotipo (Tabla 6), obtenemos un **5,44 %** (5/92) de diagnósticos de Trisomía 21. Es decir, en embarazadas que siguen el Programa PACAC, (Cribado con Informe de Riesgo alto y a continuación realización de Cariotipo), detectamos Síndrome de Down en 5,44 de cada 100 embarazadas con Cribado con Riesgo Alto. Es de esperar que si las 269 embarazadas a las que le dimos un resultado de Riesgo Alto, se hubieran realizado Cariotipo, hubiéramos diagnosticado 14,60 embarazadas con feto afecto de Trisomía 21, en base comparativa al 5,44 % de Tasa de Detección en embarazadas con Cribado Combinado de 1º Trimestre con Índice de Riesgo Alto.

Tabla 6. Distribución anual de los resultados de Cribado con Informe de Índice de Riesgo Alto, Cariotipos, y resultado final del recién nacido.

| | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|--|----------------|---------------|---------------|--------------|---------------|----------------------|
| Nº SCREENING | 2566 | 2495 | 2541 | 2489 | 2599 | 12690 |
| INDICE DE RIESGO ALTO | 63 (2,45% *) | 33(1,48% *) | 46 (1,81% *) | 46 (1,84% *) | 81 (3,11% *) | 269 (2,12% *) |
| CARIOTIPOS REALIZADOS CON RIESGO ALTO | 29(46,03% **) | 12(36,36% **) | 14(30,43% **) | 8(17,39% **) | 29 (37,5% **) | 92(34,20% **) |
| CARIOTIPOS CON TRISOMÍA | 1 (3,45% ***) | 0 (0% ***) | 1(7,14% ***) | 1(12,5% ***) | 2 (6,90% ***) | 5 (5,44% ***) |
| TRISOMÍA 21 | 1 | 0 | 1 | 1 | 2 | 5 |
| R.N CON TR.21 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* : Nº Indice Riesgo Alto x100 / Nº TOTAL CRIBADOS.

** Nº CARIOTIPOS REALIZADOS EN EMBARAZADAS CON CRIBADO RIESGO ALTO x 100 / Nº CRIBADOS CON RIESGO ALTO

***: Nº CARIOTIPOS. CON TRISOMÍA 21 EN Indice Riesgo Alto x 100 / Nº CARIOTIPOS REALIZADOS EN Indice Riesgo Alto.

Por otra parte, podemos deducir que el **97,4 % de las embarazadas (262/269) con un resultado de cribado de Riesgo Alto, no tienen un feto afecto de trisomía 21**, (por el contrario, sí fueron 5 diagnosticados mediante Cariotipo y 2 que al llegar a término fueron diagnosticados de Trisomía 21).

Diferenciamos 3 grupos (embarazadas con Riesgo Alto; embarazadas con Riesgo Bajo; y embarazadas sin Cribado y sin Cariotipo realizado) y observamos la presencia o no de Trisomía 21 (Ver Tabla 7).

Tabla 7. Resultados de Embarazadas con Trisomía 21 en 3 grupos diferenciados.

| | NO TRISOMÍA-21 | SÍ TRISOMÍA-21 |
|--|----------------|----------------------|
| EMBARAZADAS CON CRIBADO CON RIESGO ALTO | 97,40% | 2,6 % (7/269) |
| EMBARAZADAS CON CRIBADO CON RIESGO BAJO | 99,96% | 0,04 % (5/12421) |
| EMBARAZADAS SIN CRIBADO Y SIN CARIOIPO | 99,82% | 0,18 % (7/4090) |

4.1.6. DISTRIBUCIÓN ANUAL DE LOS RESULTADOS DE EMBARAZADAS SIN CRIBADO REALIZADO, CON CARIOTIPOS REALIZADOS Y RESULTADO FINAL DEL RECIÉN NACIDO.

En el **año 2008**, de las 1.105 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 69 deciden realizarse un cariotipo (**6,24 %**), y de estos 69 cariotipos realizados, tenemos 1 *trisomía 21* (**1,44 %**), el cual no nace.

En el **año 2009**, de las 1.049 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 41 deciden realizarse un cariotipo (**3,90 %**), y de estos 41 cariotipos realizados, tenemos 1 *trisomía 21* (**2,43 %**), el cual no nace.

En el **año 2010**, de las 853 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 30 deciden realizarse un cariotipo (**3,51 %**), y de estos 30 cariotipos realizados, tenemos 2 *trisomía 21* (**6,66 %**), los cuales no nacen.

En el **año 2011**, de las 685 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 25 deciden realizarse un cariotipo (**3,64 %**), y de estos 25 cariotipos realizados, tenemos todos los resultados con fórmula cromosómica normal (**0,0 %**).

En el **año 2012**, de las 398 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 43 deciden realizarse un cariotipo (**10,80 %**), y de estos 43 cariotipos realizados, tenemos 3 *trisomía 21* (**6,97 %**), los cuales no nacen.

En el quinquenio 2008-2012, de las 4090 embarazadas que no se realizan el cribado de primer trimestre, 208 deciden realizarse un cariotipo (**5,08 %**), y de estos 208 cariotipos realizados, tenemos 7 *trisomía 21* (**3,36 %**), los cuales no nacen.

Tabla 8. Distribución anual de los resultados de embarazadas Sin Cribado realizado, Con Cariotipos realizados, y resultado final del recién nacido.

| | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|--------------------------------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| PARTOS | 3671 | 3544 | 3394 | 3174 | 2997 | 16780 |
| CRIBADOS SI REALIZADOS | 2566 | 2495 | 2541 | 2489 | 2599 | 12690 |
| CRIBADO NO REALIZADO | 1105 | 1049 | 853 | 685 | 398 | 4090 |
| CARIOTIPOS REALIZADOS EN NO CRIBADOS | 69 (6,24% *) | 41 (3,90% *) | 30 (3,51% *) | 25 (3,64% *) | 43 (10,8% *) | 208 (5,08% *) |
| CARIOTIPOS CON TR.21 EN NO CRIBADOS | 1 (1,44% **) | 1 (2,43% **) | 2 (6,66% **) | 0 (0,00% **) | 3 (6,97% **) | 7 (3,36% **) |
| R.N. CON TRISOMÍA | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

* N° de Cariotipos realizados x 100 / N° embarazadas que No se realizaron Cribado

** N° Cariotipos con Tr-21 en embarazadas Sin cribado x 100 / N° Cariotipos en embarazadas Sin cribado

4.1.7 VALORACIÓN PARA LA OBTENCIÓN DE FALSOS POSITIVOS.

Si al 5,44 % de las gestantes con “Índice de Riesgo Alto y con cariotipo realizado”, las diagnosticamos de *trisomía 21* (Tabla 6), si realizáramos el Cariotipo a las 269 gestantes con resultado de Índice de Riesgo Alto, es de esperar que diagnosticáramos 14 embarazadas con feto con trisomía 21, que serían Verdaderos Positivos del test, y 255 pacientes que serían Falsos Positivos, lo que aplicado al total de gestantes a las que se realiza el Cribado (12.690), nos da una “tasa de Falsos Positivos” para nuestro test del **2,00 %**.

4.1.8 VALORACIÓN DEL EFECTO BENEFICIOSO QUE HUBIÉSEMOS OBTENIDO EN LAS GESTANTES QUE NO ACCEDIERON AL CRIBADO, SI HUBIESEN ACCEDIDO AL PROGRAMA.

Hemos valorado el beneficio que hubieran obtenido nuestras gestantes no cribadas, si hubieran seguido el Protocolo.

De las 3.882 gestantes que no se realizaron cribado ni cariotipo, obtuvimos una incidencia de trisomía 21 del 1,803 ‰ (7/3.882). Asumiendo la tasa de falsos negativos

obtenida en nuestra población cribada que es del 0,4 ‰ (5/12.421), hubiésemos diagnosticado el 77,92 % de los casos de trisomía 21 y no hubiésemos diagnosticado el 22,18 % de los casos.

De las 4.090 gestantes que no se realizaron el cribado, obtuvimos una incidencia de trisomía 21 del 3,422 ‰ (14/14.090). Asumiendo igualmente la tasa de falsos negativos que es del 0,04 ‰, hubiésemos diagnosticado el 88,31 % de los casos de trisomía 21. No hubiéramos diagnosticado el 11,69 % de los casos de trisomía 21.

4.2. RESULTADOS DE SEROLOGIA INFECCIOSA

4.2.1 RESULTADOS DE RUBÉOLA.

Realizamos estudio serológico de Rubéola IgG a todas las embarazadas de nuestra Área Sanitaria, “Área Norte de Cádiz”, para conocer el estado inmunitario de las mismas frente a la Rubéola, y deducir la “población susceptible” a tal virus durante su embarazo y por ello “con riesgo de padecer la infección-enfermedad durante la gestación” y por ende con “riesgo de rubeolopatía congénita”. Al tiempo se podría informar a las susceptibles para incorporarlas al programa vacunal, en el inmediato puerperio y conseguir el estado inmune postvacunal, dejando de ser susceptibles. Para ello se les determinó a todas las embarazadas en este periodo (2008-2012) anticuerpos del tipo IgG frente a Rubéola. Describimos los resultados obtenidos.

En el año 2008, realizamos 2.251 estudios de Rubéola, en embarazadas, en nuestra Área Sanitaria, de ellas dieron Positivo a las IgG frente a Rubéola 2.250 lo que representa que el 99,96 % de las embarazadas están inmunes, protegidas frente a esta infección, pues tenían Ac IgG protectores frente a Rubéola y por tanto no susceptible.

Solo el **0,04 %** de la población de embarazadas estudiadas (Seronegativas y susceptibles), NO tenían anticuerpos IgG protectores frente a Rubéola, lo que nos da idea del alto porcentaje de mujeres embarazadas con cobertura inmunológica frente a la Rubéola en nuestra Área Sanitaria.

En el año 2009, se estudiaron 2.302 embarazadas para determinar Ac IgG frente a Rubéola, de ellos, 2.300 dieron Ac Positivos frente a la Rubéola lo que supone que en el periodo estudiado la población de embarazadas estudiadas tenían título de Ac protectores del 99.91 %.

Solo el **0,09 %** de la población estudiada No tenían Ac IgG protectores frente a Rubéola (Seronegativas y susceptibles).

En el año 2010, se estudiaron 2.410 mujeres embarazadas para determinar los Ac IgG frente a la Rubéola, en este periodo se detectó que 2.409 embarazadas tenían Ac. protectores frente a Rubéola, lo que supone que el 99,96 % de la población de embarazadas estudiadas, en nuestra Área Sanitaria, tenía Ac. IgG frente a esta enfermedad.

Solo el **0,04 %** de la población estudiada no tenía Ac.IgG protectores frente a rubéola (Seronegativas y susceptibles).

En el año 2011, se estudiaron 2.460 embarazadas para determinación de Ac. IgG frente a Rubéola, 2.459 dieron título Positivo, protectores frente a Rubéola lo que supone que para este periodo de tiempo estudiado el 99,96 % de las embarazadas tenían títulos de Ac IgG protectores frente a esta enfermedad.

Solo el **0,04 %** de la población de embarazadas estudiadas no tenían títulos de Ac IgG protectores frente a la rubéola (Seronegativas y susceptibles).

En el año 2012, se estudiaron 2.592 embarazadas para determinación de Ac IgG frente a Rubéola, de ellas 2.590 dieron Positivo para título de Ac IgG protectores frente a Rubéola, lo que supone que el 99,92 % de las embarazadas en este periodo tenían títulos de Ac IgG protectores frente a Rubéola.

Solo el **0,08 %** de las embarazadas estudiadas en este período no tenían títulos de Ac IgG protectores frente a Rubéola (Seronegativas y susceptibles).

Resultados de la serie completa 2008-2012

Para toda nuestra serie de 5 años hemos estudiamos los Ac del tipo IgG a las embarazadas de nuestra Área Sanitaria frente a Rubéola desde el 1 de Enero de 2008 a 31 Diciembre de 2012 con un total de 12.015 estudios de embarazadas para el quinquenio (Tabla 9, Gráfico 10).

En este período de tiempo el resultado de Ac.IgG POSITIVO frente al virus de la Rubéola en la población embarazada fue de 12.008, lo que supone que el 99,94 % de la población de embarazadas estudiada, tenían Ac.IgG protectores frente a esta enfermedad sobre 12.015 gestantes, en nuestra Área Sanitaria, expresión de inmunidad probablemente por su grupo de edad de origen post-vacunal y sin descartar que en las más añosas fuera por inmunidad natural.

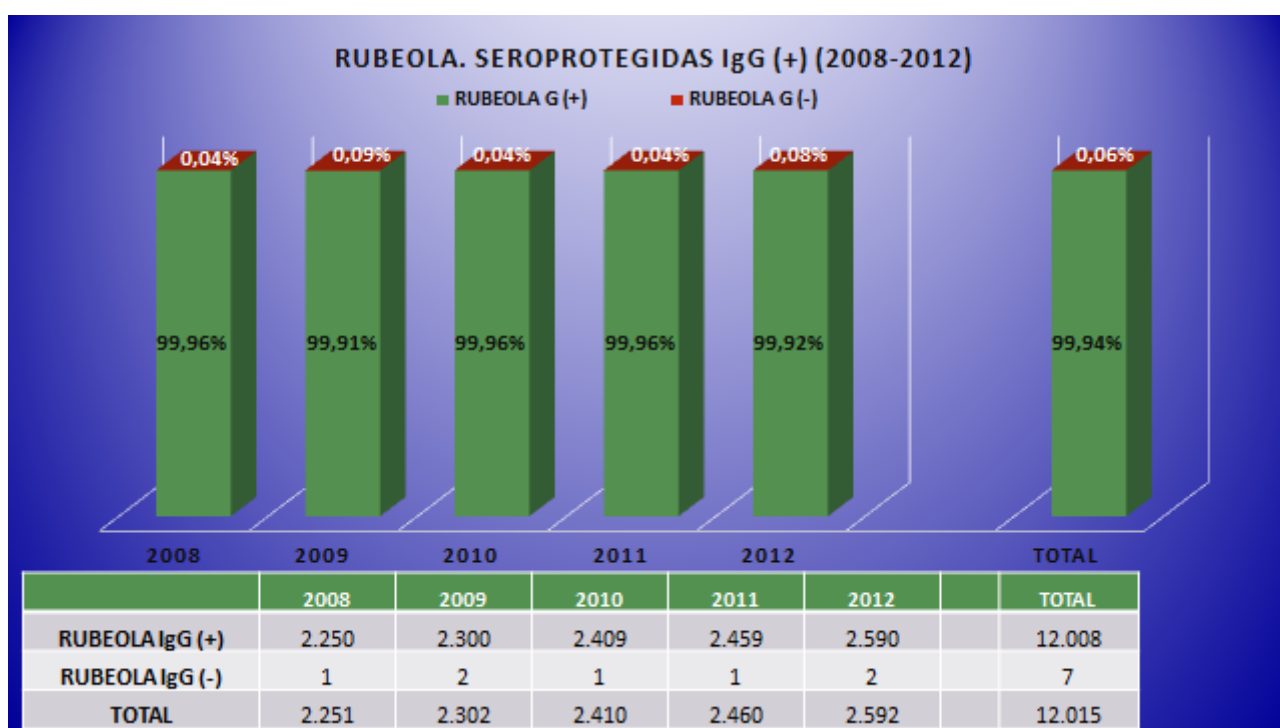
Solo el **0,06 %** de las embarazadas de nuestra Área Sanitaria, NO estaban protegidas frente a Rubéola (Tabla 9), lo que indica un muy bajo índice de NO protegidas, que pudieran dar lugar a Rubeolopatía congénita, si contrajesen la infección-enfermedad durante el embarazo.

La indicación sería vacunar a todas las seronegativas en su puerperio, pasada la cuarentena, pues el preparado vacunal actual es de virus vivo de la Rubéola atenuado, con una dosis i.m. La actual presentación es como vacuna trivalente (Triple vírica: Sarampión, Rubéola, Parotiditis).

Tabla 9. Serología Rubéola IgG (2008-2012).

| RUBÉOLA IgG | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|--------------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|---------------|
| GESTANTES | 2.251 | 2.302 | 2.410 | 2.460 | 2.592 | 12.015 |
| Rubéola IgG (+) | 2.250 | 2.300 | 2.409 | 2.459 | 2.590 | 12.008 |
| % Rubéola IgG (+) | 99,96% | 99,91% | 99,96% | 99,96% | 99,92% | 99,94% |
| Rubéola IgG (-) | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 7 |
| % Susceptibles | 0,04% | 0,09% | 0,04% | 0,04% | 0,08% | 0,06% |

Gráfica 10. Serología Rubéola IgG (2008-2012)



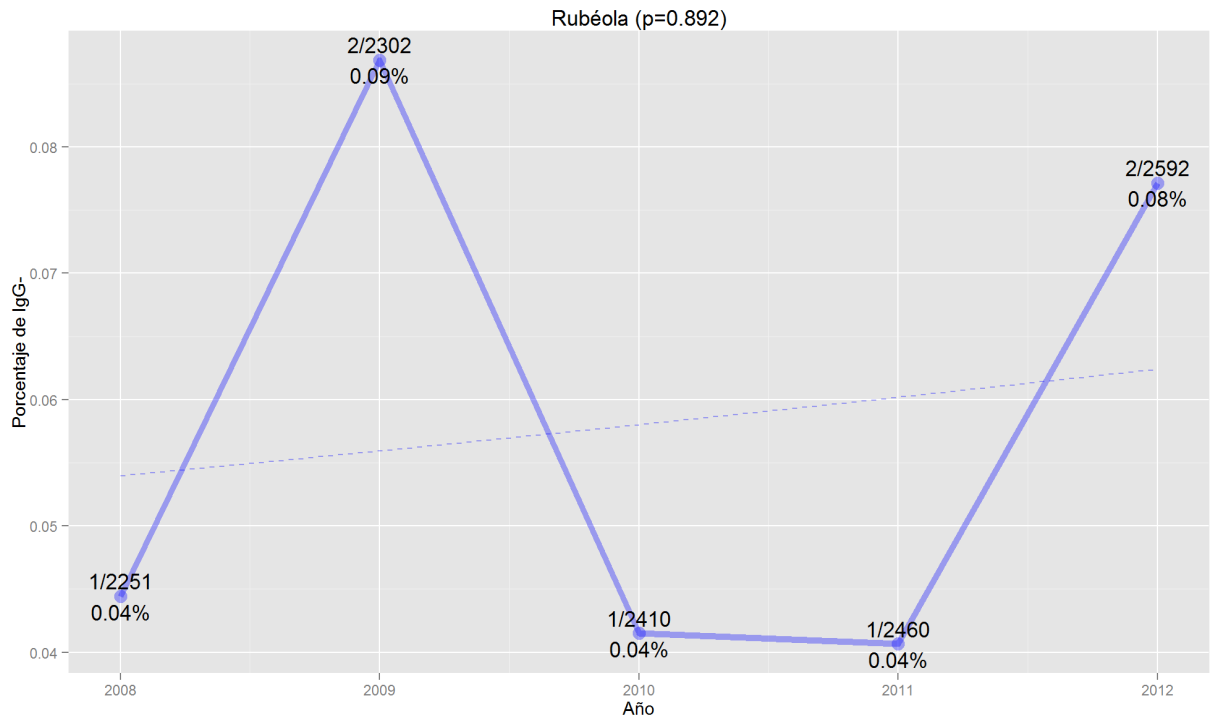
Analizamos la serología de rubéola IgG para valorar la ausencia de anticuerpos protectores en la mujer embarazada, en las primeras semanas de su embarazo, por su valor a los efectos de una posible rubeolopatía congénita.

En nuestra serie temporal, obtenemos un escasísimo número de embarazadas seronegativas, con un valor máximo en el año 2009 de 0,09 % y un valor mínimo de 0,04 % en 2008, 2010 y 2011. **La línea de tendencia obtenida no tiene significación estadística (p= 0,892)** como se ve en la Gráfica 11, estimando un alto objetivo conseguido y establecido en el Programa Vacunal en nuestra Comunidad, frente a la

Rubéola, como vacunación infantil en ambos sexos y gratuita aplicadas en los Centros de Salud del S.A.S.

En concordancia con nuestros resultados en el servicio de Pediatría de nuestro Hospital, durante este tiempo, no se ha diagnosticado caso alguno de Rubéola Congénita.

Gráfica 11. Línea de tendencia y significación estadística porcentaje Rubéola IgG (-) (2008-2012).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

4.2.2 RESULTADOS DE TOXOPLASMOSIS.

En nuestro estudio, a la población embarazada del Área Sanitaria Cádiz Norte, le realizamos determinaciones de **Ac. del tipo IgG** frente a *Toxoplasma gondii*, si hubiese resultados IgG (+), se ampliaba para valorar las IgM y si esta era (+), realizamos el test de Aidez, para las IgG obteniendo los siguientes resultados:

En el año 2008 estudiamos 2.251 mujeres embarazadas, de ellas 510 dieron Positivo a **Ac. IgG** frente a Toxoplasma, lo que supone **22,66 %** de la población de embarazadas estudiada, frente al 77,34 % de la población de embarazadas que dieron Negativo para Ac. del tipo IgG.

De las 510 embarazadas que dieron Ac. IgG Positivo se nos solicitó por su Tocólogo determinación de **Ac IgM** frente a Toxoplasma y de ellas 10 dieron Positivo, lo que supone el **1,96 %** de las IgG Positivas y el 98,04 % de las IgG (+) dieron Negativo para Ac. IgM de Toxoplasma.

A estas 10 embarazadas IgG (+) e IgM (+) se les practicó Toxoplasma Aidez, y en el 100% de los casos estudiados (10) dieron **Alta Aidez** para los Ac. IgG, lo que supone que los Ac del tipo IgG indican “antigua infección de más de 4 meses” y titulo protector y “no infección toxoplásmica reciente” tributaria de tratamiento antiparasitario de la embarazada.

En el año 2009 estudiamos 2.302 mujeres embarazadas, de ellas, 498 dieron Ac. IgG Positivos frente a Toxoplasma, lo que supone que el **21,63 %** de la población de embarazadas estudiadas tenia anticuerpos tipo IgG para Toxoplasma, frente al 78,37 % de la población de embarazadas estudiadas que no tenia Ac.IgG, frente a Toxoplasma.

De las 498 embarazadas que dieron Ac. IgG Positivo se les solicitó por su Tocólogo determinación de Ac tipo IgM frente a Toxoplasma y de ellas 9 dieron Positivo, lo que supone el **1,81 %** de las IgM Positivas.

A estas 9 embarazadas Toxoplasma IgG Positivo y Toxoplasma IgM Positivo se les solicito Toxoplasma Aidez y en los casos estudiados, 8, dieron **Alta Aidez (88,88 %)** 1 Baja Aidez (11,12 %) para anticuerpos del tipo IgG, lo que supone, en teoría, “anticuerpos recientes” y no protectores para Toxoplasma y/o compatible con posible infección reciente menor de 4 meses.

Esta paciente, con resultado de “Baja Aidez” fue tratado por su Tocólogo con “Espiramicina” desde el momento de la obtención del resultado y con controles mensuales de los anticuerpos de tipo IgG para ver si existía alguna movilización en los títulos de Anticuerpos IgG, sin que se produjera ninguna movilización. El titulo de

anticuerpos frente a toxoplasma permaneció sin movilización durante todo el embarazo. No obstante el Tocólogo decidió permanecer con tratamiento hasta el final del embarazo. El niño nació a término sin ninguna alteración y por lo tanto en clínica Pediátrica-Neonatólogica sin toxoplasmosis.

En el año 2010 estudiamos 2.410 determinaciones de Ac. IgG frente a Toxoplasma en mujeres embarazadas de nuestra Área Sanitaria, de ellas 481 dieron Positivo a Ac.IgG frente a Toxoplasma, lo que supone que el **19,96 %** de la población estudiada, en este año, tenía Ac. frente a Toxoplasma y el 80,04 % no tenía Ac. del tipo IgG.

A las embarazadas con Ac. IgG Positivo (481), se les realizaron, a petición de su Tocólogo determinaciones de Ac.IgM frente a Toxoplasma de ellos, 8 dieron Positivo a IgM, lo que representa el 1,66 %, a estas IgM (+) se les realizó determinación de Toxoplasma Avidéz y todas (**100 %**)dieron Alta Avidéz para los anticuerpos del tipo IgG, lo que significaba anticuerpos IgG antiguos de más de 4 meses y por tanto no compatibles con infección reciente.

En el año 2011 estudiamos 2.460 determinaciones de Toxoplasma IgG a las embarazadas de nuestra Área Sanitaria, de ellas dieron Positivo para los Ac. IgG 490 lo que supone el **19,92%** de las embarazadas tenían Ac. del tipo IgG y el 80,08 % dieron Ac. IgG Negativos. No contacto con Toxoplasma

A las embarazadas con Ac. IgG Positivo (490), se les realizaron, a petición de su Tocólogo determinaciones de Ac.IgM frente a Toxoplasma, de ellos, 7 dieron Positivo a IgM, lo que representa el **1,43 %**, y el 98,57 % de estas dieron negativo para Ac del tipo IgM.

A las IgM (+) se les realizó determinación de Toxoplasma Avidéz y todas 100 % dieron Alta Avidéz para los Ac. del tipo IgG , lo que significaba anticuerpos IgG antiguos y por tanto no compatible con infección reciente

En el año 2012 estudiamos 2.592 mujeres embarazadas, de ellas, 425 dieron Ac. IgG Positivos frente a Toxoplasma, lo que supone que el **16,40 %** de la población de embarazadas estudiadas tenían anticuerpos protectores frente a Toxoplasma mientras que el 83,60 % de la población de embarazadas estudiadas no tenía Ac.IgG frente a Toxoplasma, lo que significa no contacto con toxoplasma.

De las 425 embarazadas que dieron Ac. IgG Positivo se les solicito por su Tocólogo determinación de Ac tipo IgM frente a Toxoplasma y de ellas 5 dieron Positivo, lo que supone que el 1,18 % de las embarazadas que tenían IgG Positivas., tenían además IgM (+) y el 98,82 % de las IgG (+) tenían IgM Negativas.

A estas 5 embarazadas Toxoplasma IgG Positivo y Toxoplasma IgM Positivo se les solicitó Toxoplasma Avidéz, 4 dieron Alta Avidéz y 1 Baja Avidéz para anticuerpos del tipo IgG, lo que en principio podría suponer una infección reciente de menos de 4 meses.

Ante la sospecha de una infección reciente esta paciente fue tratada por su Tocólogo con “Espiramicina” desde el momento de la obtención del resultado y con controles mensuales de los anticuerpos de tipo IgG para ver si existía alguna movilización en Anticuerpos, sin que se produjera ninguna movilización. El niño nació a término sin ninguna alteración.

Nosotros hemos estudiado en el período, Enero de 2008 a Diciembre de 2012, a 12.015 embarazadas y hemos encontrado que el 20,01 % de las embarazadas en nuestra Área Sanitaria tenían anticuerpos de Tipo IgG frente a Toxoplasma, lo que significa contacto con Toxoplasma a lo largo de su vida, frente al 79,89 % que no tenían anticuerpos del tipo IgG (Tabla 10), lo que supone que no habían tenido contacto con Toxoplasma, al ser susceptibles deben conocer que tenían que tomar medidas Higiénico-Sanitarias durante el embarazo para no contraer la enfermedad.

De las 2404 embarazadas con anticuerpos del tipo IgG Positivos y a las que se les estudió la presencia de anticuerpos del tipo IgM, 39 pacientes, tenían Positivos los Anticuerpos IgM, esto supone que el 1,62 % de las embarazadas poseían Anticuerpos IgG e IgM Positivos.

A la totalidad de las pacientes estudiadas que tenían IgG Positiva e IgM Positivas (39), se les determinó la Avidéz de las IgG y en solo 2 ocasiones, 1 en el año 2009 y 1 en el año 2012 dieron “Baja Avidéz, compatible con infección activa o reciente, de menos de 4 meses”. En ambos casos fueron tratadas por “indicación específica” y con “seguimiento” de Obstetricia. En los dos casos nació hijo a término y sin ninguna alteración ni malformación (Pediatria).

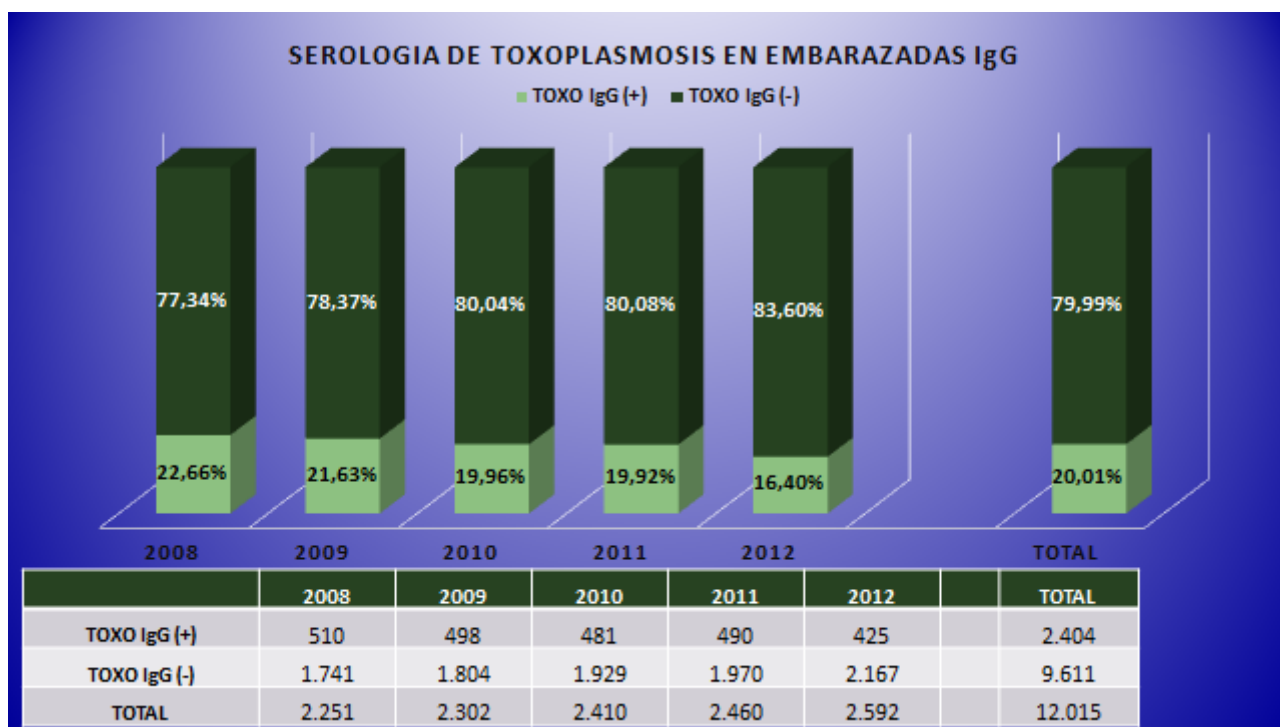
A todas las embarazadas con Toxoplasma IgG (+), se les solicitó por su Tocólogo la determinación de IgM anti Toxoplasma. En los casos de resultado IgM (-) No se les hacía nada más analíticamente durante su embarazo respecto a esta enfermedad parasitaria.

En caso de Toxoplasma IgM (+) se hacía, además, determinación de Avidéz a Toxoplasma para detectar si los Ac IgG eran recientes o tenían una antigüedad superior a los cuatro meses (Alta Avidéz). Si la Avidéz era Baja, es indicador de anticuerpos recientes y por tanto “compatible con infección reciente” y se le ponía en tratamiento por su Tocólogo además de hacer un seguimiento del embarazo.

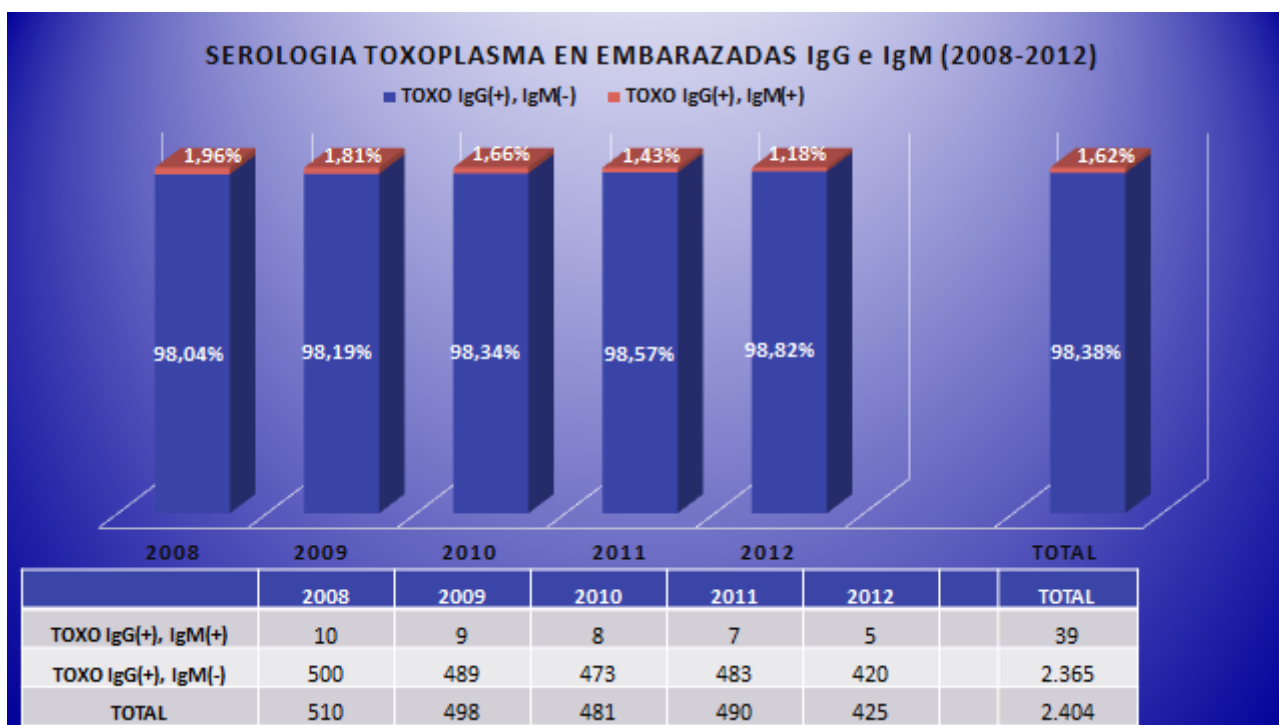
Tabla 10. Serología Toxoplasmosis (2008-2012).

| TOXOPLASMA | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| GESTANTES | 2.251 | 2.302 | 2.410 | 2.460 | 2.592 | 12.015 |
| TOXO IgG (+) | 510 | 498 | 481 | 490 | 425 | 2.404 |
| % | 22,66% | 21,63% | 19,96% | 19,92% | 16,40% | 20,01% |
| TOXO IgG (-) | 1.741 | 1.804 | 1.929 | 1.970 | 2.167 | 9.611 |
| % Toxo IgG (-) | 77,34% | 78,37% | 80,04% | 80,08% | 83,60% | 79,89% |
| Toxo IgM (+) | 10 | 9 | 8 | 7 | 5 | 39 |
| %Toxo IgM (+) | 1,96% | 1,81% | 1,66% | 1,43% | 1,18% | 1,62% |
| Toxo Aidez Baja | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |

Gráfica 12. Serología Toxoplasmosis IgG (2008-2012).

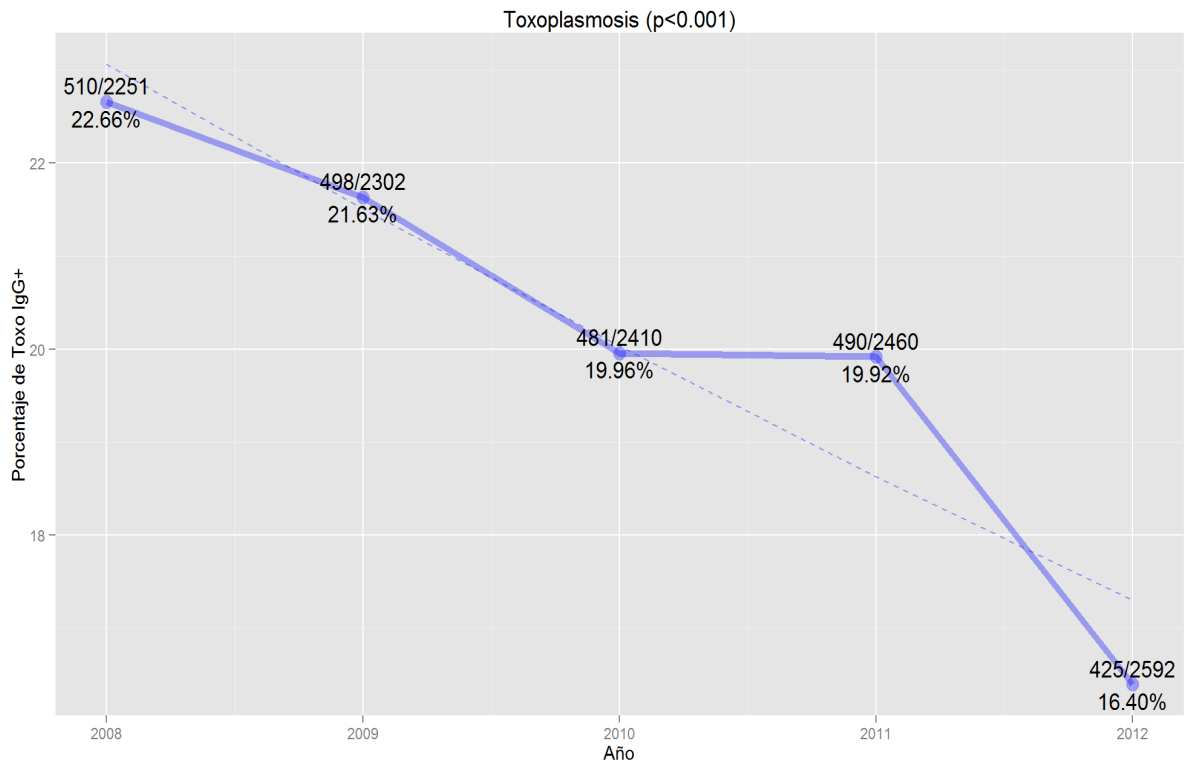


Gráfica 13. Serología Toxoplasmosis IgG/IgM (2008-2012).



El descenso en nuestra serie temporal de serología de toxoplasmosis IgG (+), ha sido de un valor máximo del 22,66 % (año 2008) y un valor mínimo del 16,40 % (año 2012). En conclusión, queda representada en la Gráfica 14, **la línea de tendencia que expresa descenso y tiene significación estadística.** $p < 0,001$.

Gráfica 14. Línea de tendencia y significación estadística Toxoplasmosis IgG (+) (208-2012).



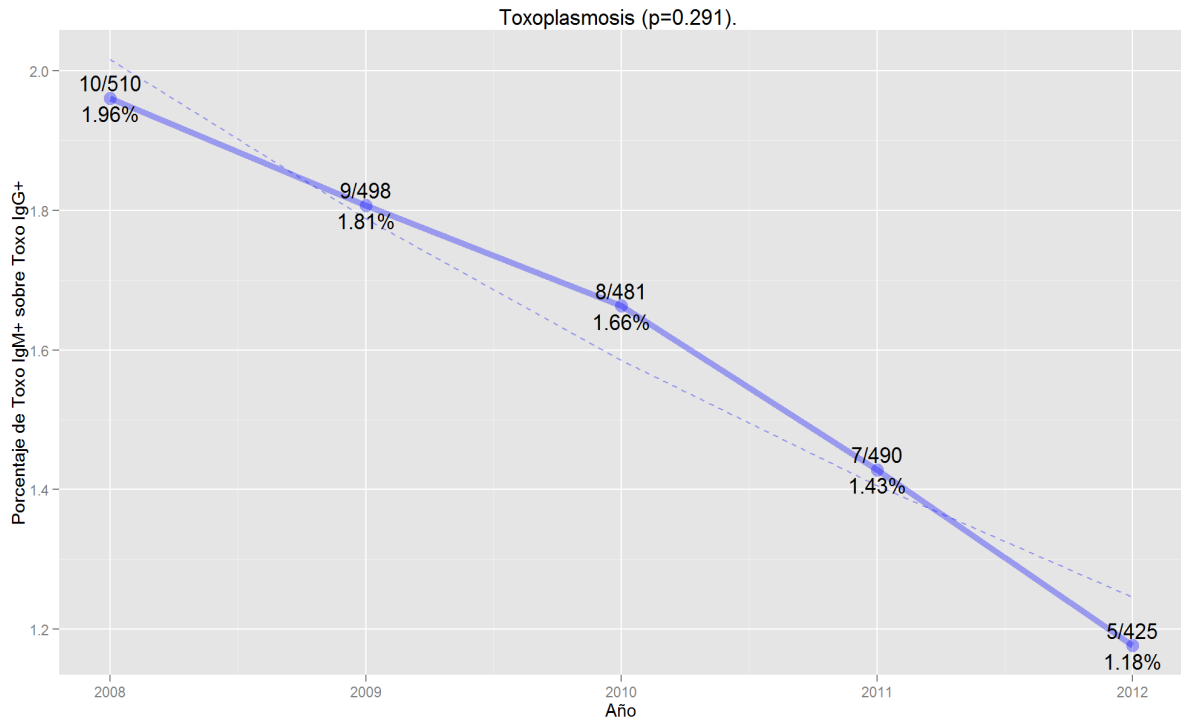
La línea de puntos representa la línea de tendencia

- Resultados para IgM Toxoplasmosis.

Por otro lado, respecto a la determinación de toxoplasmosis IgM, practicada en las muestras IgG (+), el descenso en nuestra serie temporal (Gráfica 15), no tiene significación estadística ($p=0,291$).

En nuestra serie temporal la presencia de IgM aunque es descendente numéricamente, no tiene significación estadística.

Gráfica 15. Línea de tendencia y significación estadística de Toxoplasmosis IgM (+) en muestras IgG(+) (2008-2012).



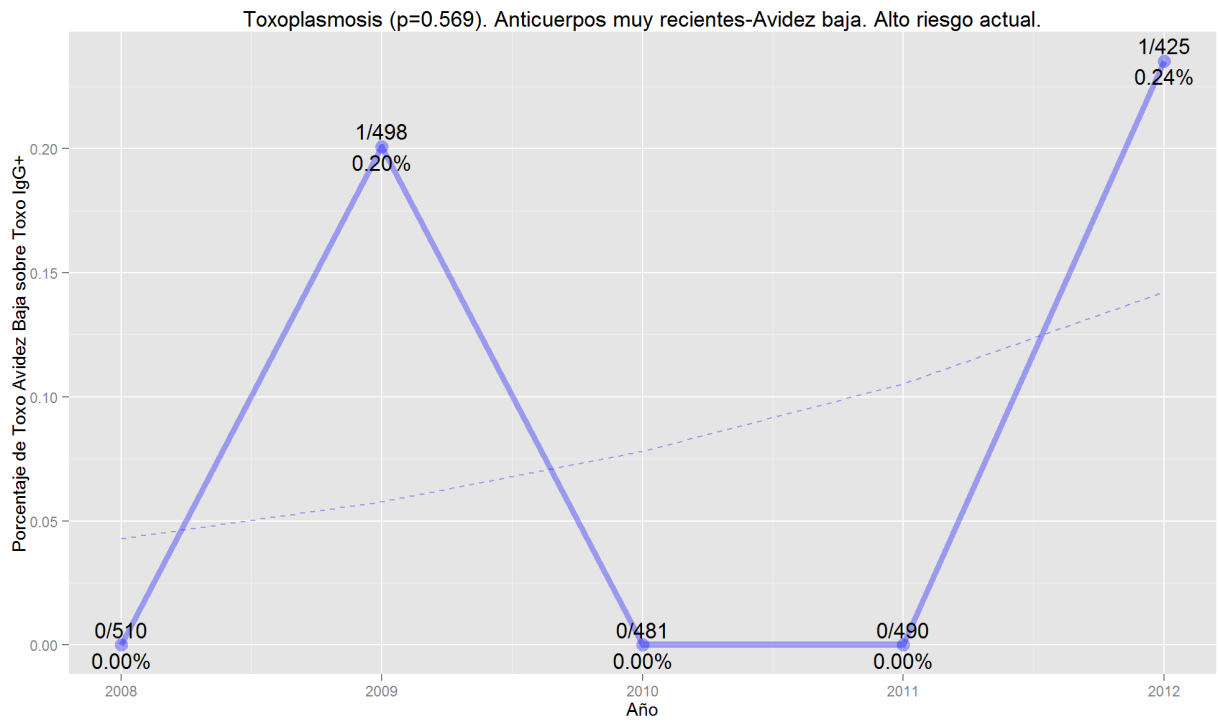
La línea de puntos representa la línea de tendencia

- Resultados Aidez para IgG Toxoplasmosis

“Para confirmar las infecciones agudas adquiridas en los 4 meses últimos por la gestante” y en relación con la fase temporal del embarazo, analizamos el parámetro Aidez de las IgG (+).

No se ha obtenido línea de tendencia con significación estadística ($p=0,569$) y nuestro valor máximo fue de 1 caso compatible con infección aguda en 2009 y otro caso en 2012. En ambos se obtuvo “negatividad de incremento del título” respecto a seroconversión de IgG. (Gráfica 16)

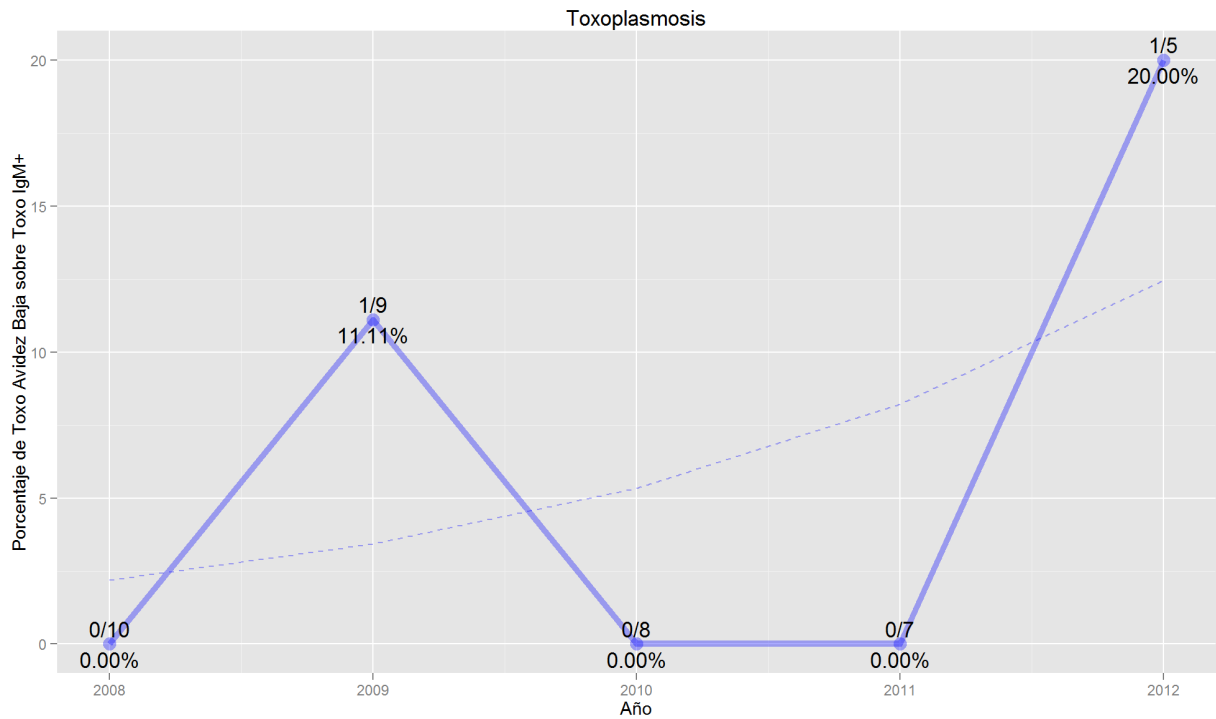
Gráfica 16. Línea de tendencia y significación estadística de Toxo avidéz baja sobre Toxoplasmosis IgG (+) (2008-2012).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

En la gráfica 17, representamos la Aidez Baja para IgG (+) sobre las IgM (+).

Gráfica 17. Línea de tendencia y significación estadística de Toxo Aidez Baja (+) sobre Toxoplasmosis IgM (+).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

4.2.3 RESULTADOS VIRUS HEPATITIS B.

En nuestro Estudio, a la población embarazada del Área Sanitaria Cádiz Norte, le realizamos determinaciones en suero de HBsAg durante los años 2008 a 2012 para tratar de detectar las “embarazadas con infección” por VHB y consideradas como portadoras del VHB.

En el año 2008 estudiamos 2.251 embarazadas de nuestra Área Sanitaria y nos encontramos con 10 casos positivos para HBsAg lo que representa que el **0,44 %** de todos los casos estudiados eran portadoras de VHB, frente al **99,56 %** que fueron HBsAg (-).

A las gestantes HBsAg Positivos se les determinó HBeAg como marcador de replicación viral y el resultado fue que, de estas 10 HBsAg (+), 3 eran además HBeAg (+), lo que representa, en nuestro estudio, del año 2008, que el **30 %** de las embarazadas HBsAg (+) son además HBe (+), doble antigenemia, indicativo de alta replicación viral y contagiosidad y por tanto de alta probabilidad de transmisión de madre a hijo, transmisión vertical/perinatal. De las 2.251 embarazadas estudiadas este año, la doble antigenemia supone que el 0,13 % del total de las embarazadas estudiadas tienen doble antigenemia positiva.

De las 10 embarazadas HBsAg (+), 7 dieron HBe negativo, lo que representa que el 70 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBeAg negativo.

De las 10 embarazadas HBsAg (+), 4 el (40 %) conocían previamente ser portadoras del VHB y 6, el (60 %) desconocían ser portadoras del VHB y fue un hallazgo en el transcurso del estudio serológico durante el embarazo, de aquí la importancia de la determinación del HBsAg durante el embarazo y la detección de posibles portadoras, con el fin de aplicar las medidas preventivas en la transmisión del VHB de madre a hijo, e incluso en su entorno domiciliario o próximo y para conocimiento en futuros embarazos.

En el año 2009 estudiamos 2.302 embarazadas de nuestra Área Sanitaria y nos encontramos con 11 casos positivos para HBsAg lo que representa el **0,48 %** de todos los casos estudiados. Frente al 99,52 % que dió HBsAg (-).

A las 11 gestantes HBsAg Positivos se les determinó HBeAg como marcador de replicación viral y el resultado fue que de estas 11 HBsAg (+), 2 eran además HBeAg (+), lo que representa, en nuestro estudio, del año 2009, que el 18,18 % de las embarazadas HBsAg (+) son además HBeAg (+) indicativo de alta replicación y

contagiosidad por tanto de alta probabilidad de transmisión de madre a hijo, frente al 81,82 % que dieron resultado de HBeAg (-).

De las 11 embarazadas HBsAg (+), 9 dieron HBeAg negativo, lo que representa que el 81,82 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBeAg negativo.

De las 2.302 embarazadas estudiadas este año, 2 fueron HBsAg (+) y HBeAg (+) lo que supone que el 0,08 % del total de las embarazadas estudiadas, tienen doble antigenemia (HBsAg y HBeAg) positiva.

De las 11 embarazadas HBsAg (+), 5, el 45,5 % conocían previamente ser portadoras del VHB y 6, el 54,55 % desconocían ser portadoras del VHB y fue un hallazgo en el transcurso del estudio serológico durante el embarazo, de aquí la importancia de la determinación del HBsAg durante el embarazo y la detección de posibles portadoras, con el fin de aplicar las medidas preventivas en la transmisión del VHB de madre a hijo.

En el año 2010 estudiamos 2.410 embarazadas de nuestra Área Sanitaria y nos encontramos con 12 casos positivos para HBsAg lo que representa el **0,50 %** de todos los casos estudiados frente al 99,50 % que nos dio HBsAg (-).

A las 12 gestantes HBsAg Positivos se les determinò HBeAg como marcador de replicación viral y el resultado fue que de estas 12 HBsAg (+), 2 eran además HBeAg (+), lo que representa, en nuestro estudio, para el año 2010, que el 16,67 % de las embarazadas HBsAg (+) son además HBeAg (+) indicativo de alta replicación y contagiosidad por tanto de alta probabilidad de transmisión de madre a hijo.

De las 12 embarazadas HBsAg (+), 10 dieron HBeAg negativo, lo que representa que el 83,33 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBeAg negativo.

De las 2.410 embarazadas estudiadas este año, 2 fueron HBsAg (+) y HBeAg (+) lo que supone que el 0.08 % del total de las embarazadas estudiadas, tienen doble antigenemia (HBsAg y HBeAg) positiva.

De las 12 embarazadas HBsAg (+), 5, el 41,66 % conocían previamente ser portadoras del VHB y 7, el 58,34 % desconocían ser portadoras del VHB y fue un hallazgo en el transcurso del estudio serológico durante el embarazo, de aquí la importancia de la determinación del HBsAg durante el embarazo y la detección de posibles portadoras, con el fin de aplicar las medidas preventivas en la transmisión del VHB de madre a hijo.

En el año 2011 estudiamos 2.460 embarazadas de nuestra Área Sanitaria y nos encontramos con 9 casos positivos para HBsAg lo que representa el **0,37 %** de todos los casos estudiados.

A las gestantes HBsAg Positivos se les determinó HBeAg como marcador de replicación viral y el resultado fue que de estas 9 HBsAg (+), 1 era además HBeAg (+), lo que representa, en nuestro estudio, para el año 2011, que el 11,11 % de las embarazadas HBsAg (+) son además HBeAg (+) indicativo de alta replicación y contagiosidad por tanto de alta probabilidad de transmisión de madre a hijo.

De las 9 embarazadas HBsAg (+), 8 dieron HBeAg negativo, lo que representa que el 88,89 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBe negativo.

De las 2.460 embarazadas estudiadas este año, 1 fueron HBsAg (+) y HBeAg (+) lo que supone que el 0.04 % del total de las embarazadas estudiadas, tienen doble antigenemia (HBsAg y HBeAg) positiva.

De las 9 embarazadas HBsAg (+), 3, el 33,33 % conocían previamente ser portadoras del VHB, y 6 el 66,67 % desconocían ser portadoras del VHB y fue un hallazgo en el transcurso del estudio serológico durante el embarazo, de aquí la importancia de la determinación del HBsAg durante el embarazo y la detección de posibles portadoras, con el fin de aplicar las medidas preventivas en la transmisión del VHB de madre a hijo.

En el año 2012 estudiamos 2.592 embarazadas de nuestra Área Sanitaria y nos encontramos con 8 casos positivos para HBsAg lo que representa el **0,31 %** de todos los casos estudiados.

A las 8 gestantes HBsAg Positivos se les determinó HBeAg como marcador de replicación viral y el resultado fue que de estas 8 HBsAg (+), 1 era además HBeAg (+), lo que representa, en nuestro estudio, para el año 2012, que el 12,50 % de las embarazadas HBsAg (+) son además HBeAg (+) indicativo de alta replicación y contagiosidad por tanto de alta probabilidad de transmisión de madre a hijo.

De las 8 embarazadas HBsAg (+), 7 dieron HBeAg negativo, lo que representa que el 87,5 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBeAg negativo.

De las 2.592 embarazadas estudiadas este año, 1 fueron HBsAg (+) y HBeAg (+) lo que supone que el 0.038 % del total de las embarazadas estudiadas, tienen doble antigenemia (HBsAg y HBeAg) positiva.

De las 8 embarazadas HBsAg (+), 3, el 37,50 % conocían previamente ser portadoras del VHB, y 5, el 62,50 % desconocían ser portadoras del VHB y fue un hallazgo en el transcurso del estudio serológico durante el embarazo, de aquí la importancia de la determinación del HBsAg durante el embarazo y la detección de posibles portadoras, con el fin de aplicar las medidas preventivas en la transmisión del VHB de madre a hijo.

En el período 2008 – 2012 se estudiaron **12.015 embarazadas** para estudio de portadoras del VHB, en este período se detectaron 50 casos de HBsAg (+), lo que representa que el **0,42 %** de todos los estudios de embarazadas para VHB dieron Positivo a HBsAg.

En este período de tiempo de los 50 casos HBsAg (+), 9 fueron además HBeAg (+) lo que representa en nuestro estudio (**2008-2012**) que el 17,69 % de las embarazadas HBsAg (+) son portadores crónicos replicativo del Virus de la Hepatitis B.

De las 50 embarazadas HBsAg (+), 41 dieron HBeAg negativo, lo que representa que el 82,31 % de las embarazadas con resultado HBsAg positivas nos dieron resultado HBeAg negativo.

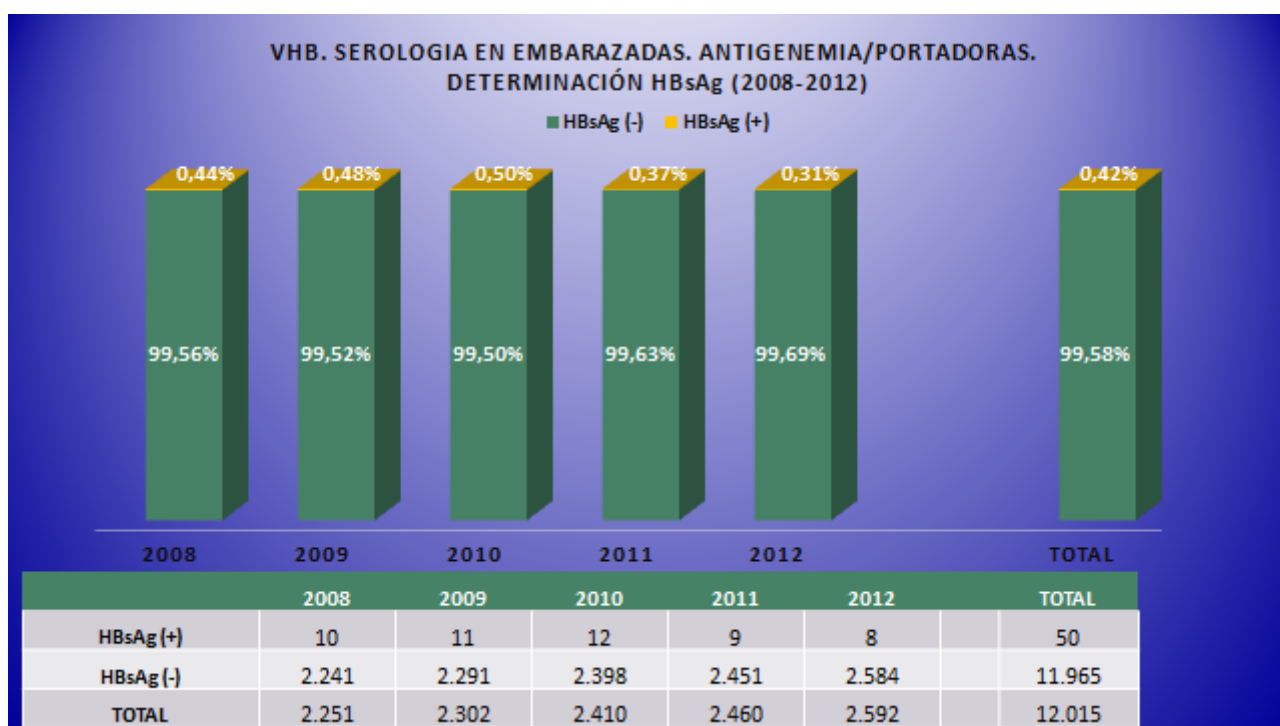
El porcentaje de gestantes portadoras con doble antigenemia (HBsAg + HBeAg+) fue del **0.07 %** .

El 39,58 % de las embarazadas con resultado HBsAg (+) conocían previamente ser portadoras del VHB y un 60,42 % desconocían en el momento de la realización de la prueba ser portadoras del VHB. Lo conocían ellas y el servicio de Obstetricia por primera vez, a los efectos de su Historia Clínica, desde donde nos indicaron la ausencia o desconocimiento respecto a estado vacunal previo.

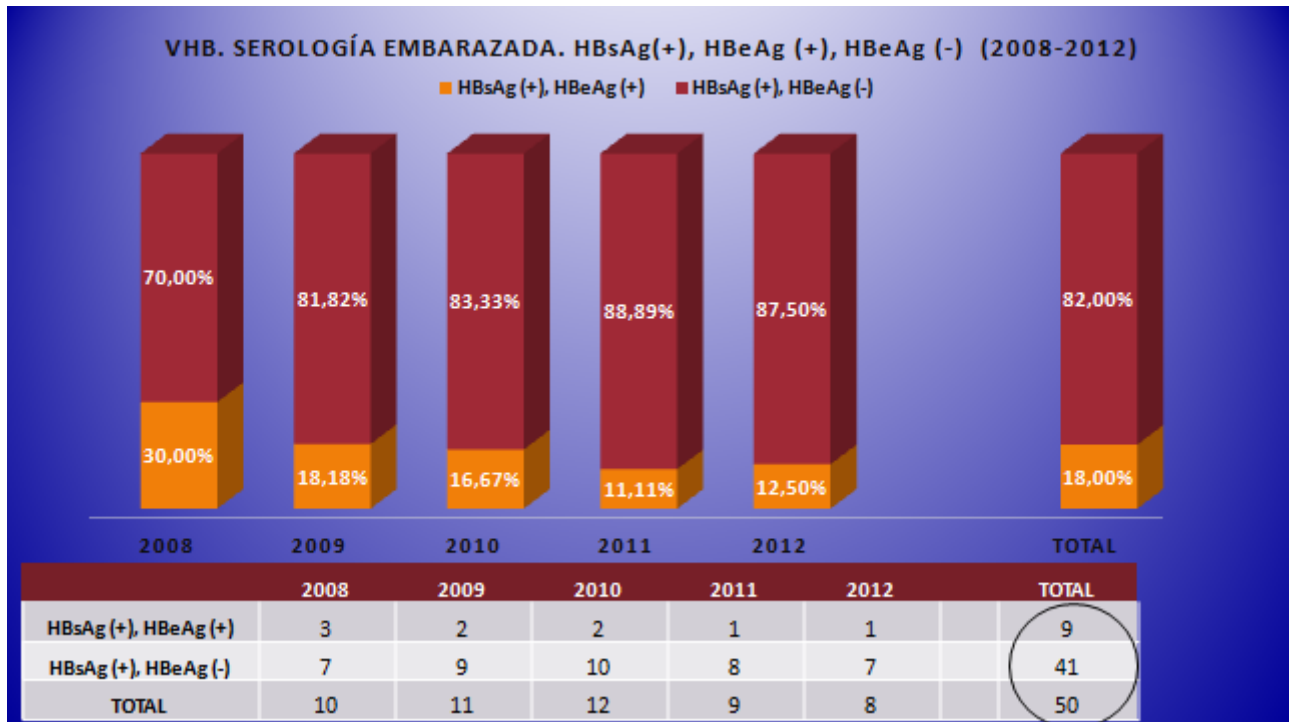
Tabla 11. Serología Virus Hepatitis B (2008-2012).

| HEPATITIS -B | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|--|--------|--------|--------|--------|--------|---------------|
| Nº Embarazadas | 2.251 | 2.302 | 2.410 | 2.460 | 2.592 | 12.015 |
| HBsAg + | 10 | 11 | 12 | 9 | 8 | 50 |
| % HBsAg (+) | 0,44% | 0,48% | 0,50% | 0,37% | 0,31% | 0,42% |
| HbeAg + | 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 9 |
| %HbeAg (+) | 30,00% | 18,18% | 16,67% | 11,11% | 12,50% | 17,69% |
| HBe (-) | 70 % | 81,82% | 83,33% | 89,89% | 87,5% | 82,31% |
| Doble antigenemia | 0,13% | 0,08% | 0,08% | 0,04% | 0,03% | 0,07% |
| Nº Portadoras Conocedoras HBsAg | 4 | 5 | 5 | 3 | 3 | 20 |
| % | 40% | 45,45% | 41,66% | 33,33% | 37,50% | 39,58% |
| Nº Portadoras No conocedoras | 6 | 6 | 7 | 6 | 5 | 30 |
| % | 60% | 54,55% | 58,34% | 66,67% | 62,50% | 60,42% |

Gráfica 18. Serología HBsAg (2008-2012).

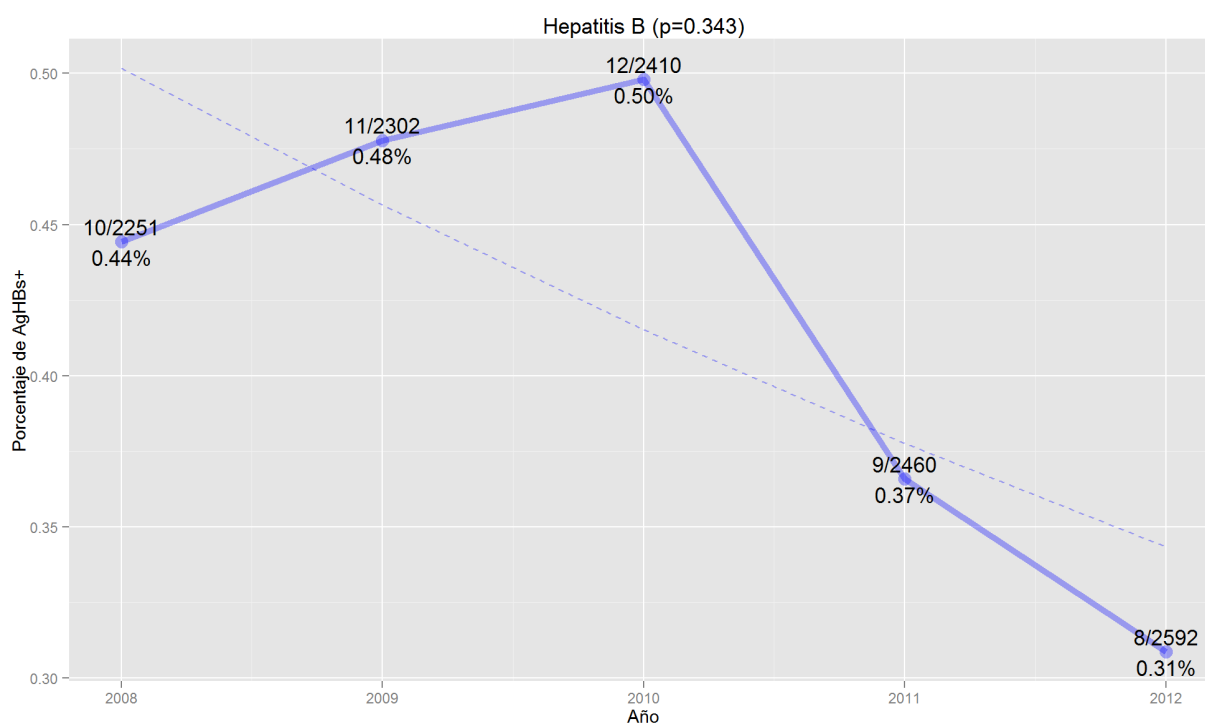


Gráfica 19. Serología HBsAg (+) y HBeAg (+/-) para VHB.



En nuestra serie temporal representada en la Gráfica 20, el valor máximo se obtuvo en el año 2010 con 12/2410 (0,50 %), de portadoras de HBsAg (+) y el valor mínimo se obtuvo en el año 2012 con 8/2592 (0,31 %). Esta **línea de tendencia ligeramente descendente, no tiene significación estadística** ($p= 0,343$).

Gráfica 20. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de HBsAg (+).



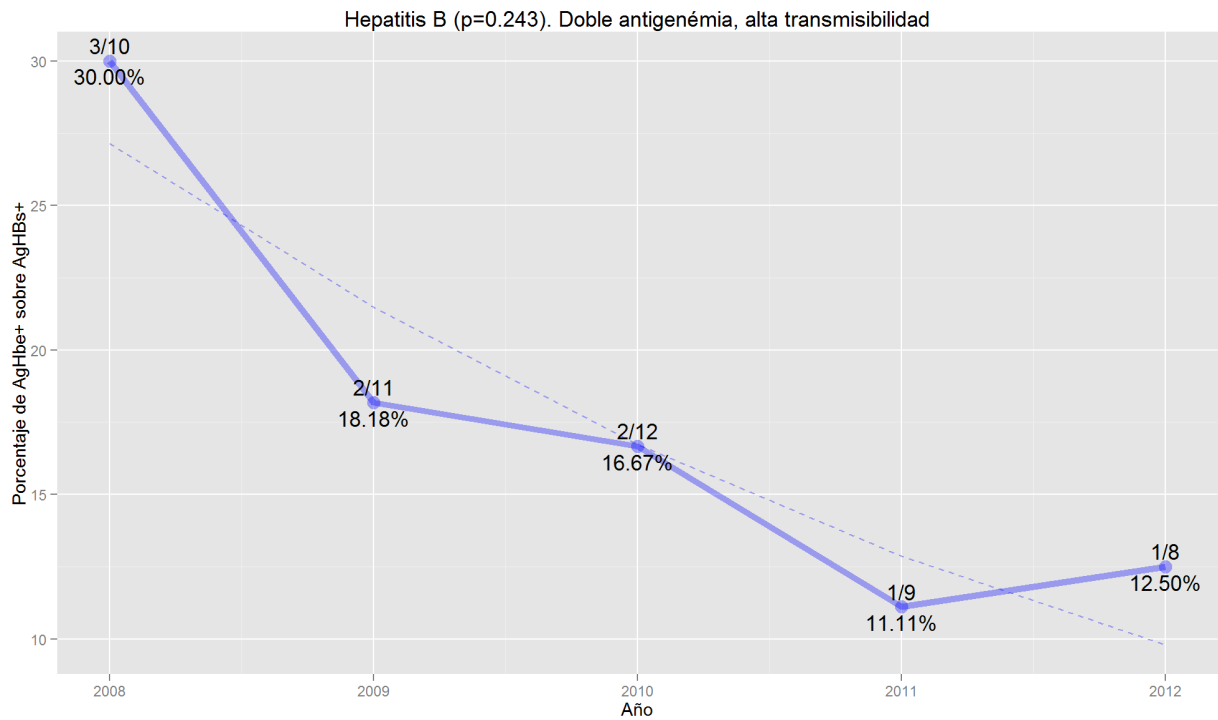
La línea de puntos representa la línea de tendencia

De las embarazadas portadoras, en nuestra serie temporal, se realizó el HBeAg para valorar la “doble antigenemia” que es calificada como riesgo de alta transmisibilidad al feto y perinatal. En la Grafica 21 para la serie temporal representamos que “sobre total de portadoras HBsAg” obtuvimos un valor máximo en el año 2008 del 30 % y un valor mínimo en el año 2011 del 11,11 % . **La línea de tendencia es descendiente pero no tiene significación estadística** (p= 0,243)

Para valorar los datos “sobre el total de gestantes” a todas las portadoras positivas se les estudió la antigenemia HBeAg, obteniendo valor máximo de 0.13 % (año 2008) y valor mínimo de 0.03 % (año 2012).

Estimamos interesante valorar en las madres portadoras “Si eran conocedoras o no” de información anterior sobre tal hallazgo de positividad HBsAg. Para embarazadas en los que el hallazgo de antigenemia (+) fue “sorpresivo por no conocerlo con anterioridad”, se obtuvo valores entre un máximo de 66,66 % en el año 2011 y un mínimo de 54,55 % en el año 2009.

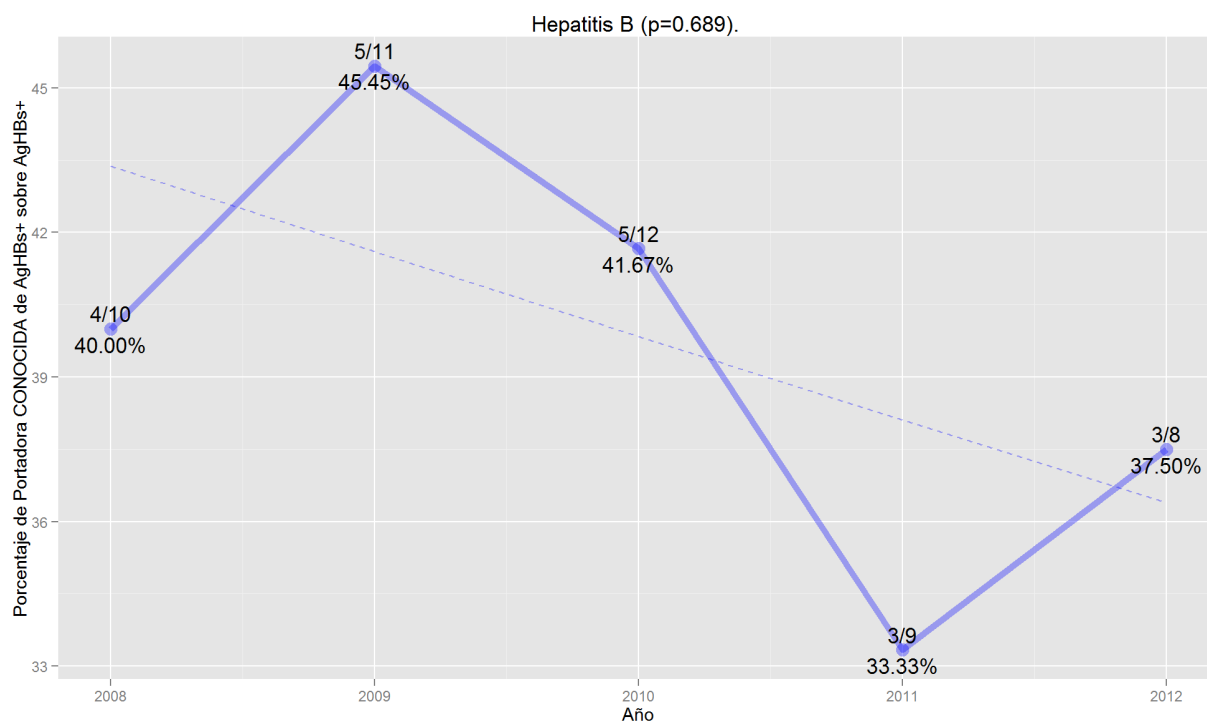
Gráfica 21. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje HBeAg (+) sobre HBsAg (+).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

En la Gráfica 22 expresamos el % de gestantes portadoras de HBsAg que sí lo conocían. Obtuvimos un valor máximo en 2009 del 45,45 % y un valor mínimo en el año 2011 de 33,33 %. Tras analizar la línea de tendencia es discretamente descendente y no tiene significación estadística (p= 0,689). Practicamente el 60 % para la serie temporal lo desconocía previamente, hasta la determinación en el cribado serológico con motivo de su embarazo.

Gráfica 22. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de gestantes que conocían ser portadoras.(2008-2012).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

4.2.4. RESULTADOS SÍFILIS.

Hemos realizado un estudio serológico para sífilis a las embarazadas del Área Sanitaria Cádiz Norte, siguiendo las pautas recomendadas en el Manual de la Consejería año 2005 “Embarazo, Parto y Puerperio” y de acuerdo a las solicitudes analíticas.

A todas se les realizó una prueba de *screening* “No Treponémico” R.P.R. y a los casos con resultado Positivo, se les realizó una prueba *confirmatoria*, prueba treponémica, FTAbs-IgM.

En el año 2008 se realizaron prueba para control de Sífilis (R.P.R.) a 2.251 embarazadas, obteniendo resultados Positivo de R.P.R. en 5 casos, lo que supone el **0,22 %** de positividad de R.P.R. del total de embarazadas estudiadas para este año.

El 99,78 % de los casos dió resultado Negativo para Sífilis, 2.246 R.P.R. (-) sobre los 2.251 casos de embarazadas

En el año 2009 estudiamos 2.302 embarazadas, con resultado Positivo para R.P.R. en 6 casos, lo que representa un **0,26 %** de Positividad del total de embarazadas estudiadas.

El 99,74 % de los casos estudiados nos dió resultado Negativo para el estudio de Sífilis R.P.R. (-), 2.296 casos, sobre los 2.302 embarazadas estudiadas.

En el año 2010 se estudiaron 2.410 embarazadas con resultado Positivo para R.P.R. en 7 ocasiones, lo que supone el **0,29 %** de Positividad de los casos estudiados.

El 99,71 % de los casos de embarazadas estudiadas este año, dió un resultado R.P.R. (-) para sífilis, 2.403 casos, sobre 2.410 estudiados.

En el año 2011, se estudiaron 2.460 embarazadas con resultado de R.P.R. (+) en 6 ocasiones, lo que supone el **0,24 %** de Positividad de las embarazadas estudiadas.

El 99,76 % de las embarazadas dió resultado Negativo para el estudio de R.P.R., 2.454 embarazadas, sobre 2.460 casos estudiados.

En el año 2012, se estudiaron 2.592 embarazadas con resultado Positivo para R.P.R. en 5 ocasiones, lo que supone el **0,19 %** de Positividad del total de embarazadas estudiadas.

El 99,81 % de las embarazadas estudiadas dió resultado R.P.R. Negativo para sífilis, 2.587 embarazadas, sobre 2.592 estudiadas.

Se estudiaron para Sífilis (R.P.R.) un total de 12.015 embarazadas en el periodo de 5 años (Enero 2008 a Diciembre 2012).

Resultaron R.P.R. (+) en 29 embarazadas en el quinquenio.

Esto supone que el **0,24 %** sobre el total de embarazadas estudiadas, en el periodo 2008 – 2012, 12.015 gestantes, se consideraron presuntivos de Sífilis en el embarazo.

Y el 99,76 % de la población embarazada dió resultado R.P.R. (-).

A las 29 embarazadas que nos dieron resultado R.P.R. (+), test No Treponémico, se les determinó la prueba test FTA-Abs IgM y todas ellas, las 29, nos dieron resultado NEGATIVO, lo que supuso el 0% de casos confirmados para Sífilis, en todo el periodo estudiado (2008-2012).

Hay que valorar e interpretar muy bien los resultados de positividad del R.P.R. pues el propio embarazo puede dar lugar a reacción “Falso Positivo”, de ahí la importancia de que a toda embarazada R.P.R. (+), se le practique otra prueba “Treponémica” para “confirmar la Positividad”, en este caso se realizó “FTA-Abs-IgM” como test de confirmación.

Hay que valorar siempre la interpretación clínica de este dato analítico y solo en caso de confirmación de Sífilis por prueba Treponémica, (FTA-Abs IgM) se pondrán en tratamiento por el Servicio de Obstetricia.

Sí nos serviría la técnica R.P.R. para hacer el “seguimiento y la evolución del proceso tras la aplicación del tratamiento”.

Del total de embarazadas estudiadas, 12.015, el 99,76 % de ellas nos dió NEGATIVO a la prueba de R.P.R.

Hemos podido contrastar nuestros datos obtenidos en embarazadas, en el periodo Enero 2008 a Diciembre de 2012, con un total de determinaciones de 12.015. Nuestros datos son concordantes con los datos obtenidos por el Centro de Transfusiones Sanguíneas de Jerez, en el mismo periodo (Enero de 2008 y Diciembre de 2012), en el que realizaron prueba de Sífilis mediante técnica de R.P.R. a 174.593 donantes de sangre.

Nosotros hemos obtenido unos datos de Positivo para R.P.R. del 0,24 % de las embarazadas estudiadas y en el “Centro Regional de Transfusiones”(CRTS), obtienen unos datos del 0,01 % de R.P.R. (+) para los donantes estudiados. Hay que resaltar que

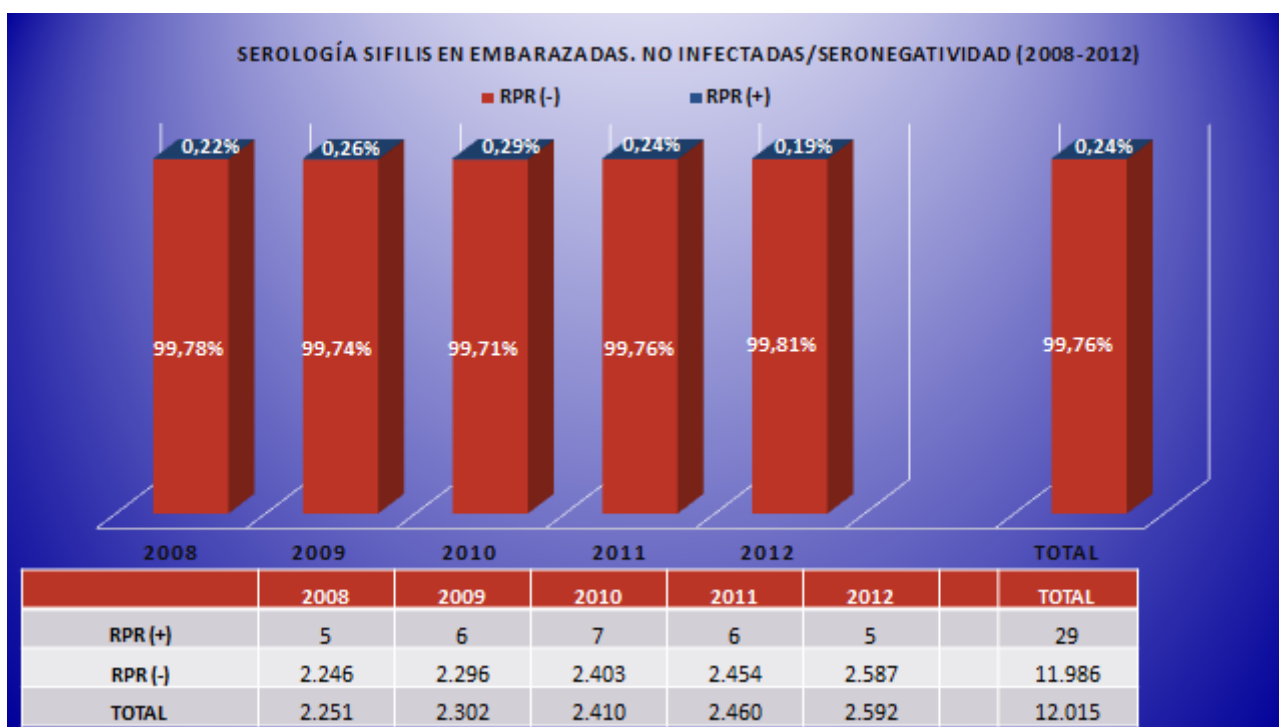
el C.R.T.S. no ha efectuado confirmación analítica, pues con solo el test de R.P.R. “No treponémico” con hallazgo Positivo, el hipotético donante es “descartado como donante” para todo hemoderivado, sin ser preciso su confirmación. La diferencia de mayor porcentaje en las muestras de embarazadas (0.24 %) respecto a los datos del C.R.T.S, se sustentan en que estos últimos son perteneciente a población de ambos sexos y además la mujer embarazada nunca puede ser estudiada como donante de hemoderivados en tal situación –gestante, según la legislación vigente.

Hay que hacer la salvedad de que nosotros “solo estudiamos a población embarazada” en este período y el Centro Regional de Transfusiones, realizó sus determinaciones a “todos los posibles donantes” del Área Sanitaria Norte de Cádiz.

Tabla 12. Serología Sífilis (2008-2012).

| SÌFILIS | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|--------------------------|-------------|--------------|-------------|--------------|-------------|--------------|
| Nº PACIENTES | 2.251 | 2.302 | 2.410 | 2.460 | 2.592 | 12.015 |
| R.P.R. (+) | 5 | 6 | 7 | 6 | 5 | 29 |
| R.P.R. (+) % | 0,22% | 0,26% | 0,29% | 0,24% | 0,19% | 0,24% |
| FTA-Abs IgM | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| RPR (-) | 2.246 | 2.296 | 2.403 | 2.454 | 2,587 | 11.986 |
| RPR (-) % | 99,78% | 99,74% | 99,71% | 99,76% | 99,81% | 99,76% |
| FTA.Abs IgM (-) % | 100% | 100 % | 100% | 100 % | 100% | 100 % |

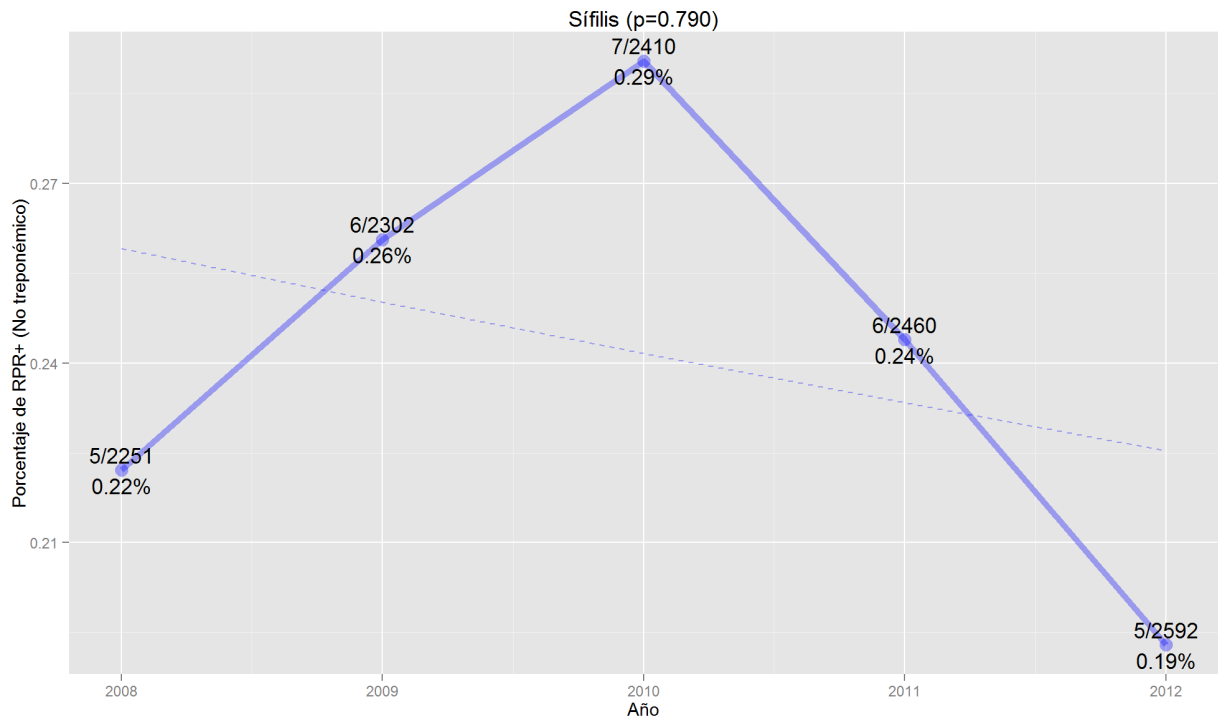
Gráfica 23. Serología Sífilis. Prueba No Treponémica (RPR). (2008-2012).



En la Gráfica 23 representamos los resultados para el test “No Treponemico” R.P.R. en la serie temporal, obteniendo un valor máximo de positividad de 0,29 % (2010) y un valor mínimo de 0,19 %.(2012).

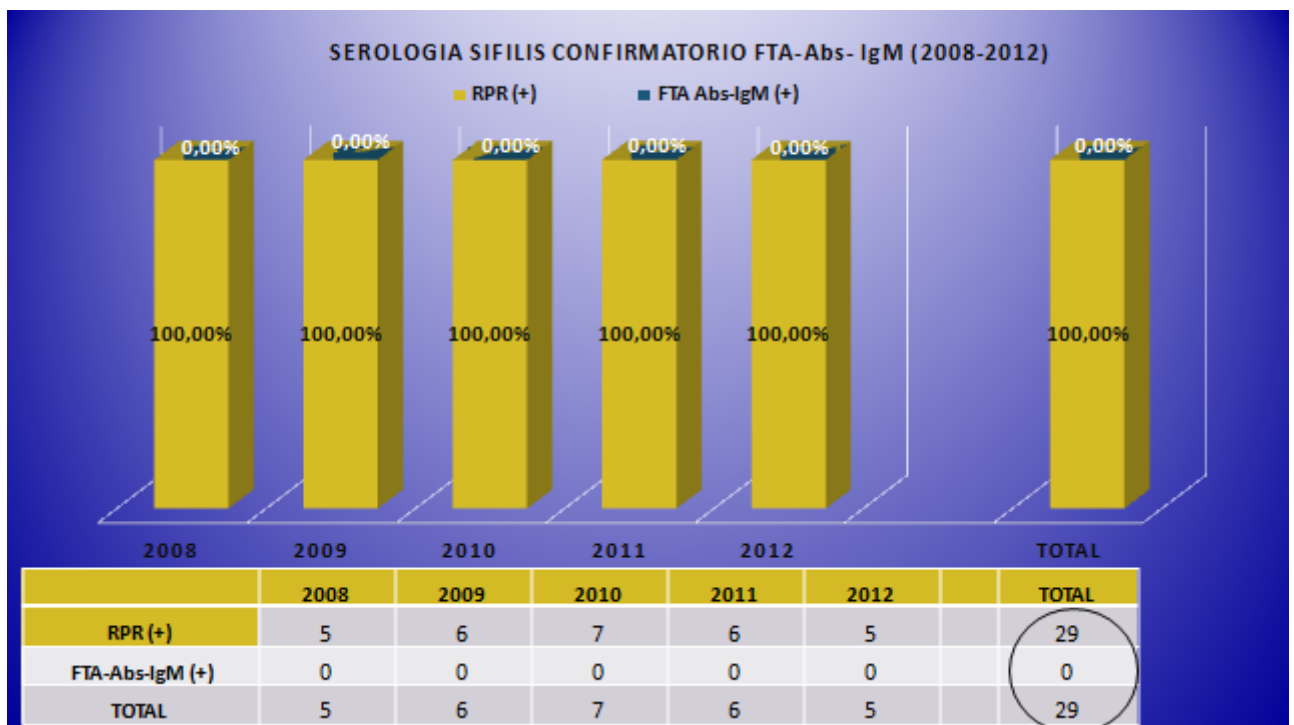
En la grafica 24 representamos para la positividad de R.P.R., **la línea de tendencia en los porcentajes, que no ha tenido significación estadística** ($p= 0,790$).

Gráfica 24. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de RPR (+). Período 2008-2012.



La línea de puntos representa la línea de tendencia

Gráfica 25. Serología Sífilis. Prueba Treponémica confirmatoria (FTA-Abs IgM). 2008-2012.

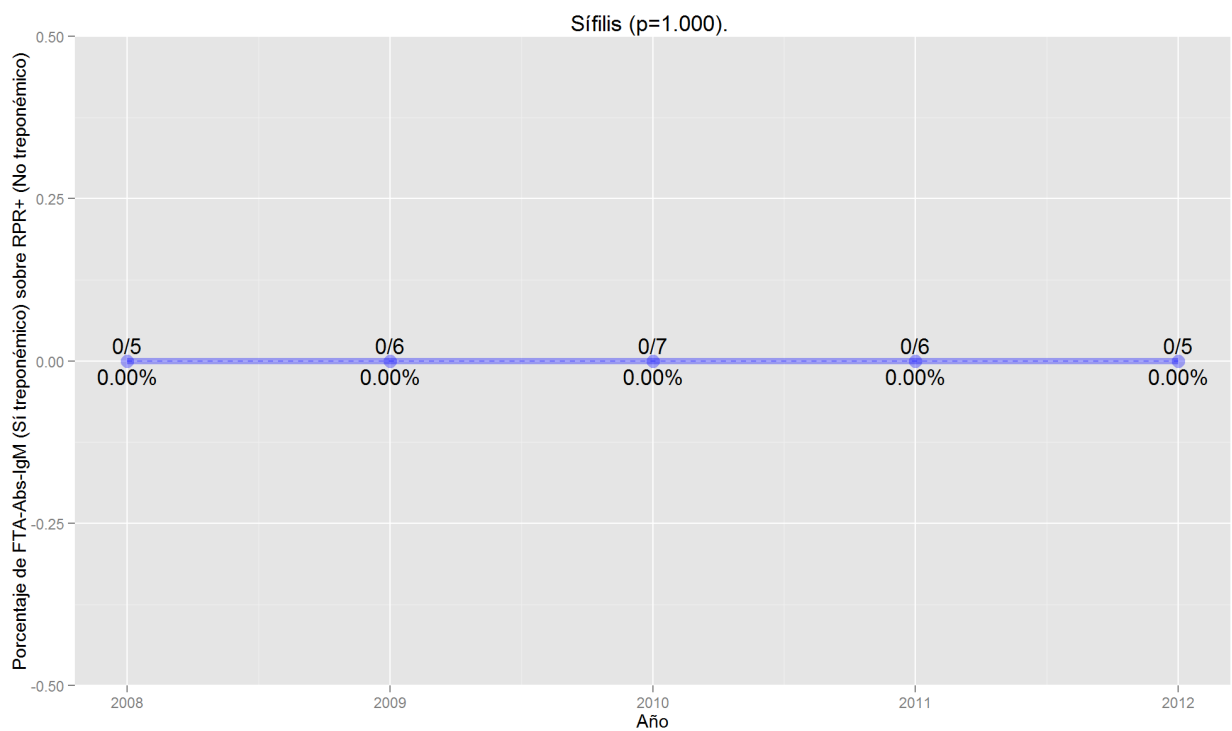


Siendo el R.P.R un test presuntivo, que además en la embarazada puede corresponder a un falso (+), a estas embarazadas con test No Treponémico (+), se les realizó un test Treponémico para valorar la verdadera positividad.

Realizamos sobre los RPR (+), el test FTA-Abs IgM (test Treponémico), obteniendo en todos los casos, un resultado de FTA-Abs IgM Negativo. Esto es para toda nuestra serie, 0 % de positividad del test confirmatorio (Grafica 25).

Estos resultados para FTA-Abs-IgM como confirmatorio en toda la serie han sido constantemente negativo, su línea de tendencia no tiene significación estadística ($p=1,000$) como se indica en la Gráfica 26.

Gráfica 26. Línea de tendencia y significación estadística del porcentaje de FTA-Abs-IgM(+), sobre RPR(+).



La línea de puntos representa la línea de tendencia, montada sobre la línea continua

4.2.5 RESULTADOS VIH.

A fin de detectar el estado frente al VIH en todas las gestantes de nuestra Área Sanitaria se les ofreció información adecuada y “la posibilidad” de realizar una serología de VIH, a todas, y a las que “**a criterio de Obstetricia**” se encontraban dentro de algún grupo-práctica de riesgo para VIH

La prueba del VIH se realizó junto al resto de pruebas serológicas en la primera visita y tras una información adecuada de los posibles riesgos para la madre y el feto. No ha sido test generalizado en las gestantes sino “selectivo en esta Área Sanitaria de Jerez”.

En los casos en los que la pareja era conocida como infectada, se propusieron medidas de educación para la adopción de medidas preventivas que disminuyan el riesgo de transmisión.

En el **año 2008** se realizaron 203 determinaciones que solicitaron los Facultativos, para gestantes. Como resultados para Anticuerpos anti VIH (test presuntivo), todos dieron resultado negativo. El 100 % de las gestantes testadas con algún tipo de riesgo, dió Negativo para VIH.

En el **año 2009** estudiamos a 230 embarazadas con algún factor de riesgo. De todas las embarazadas estudiadas, todas (100 %) dieron resultado Negativo para Ac. del VIH.

En el **año 2010** se estudiaron para Ac. frente a VIH a 215 embarazadas y todas (100 %) dieron Negativo para Ac. del VIH.

En el **año 2011** se estudiaron 218 embarazadas con algún tipo de riesgo para VIH y **1** sola dió POSITIVO para Ac.frente a VIH. “**Positividad en el 0.46 % sobre las gestantes testadas en ese año**” .Era gestante de riesgo, usuaria de drogas por vía parenteral (UDVP). Esta misma paciente es el caso de coinfección con VHC registrada en nuestra serie.

Se le realizó técnica confirmatoria de Western-Blot con resultado positivo; carga viral, por técnica de PCR y el nº de copias fue de 30.000 copias/ml. Se le realizó seguimiento durante el embarazo que llevaba la Unidad de Infecciosas. El Servicio de Obstetricia conjuntamente con Infecciosas, realizó el tratamiento con antirretrovirales. La Unidad de Neonatología desde el momento del parto, se encargó de la opción terapéutica al recién nacido y posterior seguimiento.

Para este año pues se obtuvo que para gestantes testadas selectivamente para VIH, el 99.54 % tuvo resultado Negativo y el 0.46 % resultado Positivo serológico y con viremia.

En el año 2012 se realizaron 198 determinaciones a embarazadas con algún factor de riesgo para VIH y todas (100 %) dieron Negativo para Ac. de VIH.

En el período comprendido entre 2008 y 2012 se realizaron 1064 determinaciones de VIH a las embarazadas (consideradas por Obstetricia) de nuestra Área Sanitaria que presentaban algún tipo de riesgo para el VIH, En la Tabla 13 expresamos estos resultados para toda la serie. El 99,91 % de las estudiadas dió resultado negativo serológico para el VIH (Grafica 27). Solo una gestante, que representó porcentaje del (0.093 %) arrojó resultado Positivo, que se confirmó con técnica de Western-Blot y fue analizada la carga viral. No hemos registrado ningún test presuntivo de VIH falso positivo en gestantes.

Tabla 13. Resultados de Serología VIH en gestantes a solicitud por pertenencia a grupo-práctica de riesgo (2008-2012).

| VIH | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|------------------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|-------------|---------------|
| Estudio Ac.VIH(1/2) | 203 | 230 | 215 | 218 | 198 | 1.064 |
| VIH- Ac (+) | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| % VIH Ac. (+) | 0 % | 0 % | 0 % | 0,46 % | 0 % | 0,093% |
| Carga Viral (+) | NP | NP | NP | 1 | NP | 1 |
| % carga viral en Ac.VIH (+) | | | | 100% | | 100 % |

NP = No procede

Gráfica 27. Resultado Serología Ac.VIH(1/2) en gestantes (2008/2012).



Queremos especificar que serología para VIH “no era determinación usual” para toda gestante, sino que en nuestra serie temporal, sólo se ha realizado serología para valorar anticuerpos anti VIH(1/2,) “en aquellas embarazadas en las que la Unidad de Obstetricia solicitaba tal petición y siempre en base a la presencia de factores de riesgo en la mujer” (Tabla 14).

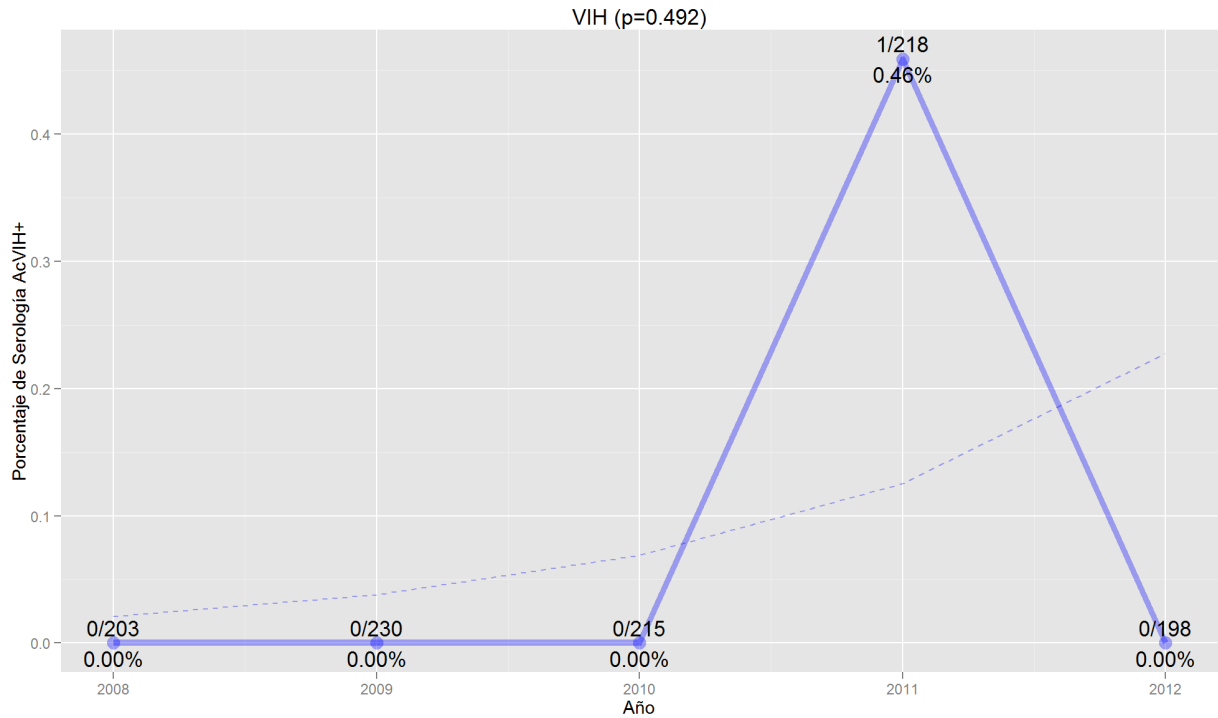
Se realizó el test a un número de embarazadas anualmente comprendidos entre un valor máximo de 230 embarazadas en 2009 y un valor mínimo de 198 embarazadas en 2012. Han totalizado 1064 gestantes analizadas.

Tabla 14. Porcentaje serología de VIH “realizadas (a solicitud de Obstetricia)” sobre el total de embarazadas.(2008-2012).

| | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| TOTAL VIH ESTUDIADAS | 203 | 230 | 215 | 218 | 198 | 1064 |
| TOTAL EMBARZADAS SERIE | 2251 | 2302 | 2410 | 2460 | 2592 | 12015 |
| % VIH REALIZADOS | 9,01% | 9,99% | 8,92% | 8,86% | 7,63% | 8,85% |

Respecto a hallazgo de serología VIH (+), en la serie temporal y dado el único hallazgo positivo, obtenemos una **línea de tendencia sin significación estadística** ($p=0,492$) (Grafica 28).

Gráfica 28. Línea de tendencia y significación estadística Serología Ac.VIH(1/2) (+).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

Prácticamente este virus tiene muy poca impregnación en nuestra población de gestantes, en las que sólo se ha estudiado “en base a sus factores-prácticas de riesgo estimado por Obstetricia”. Ha sido en base analítica el porcentaje de **0.093 %** de hallazgos positivos en población concreta para serología positiva frente a VIH en nuestra Área Sanitaria de Jerez.

4.2.6. RESULTADOS VHC.

En el año 2008 estudiamos 2.251 embarazadas para detectar Ac frente al VHC, de ellas 3 dieron Positivo, lo que supuso un **0,13 % de positividad** de los casos estudiados.

Se les realizó PCR-RNA-VHC a todos los casos positivos, dando todos los casos (3) Negativos. Ausencia de viremia VHC en la población de embarazadas

El 99,77 % de la población embarazada estudiada dió resultado negativo para anticuerpos frente al VHC en este año

En el año 2009 estudiamos 2.302 casos para anti-VHC en embarazadas y en 4 casos dio **Positivo**, lo que supuso un **0,17 %** del total de casos estudiados.

A los 4 casos se les determinó PCR-RNA-VHC dando en los 4 casos Negativo para el VHC. Ausencia de viremia.

El 99,83 % de la población de embarazadas estudiada este año dió resultado negativo para anticuerpos frente al VHC.

En el año 2010 se estudiaron 2.410 casos para anti-VHC en embarazadas, dando **Positivo** en 3 casos, lo que supone un **0,12 %** del total de casos estudiados. A los 3 casos Positivo se les realiza PCR-RNA-VHC dando en todos los casos (3) Negativo. Ausencia de viremia.

El 99,88 % de la población de embarazada estudiada este año dió resultado negativo para anticuerpos frente al VHC.

En el año 2011 se estudiaron 2.460 casos para anti-VHC en mujeres embarazadas de nuestra Área Sanitaria dando **Positivo** en 2 casos, lo que representó el **0.08%** de la población embarazada estudiada.

A los 2 casos se les realizó PCR-RNA-VHC, en 1 caso dió Negativo a la prueba de PCR y 1 caso dió positivo a la prueba PCR con carga viral Positiva, y una cifra de 1.350.000 copias/mL. Esta misma paciente, UDVP, tenía una “coinfeción con VIH”.

El 99,92 % de la población de embarazada estudiada este año dió resultado negativo para anticuerpos frente al VHC.

En el año 2012 estudiamos 2.592 casos de VHC en población embarazada de nuestra Área Sanitaria, con **2 casos Positivos** lo que representa el **0,08 %**. A estos 2 casos se les realizó la prueba de PCR-RNA-VHC dando Negativo en ambos casos.

El 99,2 % de la población de embarazada estudiada este año dió resultado negativo para anticuerpos frente al VHC.

Para el total de la serie en el período 2008-2012 se estudiaron 12.015 embarazadas para anticuerpos frente al VHC. En este quinquenio nos encontramos 14 embarazadas con serología positiva para VHC, y solo 1 embarazada (en el año 2011) dió PCR-RNA-VHC positivo (Tabla 15).

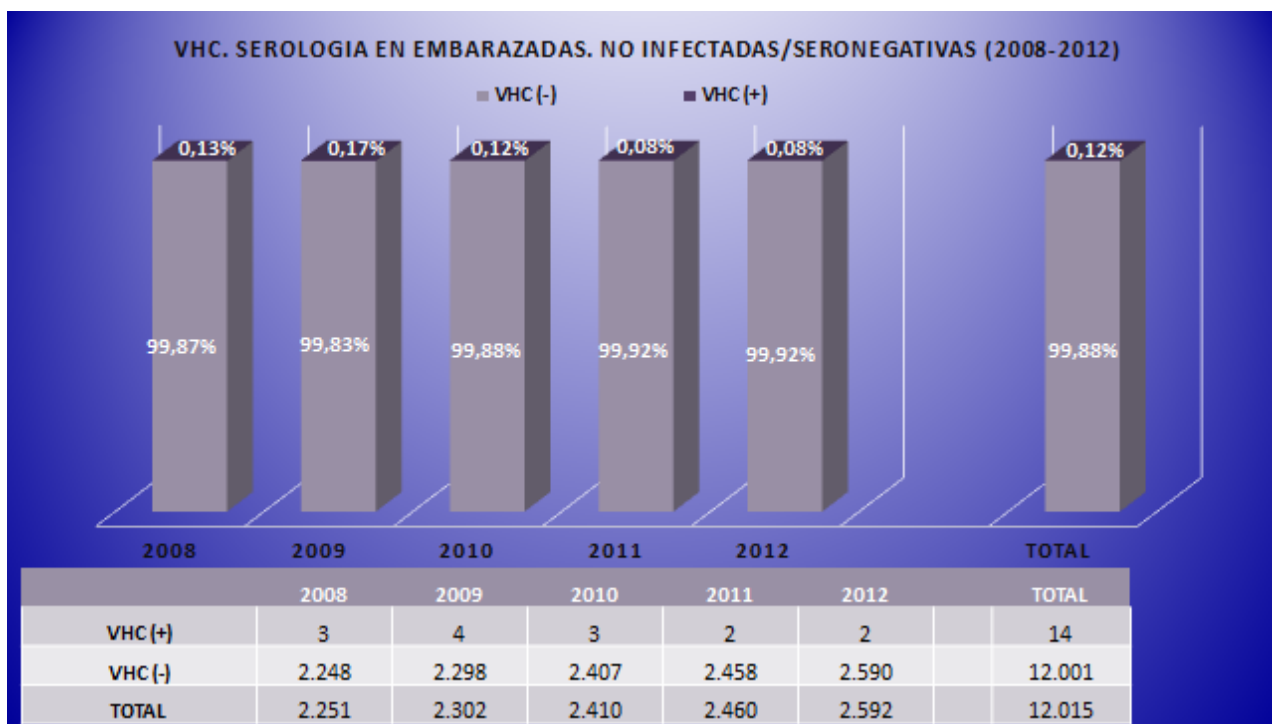
Tabla 15. Serología VHC (2008-2012).

| VHC | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | TOTAL |
|------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| TOTAL Ac.VHC | 2.251 | 2.302 | 2.410 | 2.460 | 2592 | 12.015 |
| VHC (+) | 3 | 4 | 3 | 2 | 2 | 14 |
| % VHC (+) | 0,13 % | 0,17 % | 0,12 % | 0,08 % | 0,08 % | 0,12 % |
| Carga Viral (+) | 0 | 0 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| Carga Viral (-) | 3 | 4 | 3 | 1 | 2 | 13 |

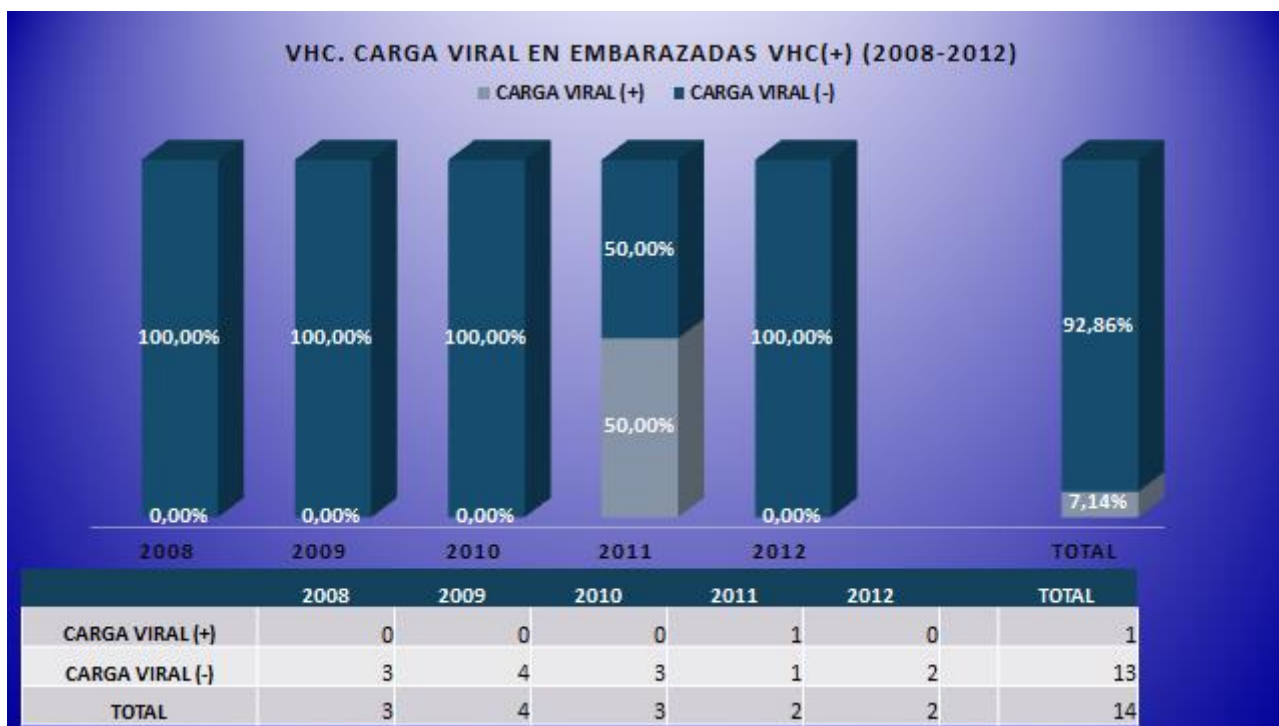
El hallazgo positivo en una embarazada en 2011, corresponde a “caso de coinfección” con VIH en mujer UDVP. Fué seguida por Tocología e Infecciosas, así como su RN por Neonatología a efectos de manejo posible transmisión vertical.

El 99,88 % de las embarazadas estudiadas para anticuerpo frente al VHC, fueron negativas y sólo el **0,12 %** dió positivo a anticuerpo frente al VHC. (Graficas 29 y 30)

Gráfica 29. Resultados Serología VHC en gestantes (2008-2012).



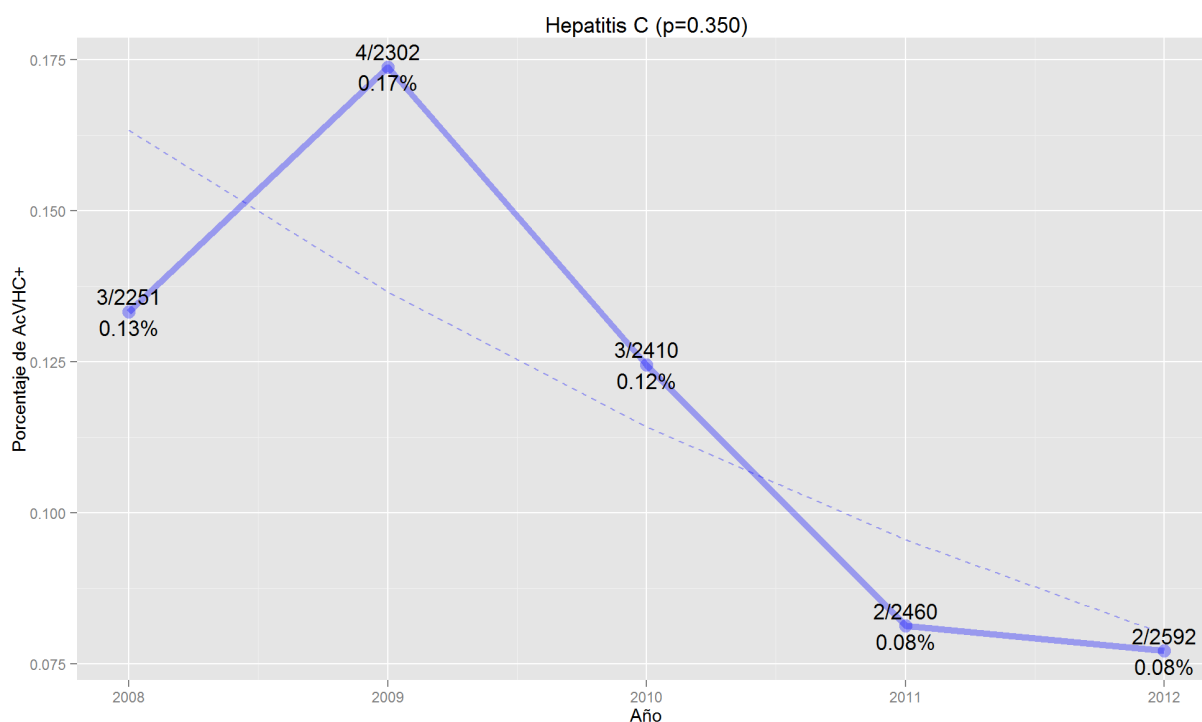
Gráfica 30. Carga viral VHC en gestantes seropositivas VHC (2008-2012).



La determinación de anticuerpos anti-VHC ha sido realizada de forma general a todas las embarazadas. Los valores obtenidos de seropositividad VHC, están entre un valor máximo en el año 2009 del 0,17 % y un valor mínimo en los años 2011 y 2012 del 0,08 %.

Para la seropositividad de VHC en gestante, obtenemos una “línea de tendencia ligeramente descendente, sin significación estadística” ($p=0,350$) (Gráfica 31) para el quinquenio 2008-2012.

Gráfica 31. Línea de tendencia y significación estadística de porcentaje Ac.VHC (+).



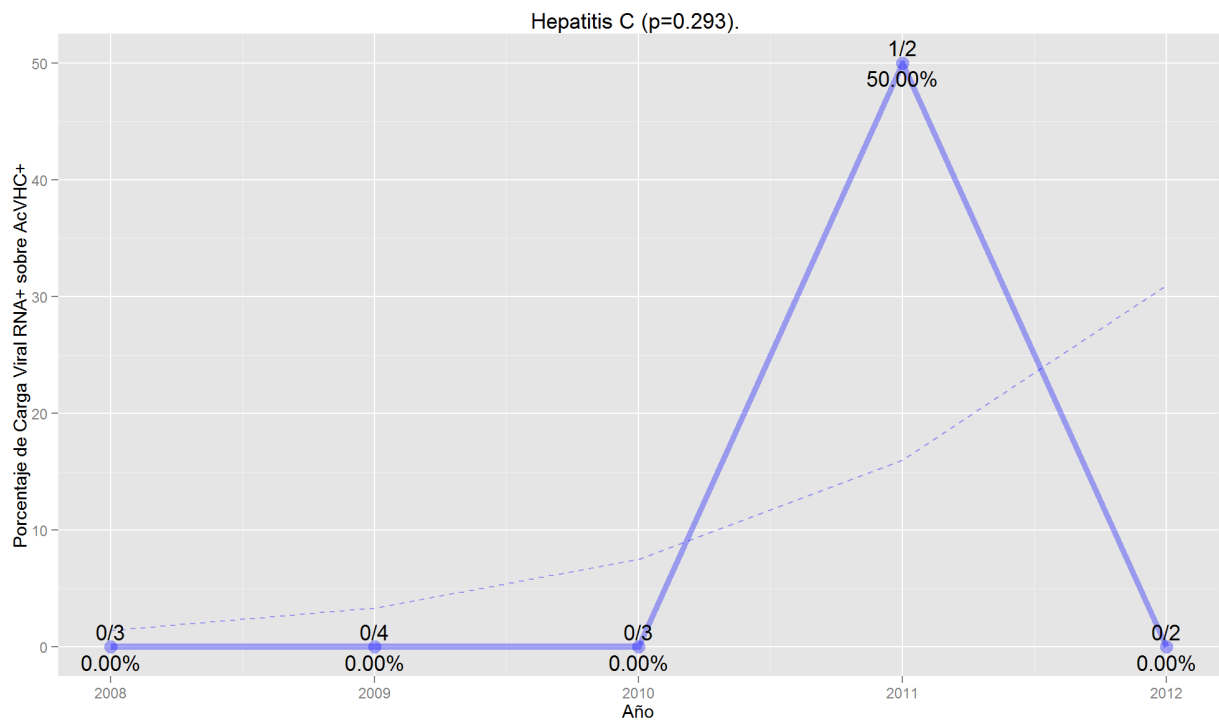
La línea de puntos representa la línea de tendencia

De las embarazadas con anticuerpos antiVHC (+), se realizó determinación de carga viral RNA VHC, obteniéndose tan solo un hallazgo positivo en el año 2011.

Prácticamente este virus (VHC), tiene muy poca impregnación en nuestra población gestante en la que en el quinquenio estudiado obtuvimos un resultado de seroprevalencia del (0.12 %) y nuestros valores han sido francamente bajos.

Para viremia “VHC, valorada por PCR-RNA-VHC positiva sobre gestantes seropositivas”, la línea de tendencia de nuestra serie temporal no tiene significación estadística ($p=0,293$) (Gráfica 32)

Gráfica 32. Línea de tendencia y significación estadística de porcentaje de carga viral RNA sobre Ac.VHC (+).



La línea de puntos representa la línea de tendencia

5. DISCUSION.

5.1. CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE.

El Síndrome de Down es la cromosomopatía más frecuente, y se conoce que el riesgo de trisomía del par 21, aumenta con la edad materna [175], como fecha de gestación

El hecho de que la Trisomía 21 sea la cromosomopatía más frecuente con una prevalencia aproximada de 1/600 a 1/800 recién nacidos vivos, es el motivo por el que nos hemos centrado en ella, en esta tesis, descartando la trisomía del par 18 o Síndrome de Edwards, la cual tiene una prevalencia aproximada entre 1/5.000 y 1/10.000 y la trisomía del par 13 o Síndrome de Patáu con prevalencia de 1/5.000, según datos de la “Guía de Práctica Clínica de Atención en el Embarazo y Puerperio” del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (2014).

En España se estima que el 85 % de las gestantes con feto afecto de síndrome de Down interrumpen voluntariamente el embarazo. Parece que detrás de esta decisión está el aumento de pruebas de diagnóstico prenatal, que nos permiten detectar alteraciones genéticas fetales antes del nacimiento con gran precisión y fiabilidad. Ante un caso de detección durante el embarazo de determinación analítica o de imagen compatible con una malformación o alteración genética, serán la gestante/padres los que tengan que tomar una libre decisión sobre la adopción de interrumpir el embarazo o de tomar otra decisión, al margen de que se le informe de posibles acciones asistenciales medicas y sociales para la enfermedad de su futuro hijo o de la propia embarazada.

La Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia, recomienda “el cribado prenatal” cuyo objetivo es: “Conocer la integridad cromosómica del feto” y en base a los resultados, poder la gestante/padres tomar una decisión libre, de acogerse o no a la Ley de Interrupción Voluntaria del Embarazo (IVE) (Ley Orgánica 2/2010, de 3 de Marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo (BOE 4 de Marzo de 2010), en reciente revisión limitada por el Ejecutivo de España (Verano 2015).Anexo I

Actualmente la Estrategia de Cribado de Cromosomopatías intenta seleccionar a las mujeres embarazadas con un “**Índice de Alto riesgo**”, que justifique la realización de procedimientos diagnósticos invasivos, para realizar el estudio de cariotipo fetal, en la Sanidad Publica.

La prueba de cribado con un mejor rendimiento, se considera que es aquella capaz de presentar una menor tasa de Falsos Positivos (FP), con la mayor Tasa de

Detección (TD) posible de aneuploidias, minimizando el número y riesgo de procedimientos invasivos. En la actualidad se considera que un Programa de “*Cribado Combinado del primer trimestre*”, de Cromosomopatías para el síndrome de Down, durante el primer trimestre de embarazo, debería ofrecer como mínimo una TD del 75 %, con no más de un 5 % de FP [176]. Los resultados de nuestro estudio se encuentran dentro de estos rangos.

Es necesario que el Cribado combine, “pruebas bioquímicas”, con “datos clínicos” de la gestante, incluyendo “datos ecográficos” entre ellos la “translucencia Nucal”. Dependiendo del resultado de esta prueba, en el sector Público, se debe ofrecer una Prueba Invasiva a derivar, del obtenido Cálculo del Riesgo Estimado.

En nuestro Hospital de Jerez del Servicio Andaluz de Salud, realizamos según Recomendaciones del “*Programa Andaluz para el Cribado de Anomalías Congénitas*”, (Rev. 2005- Consejería de Salud), el “Cribado Combinado de cromosomopatías en el primer trimestre de gestación”.

La conveniencia de este Cribado Combinado de primer trimestre, viene avalada además, por cuatro grandes estudios observacionales prospectivos, que han evaluado el cribado de cromosomopatías combinado (TN + PAPP-A + β -HCG + edad materna), entre las semanas de gestación 10+0d y 13+6d (Wapner, 2003 [177]; Wald, 2003 [178]; Nicolaidis, 2005 [179] y Malone, 2005 [180].

Todos ellos concluyen que el “*Cribado Combinado de primer trimestre*”, muestra una mejor Tasa de Detección del síndrome de Down, que el “Cuádruple test durante el segundo trimestre” entre las semanas 15 a 18 con los siguientes parámetros: alfa-fetoproteína (AFP), hCG, Estriol y concentración de Inhibina A. Es decir, estamos realizando el Cribado adecuado para el diagnóstico precoz de Cromosomopatías según la bibliografía publicada. En nuestro Hospital, podemos decir, que es anecdótico el número de Cribados del 2º Trimestre realizados, los motivos han sido siempre por retraso en la realización del Cribado de 1º Trimestre, o por no haberse realizado el del 1º trimestre en el plazo correcto.

Respecto a los cuatro estudios arriba comentados, en el estudio BUN de Wapner-2003 [177] de test combinado en 8.514 mujeres embarazadas entre las semanas 10+4d y 13+6d de gestación, se registraron 61 casos con síndrome de Down.

En el estudio SURUS de Wald-2003 [178] se evaluó la estrategia del test combinado, en un estudio en el que se incluyeron a 47.053 mujeres embarazadas (mediana de edad de 29 años; 16% de mujeres mayores de 35 años), entre las que se registraron, 101 casos de recién nacidos con síndrome de Down.

En el estudio de *Fetal Medicine Foundation* de Nicolaides – 2005 [179] se realizó el test combinado a 75.821 mujeres embarazadas de 1 solo feto, quedando registrados 325 casos de trisomía 21, entre las semanas 11+0d y 13+6d. Se planteó que a las mujeres con “Índice de Riesgo Alto”, se les ofreciera una prueba invasiva de diagnóstico prenatal (en muestra de vellosidad corial); a las mujeres con “riesgo intermedio” se les ofreciera una ecografía genética; y a las mujeres con “Índice de Riesgo Bajo” no se les ofrecieran más pruebas de laboratorio. En este estudio constata que el Cribado Combinado, contribuía a una Tasa de Detección (TD) del 90%, con una tasa de Falsos Positivos (FP) del 5%.

En el estudio FASTER de Malone-2005 [180] en una cohorte de 38.167 mujeres con embarazo de un solo feto, quedaron registrados 117 fetos con síndrome de Down. Se concluye que a las 11 semanas de gestación el “*Cribado Combinado del primer trimestre*”, es mejor que el “*Test cuádruple del segundo trimestre*” (alfa-fetoproteína (AFP), hCG, Estriol y concentración de Inhibina A), pero que a las 13 semanas los resultados son similares. Este estudio mostró también que el Cribado Combinado del primer trimestre, conseguía una tasa de Falsos Positivos (FP) del 5 %, y unas Tasas de Detección (TD) del 87 %, el 85 %, y del 82 % ,dependiendo de si se realizaron en las semanas número 11, 12, o 13 de gestación.

De los estudio FASTER y SURUSS, se desprende que con el “*Cribado Combinado en el primer trimestre*”, valoración conjunta de los resultados de la TN (Translucencia Nucal) y PAPP-A y β -hCG libre, se obtiene una Tasa de Detección (TD) del 94 ó 95 %, y una Tasa de Falsos Positivos (FP) del 4 ó 5 % ; resultados equiparables a los obtenidos con el “*Cuádruple test bioquímico del segundo trimestre*” : alfa-fetoproteína (AFP), hCG, Estriol y concentración de Inhibina A.

Durante los 5 años de seguimiento de nuestro estudio (2008-2012), las mujeres embarazadas de nuestra Área Sanitaria, han tenido opción de acceso al Programa “*Cribado Combinado en el primer trimestre*” (de cribado de cromosopatías durante el 1º trimestre de embarazo). Hemos de significar que de los 16.780 partos registrados durante los años naturales 2008-2012 en nuestro Hospital (cinco años), 4.090 de estos partos (24,38 %), no tenían registros analíticos respecto de este Programa de Cribado. Valorada en el tiempo la “Evolución de Acceso al Programa”, constatamos una mejor participación de las gestante durante su primer trimestre de embarazo, conforme evolucionaban los años de implantación de tal Cribado, entre el Laboratorio de Análisis Clínicos y Obstetricia. De tal manera, que en el año 2008, se realizaron el Cribado de Cromosopatías el 69.90 % de las embarazadas, aumentando año tras año esta cifra hasta el 86,72 % del año 2012 (ver Gráfica 1).

Hemos observado que ciertas embarazadas, ante el hallazgo de un resultado de “alteración ecográfica- TN” en la primera consulta de Obstetricia, (acceso al Programa) optaron por la realización directamente en el Laboratorio de un Test de Cariotipo, para

tener un diagnóstico de certeza de cromosomopatía y no optar a continuar en el “Programa Andaluz para el Cribado de Anomalías Congénitas”, esto es, no pasaron completamente por el “Cribado Combinado del primer trimestre”. De las 4.090 mujeres que no se realizaron cribado, tan solo 208 mujeres (5,08 %) se realizaron cariotipo directamente, y de estas el 3,36 % presentan un cariotipo con trisomía 21.

Es muy importante la comunicación y la buena relación entre Obstetricia y Laboratorio para la gestión de incidencias. En ocasiones, el volante de petición no viene relleno correctamente; a veces faltan datos imprescindibles para el Cálculo del Riesgo (TN, edad materna) ó faltan datos que modifican la concentración sérica de los marcadores bioquímicos (peso materno, diabetes, hábito tabáquico...). La falta de estos repercute directamente sobre su Cálculo de Riesgo [181].

En nuestro Hospital, debido a la fluida comunicación entre Laboratorio y Obstetricia, hemos podido ir solucionando estas incidencias y recuperar los datos que faltaban para poder hacer un Cálculo de Riesgo preciso. Esta gestión de incidencias la realizamos desde el Laboratorio.

Respecto al control de las determinaciones bioquímicas (PAPP-A y BhCG-libre), podemos afirmar que la mayoría de los reactivos disponibles en el mercado permiten alcanzar el objetivo de calidad (imprecisión interdía con un coeficiente de variación (CV) inferior al 5 % [182].

Nuestros reactivos de la casa Siemens, descritos en esta Tesis en Material y Método cumplen con las especificaciones de Calidad. Además, nuestro Laboratorio aparte de los controles de calidad internos, participa en un programa de calidad externo bioquímico de cribado de cromosomopatías denominado UK NEQAS, y que realizamos mensualmente.

El control de las “Medianas” ha sido clásicamente la herramienta que hemos utilizado en el Cribado Combinado de Cromosomopatías para garantizar la calidad. [181, 182,183].

Es importante insistir en utilizar Medianas propias y que sean consistentes (calculadas al menos con 100 muestras), especialmente en las semanas de gestación donde se concentren la mayoría de las solicitudes [184]

La correcta medición de la TN es especialmente importante al ser el marcador con más peso en el Cálculo de Riesgo [181, 182,185], al margen del valor de la edad materna.

En nuestro caso, hemos observado “Medianas de MoM de TN” con tendencia constante a situarse un 12-20 % por debajo de la unidad. Para garantizar la adecuada

medición de la TN es necesaria una correcta formación del Profesional, mediante certificación de estos ecografistas, disponer del tiempo y de los medios adecuados (ecógrafos de alta resolución) e implementar, (como hacemos en el Laboratorio), nuevas medidas de Control de Calidad para las mediciones ecográficas. Las gráficas “cumulative sum control chart” (CUSUM), permiten una monitorización continua e individual de cada ecografista con objeto de detectar la tendencia a desviaciones sistemáticas, positivas o negativas, en sus mediciones [186]

Las “Medianas de TN para cada edad gestacional” propuestas por Spencer [187] son las que utilizamos en nuestra Tesis, en lugar de las propuestas por Nicolaidis [188].

El Cribado de cromosomopatías realizado en nuestro Hospital, se realiza en un único paso. Al igual que el realizado en 2 pasos (primero realización de marcadores bioquímicos y posteriormente realización de ecografía), tiene una alta tasa de detección de trisomía 21, concordante con lo publicado en el estudio FASTER [180].

Hay autores que proponen para mejorar las tasas de detección del primer trimestre la inclusión del sonograma genético [189,190]. El sonograma genético de primer trimestre consiste en modificar el riesgo de trisomía 21 del test combinado, a partir de la evaluación, entre las 10s y las 13s+6 semanas (CRL 45-84 mm), de los marcadores ecográficos secundarios: hueso nasal ausente, ductus venoso con flujo ausente o reverso durante la contracción atrial y regurgitación tricúspide. En la actualidad, año 2015, y ya finalizados los estudios de esta Tesis, se está planteando en nuestra Área la inclusión de este, pero nos encontramos con problemas organizativos y de tiempo disponible para la realización de la ecografía.

El plan de trabajo llevado a cabo en nuestro Estudio, al compararlo con las nuevas directrices del Ministerio de Sanidad (2014), así como de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía, SEGO y publicaciones internacionales, es concordante con ellos.

En el PAI 2014, de Andalucía, publicado también ya finalizados los estudios de esta Tesis, también se recomienda la realización, previa aceptación de la gestante del Cribado Combinado del Primer Trimestre y la exploración ecográfica del Segundo Trimestre, para el Cribado de anomalías congénitas. Se ofertará específicamente la realización del diagnóstico prenatal para la detección de anomalías congénitas, detallando las Características, Objetivos, Limitaciones y las Implicaciones de hallazgos patológicos de la ecografía y la prueba de despistaje de cromosomopatías.

En este PAI 2014, se habla del indicador “Cribado Combinado de primer trimestre”, cuya fórmula es el “Número de mujeres a las que se realiza cribado combinado de primer trimestre x 100 / Número de mujeres embarazadas que son atendidas durante el primer trimestre, en el mismo periodo de tiempo.” y el fundamento es la “detección de anomalías”.

5.2. RUBÉOLA.

Es sin lugar a duda la vacunación de la mujer antes de llegar a la edad fértil, y el cribado de la Rubéola mediante la revisión de la historia clínica y vacunal o mediante una serología de rubéola, en la primera visita de la embarazada, la medida más eficaz para la prevención de la Rubéola Congénita.

La mujer embarazada infectada durante las primeras 11 semanas de gestación, transmite la infección al feto y un alto porcentaje, (65 %), desarrolla el denominado Síndrome de Rubéola Congénita (S.R.C.) En el caso en el que una gestante no esté inmune (seropositiva) y contraiga la infección en los primeros cinco meses de la gestación puede producir una transmisión vertical intraútero al feto. Pasadas las 12 semanas de gestación las consecuencias para el feto no son tan graves, y pasadas las 20 semanas (en la que los órganos vitales están formados), prácticamente desaparece el riesgo de aparición de defectos congénitos. [191].

El mejor momento para determinar el estado inmunitario sobre Rubéola en las mujeres en edad fértil, es la visita preconcepcional. Lo habitual es que la vacuna se haya administrado como parte de la vacuna triple vírica durante su infancia. No hay que olvidar que la vacuna está contraindicada durante el embarazo y aquellas gestantes en las que se determinó que no tenía inmunidad frente a esta enfermedad durante el embarazo, se les debe recomendar administrar la vacuna triple vírica, pero nunca durante el embarazo, sino en el puerperio pues están constituidas por “virus vivos atenuados”. (Sarampión, Rubéola y Parotiditis)

Durante el embarazo el cribado de la Rubéola, se dirige a identificar a aquellas mujeres no inmunes (seronegativas) para evitar contacto con enfermos y a las que se les debe recomendar la vacunación tras el embarazo y así evitar riesgos en los sucesivos embarazos.

La evolución de esta enfermedad está en consonancia con las Tasas europeas, sin olvidar que la facilidad de movimientos dentro y hacia la Comunidad Económica Europea y las “bolsas de individuos susceptibles”, pueden dar lugar a la aparición de bolsas de enfermedad- Rubéola en algunos Países, pudiendo afectar la población femenina en edad fértil inmigrante o asilada procedente de Países con deficientes Programas Vacunales Infantiles.

En España en el año 2012 de los casos declarados, casi la mitad (30/64) el **46,8** % estaban relacionados con Rumania, País en el que hasta 2004 no se introdujo la Rubéola en su Calendario Vacunal.

La Región Europea de la O.M.S. está inmersa en un **”Plan de Eliminación de la Rubéola”** en la Región para 2015 y para ello es necesario mantener la cobertura de vacunación por encima del 95 %. En España la cobertura de vacunación está por encima del 95 % en torno al 97 %. Es muy importante prestar especial atención a los grupos con poca adherencia al Calendario Vacunal Infantil o porque procedan de Países con Calendario Vacunal diferente al nuestro, pues pueden dar lugar a brotes limitados de rubéola, y/o casos de Rubéola Congénita.

Entre los objetivos de **“Salud Para Todos en el Siglo XXI”** aprobado por la Región Europea de la O.M.S. en 1998, para el Grupo de “Enfermedades Prevenibles por Vacunación”, se identificaron como prioridades entre otras, el “Control de la Rubéola Congénita”.

En el año 2005 la mayoría de los países Europeos ya habían incluido la vacuna de rubéola en sus Calendarios Vacunales y dado que esto necesita una infraestructura y una estrategia de actuación, se aprobó el **“Plan Estratégico 2005-2010 de la Región Europea de la O.M.S. para la eliminación del Sarampión, la prevención de la Infección Congénita por Rubéola (ICR) y la eliminación de la Rubéola Endémica”**

En España en el año 2008, la Comisión de Salud Pública aprobó el “Protocolo de Vigilancia de la Rubéola y del Síndrome de Rubéola congénita en la fase de Eliminación”, del Consejo Interterritorial en el Ministerio de Sanidad.

En el año 2010 el Comité Regional de la OMS-Europa, reconoce los progresos para la eliminación de la Rubéola y expresa sus dificultades para alcanzarlo y ello solo sería posible con Acuerdos y compromisos de alto nivel.

Este Comité retrasa la fecha para conseguir este Objetivo, al año 2015, y se instó a los Estados miembros a:

- Revisar los compromisos políticos y recursos destinados a conseguir el objetivo de la Eliminación de la Rubéola.
- Reforzar la Vigilancia Epidemiológica de la Rubéola, con el objetivo de monitorizar los indicadores para verificar que se alcanzan los objetivos de Eliminación.
- Revisar los Planes Nacionales de Eliminación, preferentemente en lo referente a la inmunización de “poblaciones susceptibles”.
- Establecer Comités Nacionales para la Verificación de la Eliminación de la Rubéola y documentar los progresos hacia la Eliminación.

La Estrategia para alcanzar los Objetivos de la Eliminación de la circulación endémica de la Rubéola en la Región Europea de la O.M.S. contiene los siguientes puntos:

- Alcanzar y mantener la Cobertura vacunal mayor o igual del 95%, y especial atención a la población con registro de baja cobertura (inmigrantes y población marginal).
- Ofrecer la vacuna de Rubéola a la población susceptible, “mujeres en edad fértil”, niños y adolescentes.
- Establecer investigación rigurosa en cada caso, incluyendo Confirmación por el Laboratorio de Microbiología.
- Difundir entre los Profesionales sanitarios, los beneficios de vacunar frente a la Rubéola.

Situación en España y en Andalucía:

Describimos en esta Discusión algunos hitos que estimamos de especial interés al respecto:

- 1979: Vacunación de la Rubéola a las niñas de 11 años, en toda España a introducir desde las Jefaturas Provinciales de Sanidad a través de los médicos de Asistencia Pública Domiciliaria (APD) dependiente de la Dirección General de Sanidad (Madrid).
- 1981: Introducción de la vacuna Triple Vírica (Sarampión-Rubéola-Parotiditis), que ya no sería la monovalente frente a Rubéola.
- 1982: Se incluye la “Enfermedad Clínica Rubéola” en el Sistema de Enfermedades de Declaración Obligatoria (EDO) (BOE-15-Enero1982). En Andalucía también se incluye en el Sistema de Notificación.
- 1995: Se crea la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) por el RD 2210/95 de 28 de Diciembre. La Rubéola es de Declaración Individualizada a nivel autonómico, al igual que la Congénita (SRC).
- 1996: En España la “Rubéola Congénita” o S.R.C. se incorpora a la Lista de Enfermedades de Declaración Obligatoria de la RENAVE (1

Julio-1996) y se Declara por “Sistemas Especiales”. En Andalucía urgente a través de la Red de Alertas-SVEA.

Gracias a la alta cobertura vacunal (triple vírica) alcanzada, la Incidencia de Rubéola se mantiene en niveles de eliminación desde 2009 y la Incidencia anual es inferior a 1 caso por 100.000 habitantes en España y en Andalucía también.

Es muy importante que el Sistema de Vigilancia detecte y procure la Confirmación por el Laboratorio de Microbiología de todos los casos sospechosos, que deben, obligatoriamente declararse al Servicio de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía (SVEA) en la Red de Alertas dentro de la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) en el seno del Ministerio de Sanidad.

En Andalucía la Cobertura Vacunal oficialmente registrada ha sido para el quinquenio:

- En el año 2008 en 1ª dosis 98 %, y la 2ª dosis 92,5 %
- En el año 2009 en 1ª dosis 96 %, y la 2ª dosis en el 87,3 %
- En el año 2010 en 1ª dosis 97,5 %, y la 2ª dosis en el 85,6 %
- En el año 2011 en 1ª dosis 96,5 %, y la 2ª dosis en el 91,3 %
- En el año 2012 en 1ª dosis 97,1 %, y la 2ª dosis en el 93,4 %

Notificación de casos de Rubéola.-

En Europa los datos de Notificaciones de Casos se han obtenido del ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control).

Un Informe de la O.M.S. destaca que entre 2005-2009 la Rubéola, se ha reducido en un 94 % fundamentalmente a expensas, de los Países de la antigua Unión Soviética, aunque persiste la Alta Incidencia en algunas Regiones.

- **En el año 2008** Según datos definitivos (13/07/2009) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III, se notificaron en España 90 casos sospechosos de Rubéola y de ellos se confirmaron **63**. De los 63 casos, 38 se confirmaron por el “Laboratorio” y el resto 25, por “vínculo epidemiológico”. Para el total de España la Tasa de Incidencia para este año se situó en **0.14** por 100.000 habitantes. El estándar de calidad está en 1 caso/100.000 habitantes.

Durante 2008 la Incidencia más alta de Rubéola por Comunidades Autónomas la registró Andalucía con 18 casos, lo que representó una Tasa de 0.23 por 100.000 habitantes seguida de la Comunidad Valenciana con 13, casos esto es una Tasa de 0,27 por 100.000 habitantes

La Comunidad que menos caso declaró fue Galicia con 1 caso, lo que supone una tasa de 0.04 por 100.000 habitantes.

En Europa se declararon durante este año 21.303 casos de Rubéola , con una Tasa de 6.27. Por Países Comunitarios los que más declararon fueron Polonia con un porcentaje europeo del 34,49, seguida de Italia con el Tas 10,37.

- **En el año 2009**, (según los datos definitivos (11/11/2010) del Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III), se notificaron en España 46 casos sospechosos de Rubéola, de los que se confirmaron **30**. Para el total de España la Tasa de Incidencia para este año se situó en **0.07** por 100.000 habitantes. El estándar de calidad esta en 1 caso / 100.000 habitantes.

De los 30 casos confirmados, 11 (36.7 %) se confirmaron por el Laboratorio y 19 (63,3 %) por la clínica y vinculo epidemiológico

De los 30 casos de Rubéola confirmados, la mitad son mujeres 14 (46,7%) con menos de 4 años. De los 30 casos 10 casos no estaban vacunados (33.3%).

Durante el año 2009 de los casos de Rubéola declarados por Comunidades Autónomas, la que más casos declaro fue Madrid con 13 casos lo que representa un Tasa del 0,21, seguida de la Comunidad de Andalucía con 5 casos lo que representa una Tasa de 0,06 por 100.000 habitantes.

Las Comunidades que menos casos declararon (1) fueron: Canarias con Tasa de 0.05, Cataluña con Tasa de 0.01, Comunidad Valenciana con Tasa 0.02, Extremadura Tasa de 0.09 y Ceuta con Tasa de 1.44

Para el total de España la Tasa de incidencia para este año se situó en **0.07** por 100.000 habitantes. El estándar de calidad esta en 1 caso/100.000 habitantes

En Europa se declararon durante este año 8.844 casos de Rubéola, con Tasa de 2.59 por 100.000 habitantes. Por países Comunitarios los que más declararon fueron Polonia con porcentaje del 19,90, seguida de Italia con el de 2,81.

- **En el año 2010** (según los datos definitivos (17/10/2011) del Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III), se notificaron en España 16 casos

sospechosos de Rubéola de los que: **12** casos se confirmaron, 5 por el (Laboratorio) (41,7 %), y 7 por la “clínica y vínculo epidemiológico” (58,3 %). Se descartaron 4. Para el total de España la Tasa de Incidencia para este año, a nivel nacional, se situó en **0.03** por 100.000 habitantes. El estándar de calidad está en 1 caso / 100.000 habitantes.

Los 5 casos confirmados por el Laboratorio fueron con IgM Positiva a Rubéola. Los 4 casos descartados lo fueron por ser IgM Negativa a Rubéola y sin conversión serológica y no vinculo epidemiológico.

Durante el año 2010 según los casos de Rubéola declarados por Comunidades Autónomas, la que más casos declaró fue Andalucía con 4 casos lo que representa un Tasa del 0,05. La Comunidad que menos caso declaró fue la Valenciana, con 1 casos lo que representa una Tasa de 0,02 por 100.000 habitantes.

En el año 2010 en Europa se notificaron 4.693 casos de Rubéola aproximadamente la mitad de los notificados en 2009, Tasa de Incidencia de 1.39 por 100.000 habitantes. El 95% de los casos se notificaron desde Polonia y Rumania. De los casos de los que se dispone Información, “sólo el 2,2 % se confirmaron por el Laboratorio de Microbiología” y el 1,2 % por “vínculo epidemiológico”. El resto de los casos son casos Clínicos, lo que demuestra la debilidad de los Sistemas de Vigilancia de la Rubéola en muchos Países de la UE.

- **En el año 2011** según los datos definitivos (23/05/2013) del Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III, en España se notificaron 31 casos sospechosos, de los que confirmaron **19**. De los casos confirmados, la mayoría se confirmaron por el “Laboratorio” y 2 por la “clínica y vínculo epidemiológico”. Para el total de España la Tasa de Incidencia para este año, a nivel nacional, se situó en **0.04** por 100.000 habitantes. El estándar de calidad esta en 1 caso/100.000 habitantes

Por Comunidades Autónomas, la que más casos declaró es Ceuta, con 5 casos, lo que representa una Tasa de 6.52 por 100.000 hab, y la que menos Andalucía con 1 caso lo que representa una Tasa de 0.01 por 100.000 habitantes.

De los casos investigados por el Laboratorio de Microbiología, se descarta un caso cuando se obtiene una detección de Ac IgM (-) a Rubéola en el Laboratorio o cuando se consigue un diagnóstico alternativo, por el que podamos descartar esta enfermedad en concreto.

En Europa se declararon durante el año 2011, un total de 8.409 casos de Rubéola, con una Tasa de 2,49 por 100.000 habitantes.

Por Países Comunitarios los que más declararon fueron Polonia con el porcentaje del 11,14 seguida de Rumania con 18,26

- **En el año 2012** (según los datos definitivos (23/05/2013) del Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III) en cuanto a la Rubéola, se notificaron en España **67** casos, de los cuales se confirmaron (87,5 %) por el “Laboratorio” y el resto por ser casos “clínicamente compatibles con esta enfermedad o por vínculos epidemiológicos” (12,5 %). . En el año 2012, la Incidencia registrada fue de **0,15** casos por 100.000 hab., cifra algo superior a las registradas en años precedentes

Por Comunidades Autónomas, las que más casos declara es Aragón, con 32 casos, lo que representa una Tasa de 2.44 por 100.000 hab, y la que menos Asturias con 1 caso lo que representa una Tasa de 0.10, Galicia 1 caso y una Tasa de 0.04; Navarra 1 caso y una Tasa de 0.16; y País Vasco 1 caso y una Tasa de 0.05 por 100.000 habitantes.

En nuestra Comunidad de Andalucía, para este año, la Tasa de Incidencia fue del 0,07 por 100.000 habitantes

Para el total de España la Tasa de incidencia de la enfermedad se mantiene en valores muy bajos, próximos a 1 caso por millón de habitantes

Declaración de casos de Rubéola en la Comunidad de Andalucía.-

- En Andalucía en el **año 2008** Según los datos definitivos (13/07/2009) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III. se notificaron 23 casos sospechosos; **18** casos fueron “confirmados por el Laboratorio de Microbiología” (83,3 %) y por “vínculo epidemiológico y clínica” el 16,7 %. De estos casos aceptados, Cádiz fue la provincia que más casos declaró. La Tasa de Incidencia de Andalucía se situó en el **0,23 por 100.000 habitantes.**

Este incremento del número de casos en la provincia de Cádiz en el año 2008 se debió, a que en el mes de Marzo de **2008** se declaró un brote de Rubéola. De ellos el 70 % mujeres en edades entre los 20 y 40 años. El brote duro 12 semanas del 1 de Febrero al 20 de Abril. No fue afectada nuestra Área Sanitaria ni tuvo repercusión en gestantes. Ninguna mujer diagnosticada estaba en ese momento embarazada.

Trece casos no recordaban estar vacunados (56.52 %) y los cinco casos en menores de 20 años de edad, no estaban vacunados.

- **En Andalucía en el año 2009.** Según los datos definitivos (11/11/2009) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III la Incidencia fue de 5 casos, de los cuales 1 se declaró en la provincia de Almería, 1 caso en la provincia de Cádiz, 1 caso en la de Córdoba, 1 caso en Málaga, y 1 caso en Sevilla, con una Tasa de Incidencia de **0,06 por 100.000 habitantes**
- **En Andalucía en el año 2010.** Según los datos definitivos (17/10/2011) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III la Incidencia fue de **4 casos** confirmados por el Laboratorio, de los cuales 1 caso se declara en Cádiz, 1 caso en Almería, 1 en Málaga y 1 caso en Sevilla con una Tasa de Incidencia de **0,05 por 100.000 habitantes.**
- **En Andalucía en el año 2011.** Según los datos definitivos (23/05/2013) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III la Incidencia fue de 1 caso de Rubéola que se declara en Almería. Tasa de **0,01 /100.000 habitantes.**
- **En Andalucía en el año 2012.** Según los datos definitivos (21/03/2014) obtenidos del Instituto de Salud Carlos III. La Incidencia fue de 6 casos de los cuales se declaran básicamente en las provincias de Sevilla y Huelva. Tasa de **0,07 por 100.000 habitantes.**

Síndrome de Rubéola Congénita (SRC):

En el año 2005 la Región Europea de la OMS se planteó el Objetivo del “**Control de la Rubéola Congénita** y la “**Eliminación de la Rubéola endémica en la Región**”. Para alcanzar estos Objetivos hay que “mantener altas Coberturas de Vacunación en la población” y reforzar la “Vigilancia Epidemiológica”. Para cumplir este Objetivo en España se elaboró y aprobó el “**Protocolo de Vigilancia de la Rubéola y del Síndrome de Rubéola Congénita (SRC) en la Fase de Eliminación año 2008**”.

En España la Rubéola es una Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO) desde 1982, y desde 2008 es de Declaración Urgente además.

El Síndrome de Rubéola Congénita (SRC) es de Declaración Obligatoria desde Julio 1996. En el período de **1997 a 2005** se identificaron **13** casos de SRC :

- 3 casos se declararon en 1997
- 2 casos en 1998

- 1 en 1999
- 1 en 2003
- 1 en 2004
- 5 casos en 2005, 4 de ellos asociados al brote que se produjo en Madrid en ese año.

Para el S.R.C .la Tasa de Incidencia media anual está por debajo de 1 caso por 100.000 nacidos vivos, excepto para el año 2005 que fue de 1.09 por 100.000 habitantes, debido al número de casos relacionados con el brote que se produjo en Madrid.

Con detalle para el S.R.C. especificamos los datos oficiales que están obtenidos del “ Instituto de Salud Carlos III” y son los registrados oficialmente entre 2008 y 2012 (periodo de estudio de la Tesis).

- En el **año 2008** se notifico a nivel Nacional, según datos obtenidos de la “**Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica**”, **1 caso** de Síndrome de Rubéola Congénita, de madre procedente de Polonia.
- En el **año 2009** se notifican , **2 casos** de Síndrome de Rubéola Congénita , 1 caso se notifica en el País Vasco a los 11 días del nacimiento y se clasificó como S.R.C “confirmado por el Laboratorio”. La madre había viajado a **Malawi** (África) su país de origen , durante el primer trimestre de su embarazo y a los 15 días de regresar, aproximadamente en la 8ª semana de gestación, acude a Urgencias con cuadro clínico compatible con Rubéola. El segundo caso ha sido notificado en Almería.

La Tasa de Incidencia de “Síndrome de Rubéola Congénita” en 2009 es **de 0,20 casos por 100.000 nacidos vivos**, lo que cumple con el objetivo del Control de la Infección por Rubéola Congénita (Incidencia < 1 caso / 100.000 nacidos vivos).

En este año 2009 la Tasa de Incidencia calculada de SRC por 100.000 nacidos vivos de “madres españolas” es de 0,0, y la incidencia de SRC en nacidos vivos de “madres extranjeras” fue de 0,98.

- En el **año 2010** NO se notificó ningún caso de Rubéola Congénita en España.
- En el **año 2011** NO se notificó ningún caso de Rubéola Congénita en España.
- En el **año 2012** se notifican **3 casos** en España de SRC, uno de ellos un Recién Nacido (R.N.) de madre de origen pakistaní, y que había viajado a **Pakistán**

durante el primer trimestre de su embarazo. Otro hijo de madre **Rumana** y otro hijo de madre **Dominicana**.

En la actualidad los casos de Rubéola Congénita son muy esporádicos en nuestro País, con tasas < 1 por 100.000 nacidos vivos.

Síndrome de Rubéola Congénita en Andalucía (2008-2012):

- **El año 2008 NO** se declara caso de Rubéola Congénita en nuestra Comunidad Autónoma.
- **El año 2009** se declara **1** caso de Rubéola congénita (SRC) en Almería, lo que supone una tasa de 0.01 por 100.000 nacidos vivos.
- Y en los años **2010, 2011 y 2012 NO** se declararon casos de SRC en nuestra Comunidad Autónoma (Tasa de Incidencia 0 por 100.000 RN vivos).

Para el total de España los pocos casos de SRC notificados en los últimos años, han sido hijos de mujeres extranjeras procedentes de Países con poca o ninguna cobertura vacunal y susceptibles frente a Rubéola, lo que exige una especial atención para con estos colectivos, (inmigración, refugiados), si queremos conseguir el Objetivo de Erradicación de esta enfermedad en 2015, conforme a la Estrategia de la OMS.

La baja Tasa de Incidencia de Rubéola y de SRC (Síndrome de Rubéola Congénita) en España en los últimos años, indica que hay escasa circulación del virus salvaje de la Rubéola tanto a nivel Nacional, como de nuestra Comunidad Autónoma así como a nivel de nuestra Área Sanitaria.

Los Países de la Región Europea de la Organización Mundial de la Salud (OMS). desde el año 2008 están inmerso en la “ Fase Final” del proceso cuyo Objetivo es, entre otros, **“Eliminar la Rubéola en toda Europa en 2015”**. Esto se consigue con Coberturas de Vacunación por encima del 95%, y con dos dosis de vacuna triple vírica en la población, (edad lactante 15 meses con 1ª dosis, y a los 3 años con 2ª dosis).

En España la Cobertura Vacunal frente a Rubéola en “primera dosis” (1-2 años de edad) entre 2008 y 2012 es respectivamente del 97,6 %, 97,4 %, 95,5 %, 96,8 % y 97,1 %, y en “segunda dosis” (3 – 6 años) para los mismos años del 94.4 %, 90,4 %, 92,3 %, 91,3 % y 90,3 % (según datos del Ministerio de Sanidad) son considerados, como alta cobertura.

La aparición de grandes brotes de Rubéola en algunos Países Europeos en los últimos años, amenaza el Objetivo de la Eliminación de la Rubéola. La causa es que

durante muchos años se han mantenido bajas coberturas de vacunación en algunos Países de Europa principalmente países del Este.

Los esfuerzos en el Control de la infección congénita por Rubéola, deben dirigirse a identificar y vacunar a poblaciones susceptibles, particularmente a las mujeres antes de la edad fértil, con el fin que cuando llegue un embarazo, tenga protección frente a esta infección viral de transmisión vertical con graves riesgos. Esto “justifica la analítica serológica a efectuar en el primer trimestre de la gestación en mujeres de nuestro medio”.

Respecto a porcentajes de gestantes con seroprotección (Inmunes) frente a Rubéola a los efectos comparativos con los resultados de esta Tesis, expresamos como más significativos comparadores, los estudios de Salamanca de Gutierrez-Zufiaurre (2004) y de Granada de Sampedro (2010) sobre gestantes.

En nuestro Estudio, para una población de 12.015 gestantes estudiadas serológicamente, encontramos que el **99,94 %** tenían Ac frente a Rubéola del tipo Ig G y por tanto “protegidas (Inmunes y No susceptibles)”.

En un estudio de un solo año (2004) sobre 2.929 embarazadas realizado en Salamanca encontraron que el **99,95 %** de las embarazadas estudiadas tenían títulos de Ac. Protectores frente a Rubéola y solo el 0,05% de la población estudiada no tenía Ac.IgG protectores frente a Rubéola. Estos resultados son “concordantes” con los encontrados por nosotros (aunque la población estudiada por nosotros es muy superior [192] y en el quinquenio 2008-2012),

En un estudio realizado en Granada (2010) sobre “Marcadores serológicos en gestantes inmigrantes y autóctonas de Granada” encontraron un **97,3 %** de Ac IgG positivas frente a Rubéola [193], “también parecidos” a los encontrados en nuestro Estudio.

Estimamos que dados los movimientos poblacionales entre Áreas geográficas y especialmente los de ciertas Regiones del Mundo, deben seguir practicándose este cribado a las gestantes y tomar en consideración sus antecedentes fehacientes.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Practica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 su Recomendación basada en la fuerza de la Evidencia.

| | |
|---------------|---|
| FUERTE | Se recomienda ofrecer un cribado de rubéola a las gestantes en la primera visita prenatal para valorar la inmunidad frente a la rubéola y posibilitar la vacunación tan pronto como sea posible en el postparto de mujeres no inmunizadas |
|---------------|---|

5.3. TOXOPLASMOSIS.

Hemos identificado una revisión narrativa en la cual se describen gran parte de los estudios, sobre diagnóstico y tratamiento de la Toxoplasmosis Congénita desde el año 1953 hasta 2009 (MacLeod 2009) [194] [95].

Es sin lugar a duda un gran problema el de la embarazada que contraiga una Toxoplasmosis en el transcurso de su embarazo, por el riesgo de Toxoplasmosis congénita. Puede ser evitada a través de los consejos preconceptionales, (sobre las fuentes de infección y los mecanismos de transmisión), y una vez contraída en el embarazo, mediante la explicación de opciones de tratamiento de la infección de la madre en la fase aguda, para evitar en lo posible la transmisión de la madre al feto y daño en este.

En caso de confirmarse la transmisión transplacentaria, se podría llegar a disminuir las manifestaciones de la infección fetal, mediante el tratamiento de la infección *in útero* (Stillwaggon 2011) [196].

Algunos defensores del cribado universal son partidarios del cribado neonatal, otros son partidarios de hacer tratamiento solo a aquellos niños que presenten algún síntoma de infección aguda, pero el principal problema de la Toxoplasmosis congénita es que “la infección congénita es subclínica al nacer” y las secuelas pueden desarrollarse con el tiempo y causar daño posteriormente y pudiendo llegar a ser permanentes.

La detección de la infección del feto adquirida durante la gestación y su rápido tratamiento se suele asociar a resultados favorables (Mac Leod 2009) [194].

No existe ninguna prueba serológica en la madre con la que podamos establecer con total exactitud infección en el feto, para ello tendríamos que recurrir a técnicas invasivas.

La Prevalencia de la toxoplasmosis varía mucho de unos Países Europeos a otros e incluso dentro de un mismo País si diferenciamos zona rural y zona urbana. En algunos Países se ha detectado, en los últimos años, una disminución, que podría atribuirse a distintos factores climáticos, culturales y medidas higiénico-sanitarias en general y aplicadas en las embarazadas. En Europa se estima que entre 1 -10 de cada 10.000 nacidos han sido infectados por toxoplasma y de estos 1-2 % desarrollan retraso mental o mueren. Hace años se instauró en algunos Países europeos un cribado serológico generalizado de toxoplasmosis, dadas las secuelas de la toxoplasmosis congénita, pero hoy se está cuestionando el impacto de dicho Programa y sus costes.

En Francia desde que se introdujo Protocolo de cribado, amniocentesis y tratamiento con Espiramicina / Sulfadoxina / Pirimetamina frente a *Toxoplasma* en 1992 y es infrecuente, ver niños con secuelas clínicamente significativas, como consecuencia de una toxoplasmosis congénita (MacLeod 2009) [194]

En España los datos de Prevalencia de toxoplasmosis congénita, vienen concatenados con los derivados generalmente de Estudios de Seroprevalencia en gestantes (15 - 40 %) dependiendo de las regiones.

Respecto a esto de Seroprevalencia deseamos comentar que en esta Tesis para el quinquenio 2008 – 2012 la “Prevalencia de serología positiva a toxoplasmosis en el Área Sanitaria Área Norte de Cádiz”, fue del **20,01 %** como un estudio en una población de **12.015** embarazadas.

En un estudio realizado en Salamanca por Gutiérrez y col. (2004) encuentran una Seroprevalencia del **18,80%** [192]

En otro estudio realizado por Sampedro y col. en Granada (2007), encuentran una Seroprevalencia de Ac frente a *Toxoplasma gondii* del **14,4 %** para población autóctona muy por debajo, de la encontrada para población extranjera, que se situó en el **44 %** [193].

En otro estudio realizado en Albacete por Bartolomé y col. (2001-2007) sobre 2.623 mujeres gestantes, encontraron un **21,00 %**, de positivas. Encuentran, una Seroprevalencia del **16 %** , para “mujeres nacidas en España” (aumento con la edad desde el 9 % en menores de 25 años hasta el 22 % en mayores de 34 años) y destaca que el **51 %** de las “mujeres inmigrantes” fueron seropositivas[197].

En Elche, Ramos y col.(2007) describe una Seroprevalencia del **11,2 %** [198].

En el 2004 en Cataluña, Muñoz C. y col. en un estudio multicéntrico sobre 16.362 embarazadas encuentran una Seroprevalencia del **28 %** pero se estudia a toda la población gestante, “autóctona y extranjera [199].

En un estudio realizado en Granada sobre Toxoplasmosis, por Gutiérrez, Roldan, y Maroto (1996), encuentran una Seroprevalencia del **30 %**, pero indudablemente, en dieciséis años las condiciones alimentarias, socioeconómicas, así como las condiciones higiénico sanitarias en nuestra Comunidad han variado sustancialmente[200].

En otros estudios realizados en otras Comunidades Autónomas obtienen resultados superiores a los obtenidos por nosotros y así Jaqueti y col en Madrid 1991 obtiene una Seroprevalencia del **38.9 %** [201].

También en estudio realizado por Guerra García (1995) en Málaga, en mujeres embarazadas, encuentra una Seroprevalencia del **25.7 %** [202].

Otros estudios realizados en España, como el realizado por Méndez y col. en una zona básica de Gijón, aunque años antes, refleja Seroprevalencia superiores a las nuestras y por encima del **25 %** [203].

En Barcelona en un trabajo realizado por Pujol-Riqué en el periodo 1992-1999 sobre Seroprevalencia de toxoplasmosis en mujeres en edad fértil, encuentra cifras de Seroprevalencia del **43 %** [204], muy superior a las encontradas en otras Comunidades y parecidas a las encontradas por Bartolomé en Albacete 2001-2007, sólo en población de mujeres inmigrantes [197].

En estudios realizados en Europa, en mujeres gestantes o edad fértil, se han obtenidos resultados muy variados dependiendo de la zona en las que se realizó el estudio de Seroprevalencia y así se han obtenido resultados de Seroprevalencia desde el 41 % en Polonia en 2006 [205], 26 % en Skane (Sur de Suecia) [206], 22 % en Italia [207], 20 % en Grecia [208], 14 % en Estocolmo [206] y el 9 % en el Reino Unido [209].

Algunos estudios sugieren que el *Toxoplasma gondii*, podría estar presente en la placenta durante semanas, antes de ser transmitido al feto. Sin embargo no todas las madres transmiten la infección al feto, aumentando la frecuencia de la transmisión vertical con la edad gestacional (McLeod 2009) [194].

MacLeod en el año (2012) mediante una prueba (ELISA), detecto dos *tipos* distintos de *Toxoplasma gondii* (*serotipo II* y *no exclusivamente II (NE II)* responsables de la toxoplasmosis en Estados Unidos. El tipo *NE II* sería el más prevalente y estaría más relacionado con la prematuridad y mayor severidad en la presentación de la enfermedad[195].

En el año 2007, Thiebaut et al. plantea que existe evidencia suficiente por la que se demuestra la efectividad de la infección activa por toxoplasma, que puede ser tratada y de esta forma sus consecuencias disminuidas o evitadas [210].

La Seroprevalencia (**20,01 %**), encontrada en nuestra serie es similar a las encontradas por otros autores dentro del territorio nacional

Toxoplasmosis Congénita.-

Los datos para Europa han sido obtenidos del EDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) como confirmados de toxoplasmosis congénita, y los datos para Andalucía del SVEA “*Servicio de Vigilancia Epidemiológica en Andalucía*”:

- En el **año 2008**, Según los datos obtenidos del EDC en Europa se declararon 83 casos de Toxoplasmosis Congénita con una Tasa de 4.06 y 1 caso declarado en España.

Por Países Comunitarios la que más casos declaró fue Bulgaria con 64 casos y una Tasa de 92.86, seguida de Polonia con 8 casos.

Según los datos obtenidos del SVEA en el año 2008, no se declaró ningún caso de Toxoplasmosis Congénita en Andalucía.

- En el **año 2009** se declaran en Europa 306 casos de Toxoplasmosis Congénita y 1 caso se declaró en España.

Por Países Comunitarios en este año el País que más casos declara es Francia con 266 casos, seguida de Bulgaria con 17 casos declarados.

En el año 2009, se declara **1** caso de Toxoplasmosis Congénita en Andalucía (en Almería) lo que supone una Tasa de 0,01 por 100.000.

- **En 2010** se declaran en Europa 279 casos de Toxoplasmosis Congénita, con una Tasa de 7.85.

Por Países Comunitarios el que más casos declara es Francia con 244 lo que supone una Tasa de 30.54; seguido de Alemania con 14 casos y una Tasa de 2.11.

En este año se declara **1** caso de Toxoplasmosis Congénita en Andalucía (en Granada) lo que supone una Tasa del 0,01 por 100.000.

- En el **año 2011** se declaran en Europa 214 casos de Toxoplasmosis Congénita con una Tasa de 5.99.

Por Países Comunitarios el que más casos declara Francia con 186 casos lo que supone una Tasa de 23.01, seguida de Alemania con 14 casos declarados y una Tasa de 2.06.

En este año se declara **1** caso de Toxoplasmosis Congénita en Andalucía (en Almería) con una Tasa de 0,01 por 100.000.

- En el **año 2012** se declaran en Europa 40 casos de Toxoplasmosis Congénitas con una Tasa de 1.49.

Por Países Comunitarios el que más casos declara es Alemania con 20 y una Tasa de 3.02, seguida de Polonia con 10 casos declarados y una Tasa de 2.58.

En este año se declara **1** caso de Toxoplasmosis congénita en Andalucía (en Córdoba) con una Tasa de 0,01 / 100.000.

La Baja Incidencia de Toxoplasmosis en nuestra Comunidad Autónoma no es motivo para dejar de realizar esta determinación a todas las embarazadas y así se recoge en todas las Guías de Sociedades Científicas. No obstante en los últimos años se viene detectando **1** caso de Toxoplasmosis Congénita al año, justificando esta presencia para seguir con el cribaje a toda la población embarazada de nuestra Comunidad Autónoma.

El embarazo es un buen momento para la determinación de esta prueba y así orientar hacia un tratamiento específico, en el que se ha demostrado ya su eficacia, y como hemos podido comprobar también nosotros en nuestro Estudio sobre gestantes (en el que se encontró una gestante en 2009 y una en 2012 con IgG (+) y Baja Avidéz También es de mucho interés explicar para aplicación de las medidas de carácter higiénico-sanitario y hábitos, para evitar contraer la enfermedad durante la gestación en las seronegativas.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Práctica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 sobre su Recomendación basada en la Fuerza de la Evidencia.

| | |
|--------------|--|
| DÉBIL | Se sugiere no ofrecer el cribado de infección por Toxoplasma a toda mujer gestante |
| ✓ | Se sugiere informar a las mujeres sobre las medidas dietéticas e higiénicas dirigidas a reducir el riesgo de una infección por <i>Toxoplasma</i> |

5.4. VIRUS DE LA HEPATITIS B (VHB).

La hepatitis B es una enfermedad inflamatoria del hígado causada por un virus DNA de la familia de *Hepadnavirus* con gran afinidad por los hepatocitos. La infección se transmite principalmente por la sangre, hemoderivados, instrumentos punzantes no esterilizados, tatuajes, uso de jeringuillas compartidas, saliva, semen, o transmisión desde madre portadora de forma vertical (madre-feto) y perinatal produciendo cuadros agudos o crónicos, carcinoma hepático o cirrosis.

La distribución de la hepatitis B es mundial. La “forma aguda” es asintomática en el 85-90 % de los casos, aunque se suele acompañar de signos de alteración hepática con alteración de las enzimas hepáticas y cuadro clínico insidioso con fiebre, malestar, anorexia, náuseas, vómitos, coluria e ictericia.

También se suele presentar de forma fulminante (1 %), siendo así más frecuente en la embarazada y recién nacidos de madres infectadas por *VHB*. El 5-10 % de las infecciones agudas se “cronifican” tras la replicación viral y la viremia persistente.

La “infección crónica” suele ser en ocasiones “asintomática”. El riesgo de cronificación de la enfermedad aumenta cuando existe coinfección con otros virus (VHC) productores de hepatitis, y con el VIH.

Teniendo en cuenta los resultados de distintos estudios, se recomienda realizar un cribado de Virus de hepatitis B a todas las gestantes durante la primera visita del embarazo independientemente de que sepamos que la mujer se vacunó anteriormente o que tenga pruebas negativas anteriores, lo correcto sería determinar HBsAg a todas las embarazadas, dada la Sensibilidad y Especificidad de esta prueba, para derivar acciones preventivas en el R.N. de toda gestante con antigenemia positiva.

España es un País de Baja endemicidad para *VHB*, por lo que la infección vertical/perinatal es poco frecuente. La vía de transmisión más frecuente en nuestro medio y en la actualidad por la que la ha podido adquirir una embarazada, es durante las relaciones sexuales no protegidas y drogadictas por vía intravenosa.

La Baja endemicidad de *VHB* en nuestro País y Comunidad Autónoma, no es motivo para dejar de realizar esta determinación a todas las embarazadas, y así se recomienda en todas las guías de Embarazo, como la de la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía “*Embarazo, Parto y Puerperio (Año 2005)*” y en las del Ministerio de Sanidad “*Guía de Práctica Clínica de Atención en el Embarazo y Puerperio*”.

El embarazo es una buena oportunidad para tratar de “detectar a portadoras del *VHB*”, como se demuestra en nuestro Estudio, y otros estudios nacionales, en el que prácticamente el 60 % de la población embarazada que estudiamos y cuyo resultado fue

HBsAg positivo, “desconocían serlo”. Han sido en este 60.42 % gestantes portadoras cuya situación “conocían por primera” vez, en su estudio serológico de primer trimestre de gestación.

En los últimos años se ha observado un incremento asociado, posiblemente a la aparición de población susceptible (Emigrantes, VIH, Consumo de drogas vía parenteral, etc.) y población procedente de Países con una Alta endemia, Este mismo fenómeno se está observando en otros Países Europeos.

Respecto a datos Epidemiológicos comentamos que esta Enfermedad es de Declaración Obligatoria para los casos agudos, y en población general en España, la mayoría de las Comunidades Autónomas han presentado en su Incidencia, un descenso importante desde 1998, con Tasa por 100.000 habitantes del 2,88. Se registró incremento del número de casos en el año 2008 con respecto a los presentados en el período 2005-2007, y a partir de ahí ha descendido la Incidencia que ha continuado disminuyendo en los años posteriores.

A partir de 2008 el Centro Nacional de Epidemiología, comienza a notificar casos de hepatitis B en niños menores de un año. Este interés refleja el que en el período 2008 – 2012 se han notificado un total de 14 casos, de infección madre-Hijo por virus de la hepatitis B en España, 2 casos por cada año declarado, excepto en el año 2011 en el que se notificaron 6 casos. La Tasa para el grupo de población menor de 1 año, en este período se ha mantenido en valores de 0,4 por 100.000 habitantes. En 2012 en los menores de 1 año la Tasa de Incidencia de casos es prácticamente nula (dos casos solo).

Según los resultados de la Vigilancia Epidemiológica para las Enfermedades Transmisibles, en el Centro Nacional de Epidemiología Instituto de Salud Carlos III, para el año siguiente a la finalización de esta Tesis 2013, tenemos que en cuanto a la “distribución por sexo” se ve un claro predominio en los hombres 69,7 % con respecto a las mujeres 25,6 %; Por “grupos etarios” el mayor número de casos se da en población entre los 15 y 64 años (92,66 %) y el 5,78 % en mayores de 64 años y un 1,54 % en menores de 15 años. El mayor número de casos se da en población entre los 25 y 34 años para ambos sexos (justo la edad fértil de la mujer), por lo que “estimamos hay que hacer seguimientos a las embarazadas en España en su primer trimestre y caso de gestante con práctica de riesgo para VHB, también en su último trimestre de gestación”.

Para los “casos EDO”, no se conoció el estado de “inmunización por vacuna”, en el 76,45 % de los casos; el 22,52 % se registran como “no vacunados”; y sólo un 0,93 % y un 0,10 % refirieron haber sido “vacunado de forma completa” o “incompleta”.

Se observó en España una bajada de la Tasa Anual de Incidencia de la Hepatitis B aguda, desde la introducción de la vacuna (en calendario año 1994) y el año 2005. A

partir de este año se va notando un ligero incremento que afecta principalmente a varones en edades intermedias de la vida. Por ello se recomienda utilizar, para el control de la hepatitis B, seguir con cobertura vacunal infantil, medidas de protección sexual, vacunación a los grupos con factores-prácticas de riesgo, y control de la transmisión vertical / perinatal en la embarazada portadora (HBsAg) Positiva. En Europa (ECDC) con datos de 31 Países, la vacunación al nacimiento de RN está implantada en 21 Países, de los que en 14 lo son para RN de madre positiva (portadora).

En distintos Estudios realizados a lo largo del territorio nacional, encontramos porcentajes de positividad VHB que van desde el **0.1 %** encontrado por Salleras et al. en el año 2009 en Cataluña [211] al valor de **0.8 %** encontrado por Suárez et. al. en 2004 en Gijón[213]. Valores intermedios son los encontrados por otros autores y así tenemos del **0.37 %** encontrado por Gutierrez-Zufiaurre et al. en Salamanca en un estudio sobre una población de 2.929 embarazadas el año 2004. [192], y del 0.7 % encontrado por Panizo et al. en Navarra en el año 1994 [212] .

En nuestro estudio de Tesis la Prevalencia de gestantes portadoras fué del **0,42 %** sobre una población de 12.015 embarazadas (2008-2012), parecida a la encontrada en el estudio en Salamanca de Gutierrez-Zufiaurre y col. [192], y muy inferiores a las encontradas en otro estudio realizado en Andalucía en 1990, por Delgado Sánchez et al. en estudio durante cuatro años en embarazadas de un Centro de Salud que fué del **3.1 %** [214]

En otros Países se han encontrado cifras muy parecidas a las nuestras como las encontradas en Francia en el año 1990 con un 0.54 % [215] y del 1 % encontrado por Baldo et al. en Italia [216]

En España la Prevalencia de portadores en población general (no sólo embarazadas) de HBsAg se encuentra en estos últimos años entre un 2,26 por 100.000 habitantes del año 2008, y un 1.31 por 100.000 hab. del año 2012, según los datos obtenidos del Instituto de Salud Carlos III.

En nuestro estudio sobre 12.015 gestantes, un número muy importante de embarazadas, **“60,42 % desconocían serlo”**, y tan sólo un 39,58 % si conocían previamente ser portadoras de HBsAg.

En otro estudio, como el de Mazuelo, en 4.171 gestantes del Área Norte de Granada, en Tesis Doctoral en la Universidad de Granada a este respecto, encuentra un 0.64 % de gestantes portadoras y de ellas el 48,2 % de gestantes desconocían ser portadoras del VHB. La seroprevalencia encontrada por este autor es de **0.64 %**

Esto pone de manifiesto la importancia de la realización con carácter universal a todas las embarazadas, de la determinación de HBsAg, pues se demuestra que es una

“forma muy efectiva de diagnosticar esta infección en asintomáticas hoy” en nuestro medio.

- Según datos obtenidos del Instituto de Salud Carlos III – Vigilancia Epidemiológica y para el “Total de la población general”, sobre EDO de Enfermedad de Hepatitis B se tienen los siguientes datos, referidos a Casos Totales y Tasa de Incidencia para el total de España.

- **En el año 2008** se declaran en España **1.011** casos de Hepatitis B lo que supone una Tasa de Incidencia de 2,26 por 100.000 habitantes.

De ellos en Andalucía en el año 2008 se declararon **138** casos con una Tasa de 1.74 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2009** se declaran en España **871** casos de Hepatitis B lo que supone una Tasa de Incidencia de 1.93 por 100.000 habitantes.

De ellos en Andalucía en el año 2009 se declararon **133** casos con una Tasa de Incidencia de 1,67 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2010** se declaran en España **865** casos de Hepatitis B lo que supone una Tasa de Incidencia de 1.90 por 100.000 habitantes.

De ellos en Andalucía en el año 2010 se declararon **134** casos con una Tasa de Incidencia 1,67 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2011** se declaran en España **804** casos de Hepatitis B lo que supone una Tasa de Incidencia 1.74 por 100.000 habitantes.

De ellos en Andalucía en el año 2011 se declararon **129** casos con una Tasa de Incidencia de 1,56 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2012** se declaran en España **605** casos de Hepatitis B lo que supone una Tasa de Incidencia de 1.31 por 100.000 habitantes.

De ellos en Andalucía en el año 2012 se declararon **112** casos con una Tasa de Incidencia de 1,35 por 100.000 habitantes.

La Tasa por sexo fue de 1,84 por 100.000 hombres y de 0,72 por 100.000 en mujeres. Por sexo el mayor número de casos correspondió a los hombres con el 71,2 % quedando para las mujeres en el 28,2 %. La razón hombre/mujer fue de 2,48

- Los casos declarados como enfermedad para **VHB**, (y no engloba portadores Sanos) **por Comunidades Autónomas** obtenidos del Instituto de Salud Carlos III, son los que reflejamos:
 - **2008.** La Comunidad que más casos declaró fué Andalucía con 138 y una Tasa de 1.74 por 100.000 habitantes , seguida de la Comunidad Valenciana con 132 casos y una Tasa de Incidencia 2,74 por 100.00 habitantes

Las que menos casos declararon fueron Ceuta con 1 caso y una Tasa de 1.43 por 100.000 habitantes.

- **2009.** La Comunidad que más casos declaró fué Andalucía con 133 y una Tasa de 1,67 por 100.000 habitantes, seguida de Cataluña con 112 casos y una Tasa de 1,55 por 100.000 habitantes.

Las que menos casos declararon La Rioja con 1 caso y una Tasa de 0.32, junto con Melilla con un caso y una Tasa de 1.49 por 100.000 habitantes

- **2010.** La Comunidad que más casos declaró fué Andalucía con 134 y una Tasa de 1,67 por 100.000 habitantes.

La que menos casos declara Ceuta con 1 caso y una Tasa de 1.45 por 100.000 habitantes.

- **2011.** La Comunidad que más casos declaró fuè Cataluña con 178 y una Tasa de 2,44 por 100.000 habitantes seguida de Andalucía con 129 y una Tasa de 1,56 por 100.000 habitantes

Las que menos casos declaran Asturias con 8 casos y una Tasa de 0,76 por 100.000 habitantes y Ceuta con 2 casos y una Tasa de 2,61 por 100.000 habitantes.

- **2012.** La Comunidad que más casos declaró fué Andalucía con 112 y una Tasa de 1,35 por 100.000 habitantes seguida de Cataluña con 82 y una Tasa de 1,12 por 100.000 habitantes

Las que menos casos declaran fueron Asturias con 1 caso y una Tasa de 0,10 por 100.000 habitantes; Galicia con 1 y una Tasa de 0,04; Navarra 1 y una Tasa de 0,16 y País Vasco 1 caso y una Tasa de 0.05 por 100.000 habitantes.

▪ Para Europa según datos obtenidos para la enfermedad Hepatitis B del ECDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*) se registraron los siguientes parámetros de casos absolutos y Tasas de Incidencia por 100.000 habitantes en población general.

- **2008** se declararon en Europa 15.397 casos con un Tasa del 3.1 por 100.000 habitantes.
- **2009** se declararon en Europa 15.664 casos con una Tasa de 3.1 por 100.000 habitantes.
- **2010** se declaran en Europa 15.698 casos con una Tasa de 3.2 por 100.000 habitantes.
- **2011** se declaran en Europa 15.572 casos con una Tasa de 3.5 por 100.000 habitantes.
- **2012** se declaran en Europa 17.291 casos con una Tasa de 3.4 por 100.000 habitantes.

La posibilidad de transmisión de la infección del VHB esta descrita que puede ocurrir por vía transplacentaria en un 5 % - 15 % de gestantes portadoras, o lo descrito como más frecuente es que lo sea en el parto en el 90 % de las que lo han transmitido.

La transmisión de la Hepatitis B, de la madre al hijo, está muy relacionada con la presencia de HBeAg (+) en la madre, pues esto representa un alto valor replicativo del virus y por tanto un mayor riesgo de transmisión de madre-hijo.

El riesgo de que un R.N. adquiera VHB desde su madre, es del 70 – 90 % cuando la madre es HBsAg (+) y HBeAg (+), expresión de doble antigenemia, y este riesgo baja al 5 % cuando la madre es HBsAg (+) y HBeAg negativo.

Sin lugar a duda el HBsAg es el indicador más importante en la infección de Hepatitis B y por tanto el indicador más adecuado para diagnosticar Hepatitis B aguda, crónica o estado de “portadora con infección crónica asintomática en la embarazada”.

A toda embarazada HBsAg (Positivo) se le debe determinar, el HBeAg, pues este antígeno puede ser detectado tanto en la fase aguda como en la crónica de la enfermedad y el valor diagnóstico radica en la excelente correlación de su presencia, con la existencia de una alta actividad replicativa del virus y concentración elevada de la viremia, por lo que la sangre de estas embarazadas, deben ser considerada como altamente infecciosa y por ello hay una relación entre su presencia y la alta transmisibilidad vertical/perinatal del virus *VHB*, suponiendo un riesgo de transmisión del 70- 90 %, disminuyendo aproximadamente al 15-20 % en las anti-HBe positivo.

Hay que estar pendiente de la embarazada con antigenemia positiva durante todo el embarazo, y del niño en el momento de nacer para administrar Gammaglobulina específica, y la 1ª dosis de vacuna antiVHB dentro de las primeras 12 horas de vida, en Neonatología, y continuar con vacunación a las edades de 1 y 6 meses, con posterior control clínico y serológico a partir del 8º mes para dar su alta de seguimiento definitivo.

La vacuna contra el VHB es muy eficaz y segura. España optó en: 1982 por vacunar frente a VHB en grupos selectivos de riesgo.

- En 1992, el Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud, recomendó a todas las Comunidades Autónomas la implantación de un sistema de vacunación frente a VHB en sus Calendarios Vacunales, con una pauta de tres dosis y el screening a las embarazadas.
- En el año 2002 se completa la Estrategia con la vacunación del recién nacido, aunque en Andalucía se inicio en Enero de 1995.

Derivado de esta Tesis, podemos confirmar una situación para tales fechas de “Baja endemicidad en nuestra Área Sanitaria” que puede generar beneficios a la futura población infantil, con la práctica universal del screening de HBsAg a todas las gestantes.

La transmisión del *VHB* se produce durante el parto, más que intraútero, lo que justificaría el cribado universal en la embarazada y la eficacia de la administración de gammaglobulina y la vacunación del recién nacido, hijo de madre portadora, que disminuyen de forma muy importante, la posibilidad de un contagio y por consiguiente la evolución a una cronicidad de la infección de aquellos recién nacidos que adquieran la infección por VHB durante el embarazo o parto. Resultados de positividad como madre portadora, no justificarían Interrupción Voluntaria del Embarazo hoy día.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Práctica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 sobre su Recomendación basada en la Fuerza de la Evidencia.

| | |
|---------------|--|
| FUERTE | Se recomienda ofrecer un cribado de la Hepatitis B a todas las mujeres embarazadas en su primera visita |
| V | Se sugiere que en los casos en los que la gestante presente antígeno HBsAg (+), sea remitida al servicio correspondiente para estudiar si es portadora asintomática o padece una hepatopatía crónica, con el fin de instaurar tratamiento si procede y programar un seguimiento. |

5.5. SÍFILIS.

Enfermedad de transmisión sexual producida por “*Treponema pallidum*”. Se transmite exclusivamente de forma directa interhumana a través de los exudados por contacto con personas infectadas, durante el transcurso de relaciones sexuales (vaginal, anal u oral). También se puede transmitir por transfusiones sanguíneas. La sífilis congénita es de transmisión vertical.

Nosotros en nuestro cribaje hemos utilizado una prueba reagínica (RPR), es conocida su baja Especificidad y por ello no es raro puedan aparecer falsos positivos, aunque su fácil manejo y bajo coste, la eficacia del tratamiento tanto para la madre como para el feto, y la gravedad que se puede evitar, hace de ella una prueba necesaria, aun hoy día. El CDC (Center for Disease Control and Prevention) sigue recomendado, hoy día, el cribado de sífilis con una “prueba no treponémica” y ante los casos positivos, se debe realizar “prueba treponémica” [217].

Hay una revisión sobre intervenciones para reducir la muerte fetal y el parto pretérmino, de Barros en 2010 que evaluó la utilidad del cribado de sífilis, es cierto que este tipo de intervenciones esta mas bien enfocada a países en vías de desarrollo y mujeres de alto riesgo de contraer sífilis y que no corresponden a mujeres de nuestro entorno[218].

Un estudio de Cheng en 2007 evaluó el impacto de un programa universal de cribado de sífilis en 500.000 embarazadas atendidas en 61 hospitales de China. En este estudio se cribó al 94 % de las participantes en el programa y se diagnosticaron 2019 “casos de sífilis” durante los 3 años del estudio y además del número de casos diagnosticados, se constató que el 79% de las embarazadas fueron seguidas hasta el final. Se pudo diagnosticar 92 casos de “sífilis congénita”. La implantación del cribado consiguió reducir la tasa de sífilis congénita hasta los 22 casos por cada 100.000 gestantes. Se puso de manifiesto caso de sífilis congénita en el 4.6 % de las gestantes en las que el cribado serológico había sido positivo [219].

En un estudio de Coles (1998), y tras la implantación de un cribado obligatorio, se observó una disminución de los R.N. con manifestaciones clínicas de sífilis, y un aumento de la proporción de R.N. con serología positiva, pero sin presentar síntomas ($p=0.002$). Los autores afirmaron que los resultados se debían a que se mejoro la Detección temprana permitiendo el tratamiento precoz antes que se desarrolle la enfermedad [220]. También esto fue observado por Nelson (2004) [221].

Considerando los distintos resultados obtenidos por varios autores, podemos afirmar que los efectos indeseados derivados del cribado de sífilis en la mujer

embarazada no superan en ningún caso a su beneficio (Wolff, 2009) [222] y sigue siendo eficiente su realización.

Según los estudios de Coles,1998 y Cheng en 2007 , los resultados de falsos positivos en las pruebas de cribado con prueba serológica “No Treponémico” (R.P.R) están aproximadamente en el 1 %.

En España los datos de sífilis demuestran un descenso en las Tasas de Incidencias en el período 1995-2002 (de 2,57 a 1,86 por 100.000 habitantes) y se produce un aumento a partir de este año, hasta alcanzar una Tasa de 7,0 en 2010 y 7.64 en el año 2011 y 7,89 en 2012.

En España la incidencia es más alta en hombres entre 25 – 44 años. Respecto a la distribución en Andalucía la media de edad fue de 37 años. Con distribución de sexo del 73,6 % hombres y el 26,4 % mujeres.

Entre sus características se describen por nacionalidades el 75,8 % españoles, un 19,9 % inmigrantes, 2,0 % trabajadores del sexo, 1,9 % internos en prisión, y 0,3 % residentes en Instituciones cerradas.

En España también se han detectado algunos incrementos de esta enfermedad y una elevada “coinfeción” con el VIH.

Desde finales de los años 90 se han producido algunos brotes de sífilis en algunas ciudades Europeas, todos ligados a enfermedad de transmisión sexual.

- Según los datos registrados para sífilis en España y como EDO obtenidos del Instituto de Salud Carlos III y los datos obtenidos del EDC (*European Center for Disease Prevention and Control*) los casos de Sífilis declarados son :
 - En el **año 2008** se comunican en España 2.545 casos, lo que supone una Tasa de Incidencia de 5,70 por 100.000 habitantes.

En Europa se declaran 20.143 casos con una Tasa de 4,6

- En el **año 2009** se comunican en España 2.506 casos lo que supone una Tasa de 5,56 por 100.000 habitantes.

En Europa se declaran 19.797 casos con una Tasa del 4,5

- En el **año 2010** se comunican en España 3.187 casos lo que supone una Tasa de 7.0 por 100.000 habitantes.

En Europa se declaran 18.838 casos con una Tasa de 4.2

- En el **año 2011** se comunican en España 3.522 casos lo que supone una Tasa de 7,64 por 100.000 habitantes.

En Europa se declaran 20.653 casos con una Tasa de 4,6.

- En el **año 2012** se notificaron en España 3.641 casos lo que supone una Tasa 7,89 por 100.000 habitantes.

En Europa se declaran 20.769 casos con una Tasa del 4,5.

Respecto a los casos de España en los que se había recogido información sobre el estadio de la enfermedad, un 30,7 % presentaba una “sífilis primaria”, 31,8 % “sífilis secundaria”, 29,17 % sífilis latente y 8,21 % sífilis tardía. A lo largo del periodo han ido aumentando los casos declarados en estadio latente y secundario, detectándose a su vez un aumento significativo pero en menor escala de los casos primarios y tardíos.

- **Distribución de casos EDO- Sífilis por Comunidades Autónomas.**

(Sífilis Congénita se cita en otro apartado)

- **En el año 2008** las que notificaron la Tasa de Incidencia más altas, fueron Canarias con 12,86 por 100.000 habitantes, Asturias 12,76 y Baleares 9,56 Las de menor Incidencia en este año fueron Extremadura 1,86 por 100.000 habitantes, La Rioja 1,62 y Melilla con 1,48.

Andalucía declaró en este año 601 casos, con una Tasa de Incidencia de 7,60 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2009** las Comunidades que notificaron las Tasas más altas fueron Baleares con 9,29 por 100.000 habitantes, seguidas de Canarias con 8,61 y Asturias con 8,60 La que menor tasa notifico fue Castilla la Mancha con 1,79.

Andalucía declaró en este año, 631 casos, con una Tasa de 7,91 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2010** las Comunidades que notificaron las Tasas más altas fueron, Canarias con 12,71 por 100.000 habitantes, Madrid con una Tasa de 10,21, y Asturias con una Tasa de 10,07 Las que menos Tasas presentaron en este año fueron, Galicia con una Tasa de 2,33 y Melilla con una Tasa de 1,49.

Andalucía declaró en este año 623 casos, con una Tasa de 7,75 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2011** las Comunidades que notificaron las Tasas más altas fueron Madrid con 14,34 por 100.000 habitantes, Baleares con una Tasa de 11,62 y Asturias con una Tasa de 10,91. La que notifico la Tasa más baja fue Galicia con una Tasa de 2,20.

Andalucía declaró en este año 544 casos con una Tasa de 6,58 por 100.000 habitantes.

- **En el año 2012** Las Comunidades que notificaron las Tasas más altas fueron Baleares con 13,49 por 100.000 habitantes, Madrid con una Tasa de 12,52 y Canarias con Tasa de 10,99. La Comunidad que menor Tasa presentó fue Castilla La Mancha con un 2,59.

Andalucía declaró en este año, 506 casos con una Tasa de 6,10 por 100.000 habitantes.

➤ **Especificación de la evolución de las Tasas de Incidencia de EDO-Sífilis, Andalucía (2008-2012).**

La evolución de la Tasa de Incidencia en Andalucía muestra un incremento continuo desde 2004, pasando de 2,63 / 100.000 habitantes. a 7,60 en 2008, llegando a 7,91 en 2009 y luego ir descendiendo con Tasas de 7,75 en 2010 y 6,58 en 2011, y algo menor 6,10 en 2012.

Se ha podido comprobar que hay una distribución variable de los casos de Sífilis, y así se detectó un incremento importante entre 2005 y 2008.

Como resumen en cuanto a Tasa de Incidencia de casos notificados clínicos de Sífilis como EDO en la Comunidad Andaluza, según datos obtenidos a nivel Nacional del Instituto Carlos III tenemos:

Año 2008 se declaran 601 casos, con una Tasa de 7,60 por 100.000 habitantes.

Año 2009 se declaran 631 casos, con una Tasa de 7,91 por 100.000 habitantes.

Año 2010 se declaran 623 casos, con una Tasa de 7,75 por 100.000 habitantes.

Año 2011 se declaran 545 casos, con una Tasa de 6,58 por 100.000 habitantes.

Año 2012 se declaran 506 casos, con una Tasa de 6,10 por 100.000 habitantes.

habitantes.

La notificación de casos de sífilis se estabilizó durante el año 2009 con respecto a 2008, y habrá que confirmar en el futuro si se trata de una situación puntual o responde a cambio en la tendencia. De los casos de los que se dispone información individualizada, la mayor parte de los casos fueron hombres de 20 a 44 años.

La tendencia creciente de la Incidencia de la Sífilis en los últimos años, observada en España, parece haberse estabilizado como en Andalucía desde 2009 y en torno al 6 por 100.000 habitantes para población general.

En esta Tesis, constatamos que el porcentaje de mujeres embarazadas de 2008 a 2012 con RPR (+) (29 casos) fue del **0,29 %**, y de estas, las 29 todas dieron “resultado negativo a la prueba FTA/Abs IgM”, en los cinco años de nuestro Estudio

Sería recomendable, dado el incremento de los casos de sífilis en nuestra Comunidad, repetir la determinación serológica a la embarazadas, en el tercer trimestre (semana 28) [223][224] si la gestante es considerada que tiene practica de riesgo de infección luética, como prostitución, gestantes diagnosticadas de otras infecciones de transmisión sexual, usuarias de drogas, las que viven en situación de pobreza y aquellas otras en las que su historia clínica, antecedentes o prácticas de riesgo, así sean orientadas por Obstetricia.

Si el resultado de esta prueba R.P.R. es negativo, se podría descartar una infección por *T. pallidum*, pero teniendo siempre presente las limitaciones de la técnica. Igualmente hay que considerar que la positividad de una prueba “No Treponémico” tampoco es sinónimo de infección, pues hay que tener presente las reacciones falsas positivas como puede ocurrir en la gestación, por lo que se debe efectuar test “Treponémico” Si el R.P.R. es negativo y “existe sospecha o factores de riesgo”, es imprescindible realizar una prueba Treponémica para descartar los falso negativo y repetir el estudio con otra muestra obtenida 30 días más tarde [225].

En Andalucía en el período 2004-2011 se han notificado 2.778 casos clínicos de Sífilis en población general para toda edad confirmados, y 872 probables. De ellos en el año 2011, 501 confirmados y 50 probables. La evolución de la Tasa de Incidencia (confirmados y probables) muestra un “crecimiento continuo desde 2004”, pasando de 2.63 por 10⁵ habitantes, a 7,91 por 10⁵ habitantes en 2009, para luego descender con tasas de 7,47 en 2010 y de 6,54 en 2011.

Citamos el que para Andalucía en el análisis de la distribución geográfica se ha de tener en cuenta el sesgo probablemente determinado por la localización de centros de E.T.S., actualmente en las provincias de Sevilla, Cádiz (Algeciras), Málaga, y Granada. Se observa una desigual distribución de los casos, de las tasas, y de la información

registrada en función de la distribución provincial de los Centros de ETS. Estos Centros contribuyen enormemente a la vigilancia activa y al seguimiento de este tipo de patologías.

En 2011 el Centro de E.T.S. de Sevilla realizó el 43% de las notificaciones de toda Andalucía y estimamos que ello es así por la facilidad de acceso poblacional a tan Cualificados Centros Diagnósticos de ETS.

Para el total de Andalucía la media de edad fue de 37 años (mediana de 35 años y desviación típica de 12,9).

De los casos en los que se ha recogido “información sobre el estadio-fase” un 30,7 % presentaba una “Sífilis primaria”, 31,8 % “secundaria”, 29,17 % “latente” y 8,21 % “tardía”.

A lo largo de los años han ido aumentando los casos en “estadio latente” y “secundario”, detectándose a su vez un aumento significativo pero en menor escala, para los casos primarios y tardíos.

Respecto a datos comparativos en gestantes en España existèn múltiples estudios de Seroprevalencia de Sífilis, en los que las cifras de Seroprevalencia son parecidas, así Moreno [226] la sitúa en su estudio en el 0.15 % ; Ramos [198] comunica en 2007 una prevalencia del 0,3% en un estudio realizado en Elche; y Gutierrez-Zufiaurre [192] 2004 encuentra una cifra de 0.24 %. Sampedro y Mazuelas encuentran en Granada un 0.3%. Valores similares a los de este estudio.

De los resultados estadísticos obtenidos por la Unidad de Transfusiones Sanguíneas de nuestra Área Sanitaria (Área Sanitaria Norte de Cádiz) para el período 2008-2012, en estudio de Sífilis en Donantes de Sangre, sobre “población general presuntamente sana”, registraron un 0,01 % de pacientes R.P.R. Positivo para toda la población de donantes de sangre. En nuestro Estudio solo se analiza “población embarazada”, en esta misma Área, encontrando un **0.24 %** para el test de R.P.R. en gestantes (2008-2012), pero en el 100 % el test Treponémico FTA/Abs-IgM fue negativo.

➤ **Sífilis Congénita en España: (Según fuente EDO del Instituto de Salud Carlos III)**

- En el **año 2008** se notifican **24** casos confirmados de Sífilis Congénita, con una Tasa de Incidencia de 1,92 / 100.000 nacidos vivos.
- En el **año 2009** se notifican **14** casos confirmados, Sífilis Congénita, con una Tasa de 0,03 / 100.000 nacidos vivos.

- En el **año 2010** se notifican **11** casos confirmados de Sífilis Congénita con una Tasa del 0,02 / 100.000 nacidos vivos.
- En el **año 2011** se notificaron **7** casos confirmados de Sífilis Congénita, con una Tasa de 0,02 / 100.000 nacidos vivos.
- En el **año 2012** se notificaron **2** casos confirmados de Sífilis Congénita con una Tasa de 0,005 / 100.000 nacidos vivos.

En Europa durante el año 2012 se diagnosticaron 87 casos de Sífilis Congénita con una Tasa de Incidencia de 3,2 por 100.000 nacidos vivos. La mayoría de estos caso se diagnosticaron en Bulgaria, Polonia, Portugal y Rumania según datos del “*Report 2012- European Centre Disease Prevention an Control-ECDC*”.

➤ **Sífilis Congénita en Andalucía :**

Según datos obtenidos de los Boletines de Enfermedades de Declaración Obligatoria por provincias “SVEA” del Servicio de Epidemiología y Salud Laboral de la Consejería de Salud de Andalucía.

En el **año 2008** de Sífilis Congénitas se declaran **3 casos** : Ello supone una Tasa específica de 0,04 por 100.000 nacidos vivos.

- 1 caso en Granada
- 1 caso en Málaga
- 1 caso en Almería

En el **año 2009** se declaran **4 casos** de Sífilis Congénita: Ello supone una Tasa específica de 0,05 por 100.000 nacidos vivos.

- 1 en Córdoba
- 1 en Jaén
- 1 en Málaga
- 1 en Sevilla

En el **año 2010** se declaran **7 casos** de Sífilis Congénita : Ello supone una Tasa específica de 0.08 por 100.000 nacidos vivos.

- 2 en Córdoba
- 2 en Granada
- 3 en Sevilla

En el **año 2011** se declaran **1 caso** de Sífilis Congénita: Ello supone una Tasa específica de 0,01 por 100.000 nacidos vivos.

- 1 caso en Málaga,

En el **año 2012** se declaran **2 casos** de Sífilis Congénita: Ello supone una Tasa específica de 0,02 por 100.000 nacidos vivos.

- 1 en Córdoba
- 1 caso en Huelva

➤ **OMS-Plan para la Eliminación de la Sífilis Congénita**

La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el año 2007 puso en marcha un Plan basado en tres puntos, los que consideramos de especial interés para este Estudio. Por su valor los exponemos:

- Reducción de la prevalencia de la sífilis en las embarazadas
- Prevención de la transmisión materno-infantil
- Mejora de los Sistemas de Vigilancia Epidemiológica

Para el quinquenio de este estudio 2008-2012 puede constatarse que en el Área Sanitaria de Jerez, no se ha presentado ni Declarado al SVEA, caso alguno de Sífilis Congénita, lo que es totalmente correlacionado con la serología de las gestantes, en las que todo RPR valorable fuè analizado con test Treponémico FTA-Abs-IgM, que fue negativo en todos los casos.

En concordancia con lo establecido por la OMS desde 2007 respecto al “Plan para la Eliminación de la Sífilis Congénita en el Mundo”, lo efectuado en esta tesis entra de lleno en lo definido como prevención de la transmisión en la que es primordial el estudio de la serología en la gestante.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Práctica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 sobre su Recomendación basada en la Fuerza de la Evidencia.

| | |
|--------------|--|
| DÉBIL | Se sugiere ofrecer un cribado rutinario de sífilis a todas las mujeres embarazadas en la primera visita del embarazo. |
| ✓ | Dado que las pruebas de cribado sífilis pueden dar resultados falsos positivos, se sugiere disponer de protocolos adecuados de diagnóstico |

5.6. VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA (VIH).

No existen estudios clínicos que comparen la realización del cribado de VIH en mujeres embarazadas, frente a no realizarlos. Sí se conocen los “efectos beneficiosos” de un diagnóstico precoz del VIH en embarazadas y los beneficios del tratamiento antirretroviral (TAR) como medio para disminuir la transmisión madre a hijo.

La Organización Mundial de la Salud (O.M.S.) ha publicado nuevas Recomendaciones sobre el tratamiento del VIH, y entre ellas recomienda comenzar el tratamiento antirretroviral cuanto antes, ya que existen evidencias que muestran una mayor supervivencia y mayor calidad de vida de los pacientes, además de reducir considerablemente el riesgo de transmisión a otras personas.

Su publicación de “Directrices consolidadas para el uso de medicamentos antirretrovirales para el tratamiento y la prevención de la infección por VIH”, muestran que 9.7 millones de personas estaban tomando estos medicamentos que salvan vidas a finales de 2012, y la aplicación de las nuevas Recomendaciones podrían evitar 3 millones de muertes y prevenir 3.5 millones de nuevos casos de infecciones por VIH de aquí a 2025.

En las nuevas Recomendaciones de la OMS, se valora el adelantar el tratamiento a los que están con VIH y su recuento linfocitario celular CD4 cae a 500 células/mm³ o menos, aunque aún se pueda considerar que tienen un sistema inmune fuerte. Anteriormente en 2010 la OMS estableció ofrecer el tratamiento a partir del umbral de 350 CD4 células/mm³ o menos, ya que era más exigente en cuanto a no iniciar el tratamiento hasta observar un mayor daño en la inmunidad celular.

Las nuevas Recomendaciones incluyen el suministro de terapia antirretroviral, “independiente del recuento de CD4”, a los niños con VIH menores de 5 años, “**a las mujeres embarazadas**”, y lactantes infectados por VIH, así como a todas las personas VIH positiva que mantienen una pareja no infectada.

Otra novedad de estas “Directrices” es que recomienda ofrecer a todos los adultos el tratamiento antirretroviral (TAR) combinado en una sola píldora de tres fármacos antirretrovirales: tenofovir, lamivudina (o emtricitabina) y efavirenz.... una solo vez al día. Esta combinación es mucho más fácil de tomar y tiene la ventaja también de que se puede utilizar igual en adultos, **mujeres embarazadas**, adolescentes y niños.

Avances como estos permiten que los niños y las **mujeres embarazadas** accedan al tratamiento “más temprano” y con mayor seguridad. El reto ahora esta

conseguir innovaciones para poder hacer pruebas a los recién nacidos (R.N.) de forma más rápida y poder darles un tratamiento adecuado.

En el “cribado generalizado a todas las embarazadas”, hay que tener presente los efectos indeseables de un resultado falso positivo, se han descrito algunos como interrupción voluntaria del embarazo, ansiedad, discriminación, relación de pareja afectada. Es aconsejable realizar el cribado serológico en la primera consulta previo consentimiento de la embarazada, pero hay que ser más riguroso en las embarazadas con factores-prácticas de riesgo asociado como “Usuarías de Drogas por Vía Parenteral” (UDVP), promiscuidad sexual, antecedentes de infección de transmisión sexual, pareja con VIH positivo y cuando lo considere oportuno el Servicio de Obstetricia, para lo que el Laboratorio, debe rigurosamente validar, todo resultado analítico, antes de emitir un resultado confirmatorio positivo de serología VIH.

La anemia en mujeres embarazadas con infección VIH, se asocia a un riesgo aumentado de resultado adverso perinatal y de transmisión vertical.

La mujer infectada por VIH, tiene un riesgo aumentado de padecer abortos espontáneos, que se asocia con el estadio de la enfermedad, recuento de su población linfocitaria de CD4 y tiempo de progresión de la infección.

En España la “detección precoz y el tratamiento del VIH en las embarazadas”, es algo que ha permitido que la “Tasa de transmisión vertical” este por debajo del 1 % (Según el Plan Nacional del Sida). La “Legislación española permite” a toda mujer embarazada con VIH confirmado, si lo desea, poder interrumpir voluntariamente el embarazo (IVE), acogiéndose al supuesto de “aborto terapéutico”.

Los patrones Epidemiológicos de transmisión del virus del Sida han cambiado, así hace algunos años la principal vía de contagio era el compartir el material para inyectarse la droga, y hoy el VIH se transmite principalmente por vía sexual.

La reducción de la Incidencia del VIH en España se ha producido de una manera notable y principalmente en los últimos diez años, y “ha tenido gran valor la detección de gestantes portadoras del VIH en el cribado prenatal” y la introducción de terapia en los casos positivos, ha permitido disminuir de una manera drástica la transmisión vertical [227].

Con el fin de prevenir la transmisión vertical, es preciso que la mujer embarazada conozca su “condición de infectada por el VIH o no, por ello es necesario ofrecer a toda embarazada “con algún factor de riesgo”, la posibilidad de realizar una prueba serológica para detectar VIH, ya que esto es básico para evitar la transmisión vertical de la enfermedad, así como ofrecer una información adecuada al respecto.

El TAR es importante para la mujer embarazada y para manejar la transmisión vertical (TV). Se ha demostrado una disminución de la transmisión vertical en las embarazadas tratadas en el embarazo, parto y posteriormente en el recién nacido (RN) [228].

La instauración del tratamiento TAR depende del estado inmunológico de la mujer y se deben seguir las mismas recomendaciones generales de tratamiento del adulto. En caso de no necesitar tratamiento, este se recomendará a partir del segundo trimestre de la gestación, con el fin de evitar la transmisión vertical. En los casos en los que la carga viral sea alta, se debe considerar un inicio más precoz.

El TAR incluso con niveles bajos de CVP (Carga Viral Plasmática), disminuye la transmisión vertical, por lo que la “gestación es siempre una indicación absoluta” para recibir el tratamiento y no contraindicación si se manejan los antirretrovirales adecuados en la gestación.

La embarazada debe conocer, tanto los “efectos adversos” sobre el embarazo y a largo plazo sobre el recién nacido, como los “efectos beneficiosos” del tratamiento, cifrados estos en la reducción de la carga viral, y en la disminución del riesgo de transmisión vertical.

Ante un “test positivo confirmado de seropositividad VIH”, se debe actuar con la mayor celeridad posible para disminuir el riesgo de transmisión vertical.

El principio general debe ser el tratamiento adecuado de la madre. Una adecuada supresión de la “replicación viral en la gestante” es, sin duda, la mejor medida para disminuir la transmisión vertical.

El TAR, aun conociendo los efectos teratogénicos, no parece asociado a una mayor tasa de malformaciones en los fetos, ni un incremento en la frecuencia de aparición de las mismas.

Distintos estudios realizados antes de la introducción del TAR mostraban un incremento de la prematuridad, recién nacidos de bajo peso y retraso del crecimiento. Hay otros estudios como el de Lambert en el 2000, en el que especifica que no parece que la tasa de retraso de crecimiento, bajo peso y prematuridad se asocien a factores diferentes en las mujeres infectadas por el VIH, respecto de la población general.

La introducción del TAR se ha asociado en estudios europeos con un incremento de la prematuridad. Se describe aumento de la prematuridad en mujeres tratadas con TAR, tanto si incluye inhibidores de la proteasa (IP), como si no se incluyen estos.

El Grupo Colaborativo Europeo también encuentra asociación entre prematuridad y TAR. Este mismo Grupo encuentra prematuridad grave (<34 semanas) cuando el tratamiento se inicia antes del embarazo. Los estudios en España no encuentran relación entre prematuridad y los tratamientos que contenían inhibidores de proteasas (IP).

Ante la falta de más estudios que aclaren las causas de la muerte intraútero y el desarrollo de preeclampsia, el embarazo requiere una estrecha vigilancia, que nos permita un diagnóstico temprano de alteraciones hipertensivas y del sufrimiento fetal.

Estas gestantes pueden además presentar otros problemas de salud como Tabaquismo, coinfección VHC, infecciones de transmisión sexual, displasia cervical, cáncer de cuello uterino y tuberculosis, que pueden complicar aún más la gestación y que obliga a realizar controles más exhaustivos. Por todos estos factores, estas gestantes pueden tener un mayor riesgo de rotura precoz de membranas, parto prematuro, y retraso del crecimiento intraútero.

En caso de que la madre no necesite tratamiento, las actuales directrices españolas recomiendan la TARGA (Terapia Antirretroviral de Gran Actividad) a partir del “segundo trimestre de embarazo”, para prevenir la transmisión vertical. Dada la toxicidad de los fármacos antirretrovirales, debe efectuarse un estrecho seguimiento clínico y analítico durante toda la gestación. En todo caso, la selección de fármacos, debe tener en cuenta tanto la seguridad de la madre, como la del hijo, por los efectos teratogénicos de alguno de ellos.

De acuerdo con las directrices españolas, si la madre ha recibido TARGA durante el embarazo, tiene una carga viral por debajo de 1.000 copias/mL en el último trimestre de gestación, y el contacto entre la sangre materna y el niño se minimiza durante el parto, entonces el “parto vaginal” no comporta mayor riesgo de transmisión. En caso contrario, se recomienda realizar “cesárea”.

➤ **Datos Epidemiológicos sobre EDO-SIDA.**

(Son declarados los Casos en estadio Síndrome de Inmunodeficiencia)

En Andalucía, hemos obtenidos los datos de SIDA del “*Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Andalucía*” SVEA .- Los datos de España y Europa han sido obtenidos del EDC (*European Centre for Disease Prevention and Control*)

- **Año 2008. En Andalucía** se notifican **164** nuevos casos, con enfermedad en estadio SIDA, siendo la provincia de Málaga la que aporta como EDO el mayor número de Casos y Tasa.

Córdoba fue la provincia con menos número de Casos diagnosticados y con menor Tasa.

El Índice de masculinidad, para este año, se sitúa en cuatro hombres por cada mujer (4/1).

Por vía de transmisión, la vía parenteral es de la de mayor entidad (UDVP), aunque se registró un incremento en la transmisión sexual respecto a años anteriores.

En 2008 se declaró **1 caso de transmisión vertical madre-hijo.**

En España para casos SIDA nuevos se notificaron 3.188 casos con una Tasa de Incidencia de 10,9 por 100.000 habitantes.

En Europa para este mismo año 30.628 con una Tasa de 6 por 100.000 habitantes

- **Año 2009 En Andalucía** se notifican **175** nuevos casos.

Málaga sigue siendo la provincia con la Tasa más alta por 100.000 habitantes

Sevilla la de mayor número de Casos declarados

Córdoba la de menor número de Casos y Tasa

Se sigue observando un incremento de la edad media al diagnóstico, en hombres a los 42 años y mujeres a los 40 años

El índice de masculinidad, cuatro hombres por cada mujer (4/1).

La vía de transmisión más común sigue siendo la parenteral, UDVP, y sigue aumentando la de transmisión sexual.

En el 2009 se diagnosticaron **2 casos de transmisión vertical madre-hijo.**

En España para casos SIDA nuevos se notificaron 3.340 casos con una Tasa de Incidencia de 9,6 por 100.000 habitantes.

En Europa se notifican 30.108 con una Tasa de 5,9 por 100.000 habitantes

- **Año 2010. En Andalucía** se declararon **140** nuevos casos

Málaga seguía siendo la provincia con mayor número de Casos declarados y en valores de Tasa, Almería seguida de Málaga.

Se sigue observando un incremento en la edad media de diagnóstico, 42 años para los hombres y 41 años para las mujeres.

El índice de masculinidad sigue siendo de cuatro hombres por cada mujer (4/1).

La vía de transmisión más habitual sigue siendo la vía parenteral (UDVP), aunque está aumentando la vía sexual.

En este año **NO se declaró caso alguno de transmisión vertical madre-hijo.**

En España para casos SIDA nuevos se notificaron 3.575 casos con una Tasa de Incidencia de 10,0 por 100.000 habitantes.

En Europa se notifican en este año 31.376 casos con una Tasa de 6.1 por 100.000 habitantes

- **Año 2011 En Andalucía** se declararon **134** nuevos casos de Sida

Málaga sigue siendo la provincia con mayor número de Casos y mayor Tasa

Se sigue observando un incremento de la edad media de diagnóstico 42 años para los hombre y 44 años para las mujer

El Índice de masculinidad fue para este año de tres hombres por cada mujer (3/1) y se inicia con mayor frecuencia esta aproximación.

No se diagnosticó en este año caso alguno de transmisión vertical de madre-hijo

En España para casos SIDA nuevos se notificaron 3.244 casos con una Tasa de Incidencia de 8,4 por 100.000 habitantes.

En Europa se notificaron 30.750 con una Tasa de 6 por 100.000 habitantes.

- **Año 2012. En Andalucía** se declararon **129** nuevos casos de Sida

Por sexos sigue un ligero predominio del sexo hombre sobre la mujer.

Por primera vez en Andalucía se observa predominio de la vía de transmisión por prácticas heterosexuales de riesgo, sobre la de usuarios por vía parenteral (UDVP). Si se valora, conjuntamente la vía heterosexual, y la de hombres que practican sexo de riesgo con hombres (MSM), la transmisión sexual representan el 54,4 % (más de la mitad de los casos diagnosticados este año).

En España para casos SIDA nuevos se notificaron 3.210 casos con una Tasa de Incidencia de 8,2 por 100.000 habitantes.

En Europa se notificaron 29.306 casos con una Tasa de 5,7 por 100.000 habitantes.

Dentro de este contexto para España deseamos exponer lo consideramos de interés respecto a lo que podríamos conseguir como “comparativo con estudio de Seroprevalencia en gestantes”, a partir de publicaciones concretas por autores españoles.

La Seroprevalencia de la infección VIH en la mujer embarazada en España está en torno al 0.3 % aproximadamente según las Regiones en las que se ha estudiado.

En Salamanca según Gutiérrez –Zufiaurre está en el 0.22 % [192].

Según Suarez en un estudio realizado en un Área sanitaria en Gijón, la sitúa en el 0.11 % [229].

En un estudio realizado en España por Seisdedos en el período 1996-2005 en ocho Regiones Autonómicas, la Seroprevalencia del VIH permaneció estable entre el 0.14 % y el 0.19 % [230].

En estudio realizado en Granada por Sampedro, encuentra una Seroprevalencia frente al VIH, del 0.1 % para estudio en embarazadas españolas; y del 0.9 % en población gestante extranjera, dándose la mayor Seroprevalencia, en este grupo de extranjeras, en población Subsahariana [193].

Nosotros en nuestro Estudio encontramos una Seroprevalencia de **0.093 %**, más baja que la media encontrada en otras Regiones. Quizás en nuestro estudio la población tiene un número de gestantes extranjeras (inmigrantes) muy bajo, en comparación con los otros estudios citados en los que la población de mujeres gestantes extranjeras (Latinoamérica, Norteafrica, Subsahara, Europa del Este...) es muy superior.

Respecto a la discusión de practicar el test serología VIH a las gestantes actualmente “a todas” o solo a gestantes “con practicas-factor de riesgo” en ofrecimiento previa consulta con Obstetricia para la toma de decisión, expresamos que la segunda opción es absolutamente necesaria y respecto a la primera, mencionamos la posición del Ministerio de Sanidad en su Guía 2014, pues esta, todavía no está implementada en todas las Comunidades Autónomas.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Práctica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 sobre su Recomendación basada en la Fuerza de la Evidencia.

| | |
|---------------|---|
| FUERTE | Se recomienda ofrecer un cribado universal de VIH en la primera visita prenatal |
| v | Se sugiere repetir la determinación en la última analítica del embarazo en mujeres con riesgo de infección por VIH. |

5.7. VIRUS DE LA HEPATITIS C (VHC).

La hepatitis C constituye un gran problema de salud en todo el mundo. Se calculan en más de 170 millones de personas las que la padecen en el mundo, aunque existen diferencia entre unas Regiones y otras.

La Seroprevalencia de la infección por el VHC en la población adulta española está en torno al 2- 3 %, siendo del 0.1 % al 1,4 % en las gestantes (Muñoz-Almagro 2002) [231] variando esta Tasa mucho entre los distintos Países de Europa.

Como datos de interés respecto al nivel de impregnación deducido de estudios de Seroprevalencia en población general y en población específica de trabajadores sanitarios tenemos que comentar.

En Cataluña en estudio realizado por Sola, en población general en 2002, encuentra cifras de 2.64 % [232].

Riestra en estudio realizado en población del norte de España encuentra cifras de Seroprevalencia del 1.6 % [233].

Calleja en un estudio realizado sobre 5.017 trabajadores de atención de salud (TAS) voluntarios en 2013 encuentra una Seroprevalencia del 0,6 % [234]

El seguimiento de niños nacidos de madres infectadas por el VHC, demuestra la transmisión vertical de esta enfermedad está entre el 0-7 % [235,236]

Esta proporción aumenta considerablemente hasta un 20-22 % en madres coinfectadas con el VIH [237,238]

La principal vía de transmisión es sin lugar a dudas, la vía parenteral (85 %), contacto percutáneo o de mucosas con material contaminado por sangre, hemoderivados, transmisión sexual. En los niños puede existir transmisión vertical del virus de la hepatitis C (VHC), pero no es frecuente (5-10 %) y aumenta en las madres con Carga Viral alta en el momento del parto. Si se asocia en la gestante a coinfección con el virus del VIH, puede llegar incluso a quintuplicarse el riesgo de la transmisión vertical.

Occidente y Estados Unidos registran entre 0,4 y 1,1 %, y en la zona Norte de África puede alcanzar la cifra de 9,6 a 28 %. En nuestro medio podemos situarla en torno al 2 - 2,5 % en población general, aunque la prevalencia de anticuerpos en la gestante, está en torno al 0,1 % y el 2,4 %. Sin lugar a dudas el momento de mayor

riesgo para la transmisión vertical es el parto por el contacto de hijo con la sangre materna. La lactancia no parece tener importancia en la transmisión vertical

La transmisión madre/hijo es la vía principal de adquisición de esta enfermedad en los niños. En madres viremicas se llega a constatar que el riesgo de transmisión se puede situar entre el 3 y el 7 %. Algunos autores publican que se conoce que el 90 % de los niños infectados por el VHC son por contagio madre/hijo [239].

Los factores implicados en la transmisión vertical del VHC se desconocen en la mayoría de los casos. No obstante, se asumen como potenciales factores de riesgo la “presencia de alta carga viral en el momento del parto” y la “coinfeción con el VIH” subiendo el riesgo de transmisión al (20-22 %).

- En estudio realizado en Granada Hospital Virgen de las Nieves, Rubio Quevedo [240], sobre prevalencia del VHC, se hizo un seguimiento a 35 niños hijos de madres VHC (+), mediante controles de anticuerpos VHC, PCR-VHC y Enzimas Hepáticas.
De los 35 niños estudiados hijos de gestantes positivas el 100% tuvieron al nacer Ac VHC (+) Se negativizaron como media a los 6 meses. En 2 niños (5,7%) se detectó infección persistente por test PCR-RNA-VHC (1 de ellos de madre VHC (+) y VIH (+)).
Sobre las 35 gestantes seropositivas VHC, se identificaron como factor de riesgo el ser Usuaria a Drogas por Vía Parenteral o Transfusión en 19 casos (54 %) y en 9 casos (26 %) tenían coinfección con el VIH.
Este estudio concluye que la transmisión vertical del VHC está en torno al **5%**, con mayor riesgo para las madres VHC/VIH (+) o factores de riesgo parenterales.
- En un estudio realizado en Sevilla por Casanova [241] igualmente se pone de manifiesto la correlación de carga viral en la madre y la transmisión al recién nacido.
Se estudiaron 6.556 gestantes, y se hizo un seguimiento a 50 niños de madres seropositivas VHC, durante 12 meses. De las 6.556 gestantes evaluadas, 59 presentaron Ac. frente al VHC lo que supone una Seroprevalencia VHC del 0,9 % .De los niños estudiados 44 (88 %) fueron PCR-RNA-VHC negativo, y 6 (12 %) fueron PCR-RNA-VHC positivo. La carga viral en las madres de niños infectados, fue significativamente mayor, que la carga viral de las madres de niños no infectados. La Tasa de transmisión vertical del VHC fue del **12 %** siendo, muy significativa la correlación con los valores de carga viral VHC en la gestante al parto.

El virus de la hepatitis C no traspasa la barrera placentaria, y su transmisión, cuando ocurre, es generalmente en el período perinatal. La "transmisión vertical" se define convencionalmente como la "persistencia de anticuerpos anti-hepatitis C en el recién nacido por más de 12 meses".

Existen muchas series publicadas sobre las tasas de transmisión vertical de la infección [235][236].

➤ **Respecto a los datos epidemiológicos de interés obtenidos del SVEA tenemos que:**

- **Año 2008. En Andalucía** se declararon **201** casos de Hepatitis Aguda por VHC, lo que supone una Tasa de Incidencia de 2,49 por 100.000 habitantes, siendo la provincia de Málaga con 68 casos la que más declaró, seguida de la provincia de Almería con 45 casos, y Cádiz con 26.
- **Año 2009. En Andalucía** se declararon **226** casos de Hepatitis Aguda por VHC, Tasa para este año de 2,73 por 100.000 habitantes siendo la provincia de Málaga la que más casos declaró con 63, seguida de Cádiz con 40 casos y Almería con 33.
- **Año 2010. En Andalucía** se declararon **327** casos de Hepatitis Aguda por VHC, Tasa para este año del 3,40 por 100.000 habitantes. siendo la provincia de Málaga la que más casos declaró con 57, seguida de Sevilla con 56 casos y Jaén con 40.
- **Año 2011. En Andalucía** se declararon **301** casos de Hepatitis Aguda por VHC, una Tasa de 3,57 por 100.000 habitantes, siendo Cádiz la provincia que más declaró con 76 casos, seguida de Sevilla con 68 casos y Málaga con 44.
- **Año 2012. En Andalucía** se declararon **245** casos de Hepatitis Aguda por VHC, una Tasa del 2,90 por 100.000 habitantes, siendo este año Cádiz la provincia que más declaró con 55 casos, seguida de Málaga con 46 y Sevilla con 45 casos.

En nuestro estudio de Tesis encontramos **1 sola portadora** del VHC y correspondió al año 2011, dentro del quinquenio, con carga viral positiva y además coinfectada (VIH positiva), conectora ya de su patología, y Usaria de Drogas por vía Parenteral.

En nuestro estudio de esta Tesis, encontramos Seroprevalencia con un porcentaje del **0.11 % de portadoras de anticuerpos del VHC** muy inferior a los encontrados por otros autores en otros estudio, en población gestante.

Dentro de este contexto para España deseamos exponer lo que consideramos de interés, respecto a lo que podríamos conseguir como “comparativo con estudio de Seroprevalencia en gestantes”, a partir de publicaciones concretas por autores españoles.

Así tenemos los de:

Gutiérrez-Zufiaurre de 2004 en Salamanca que obtiene un 0.37 % en embarazadas, algunas de las cuales ya conocían serlo [192].

Muñoz-Almagro de 2002, con 1.4 % de Seroprevalencia [231].

Salmerón en Granada de 1998 con una Seroprevalencia de 0.53 % [242].

Ruiz-Extremera obtiene Prevalencia del VHC en gestantes similar a la encontrada en la población general (0,53-1,4 %) [239].

En otros Países de Europa Occidental, en estudios realizados en el año 2000 la Seroprevalencia va desde el 0.2 % encontrado en Gran Bretaña por Ades [243], al valor 1.9 % encontrado en Italia por Baldo [216] .

Respecto a la identificación de las gestantes con anticuerpos específicos frente al VHC, hay autores que no le dan demasiado valor, debido a que no se dispone de ninguna vacuna eficaz y en las identificadas como seropositivas, el tratamiento antiviral específico, para VHC está contraindicado en las embarazadas y no existen medidas eficaces para prevenir la infección. Además se desconocen las implicaciones clínicas epidemiológicas a largo plazo de los recién nacidos que han contraído el VHC por transmisión materna.

Debido a todo esto hay Organismos que desaconsejan este cribado por falta de eficacia.

En cambio hay Otros que recomiendan que se realice una serología a aquellas mujeres que estén en cualquiera de los grupos de riesgos (tampoco siempre consensuado) de contraer esta enfermedad: “antecedentes de consumo de drogas por vía parenteral”, “receptoras de transfusiones sanguíneas o trasplantadas antes de la década de los 90”, “presencia o antecedentes de piercing o tatuajes”. Además de los factores de riesgos comentados debe tenerse en cuenta, a las mujeres: “VIH positivas, portadoras de VHB, incluidas en programa de hemodiálisis, gestantes procedentes de Áreas geográficas con endemicidad, hipertransaminasemia no filiada, parejas sexuales de personas con infección por VHB, VIH o VHC. o historia con intervención con endoscopia”.

Reseñamos finalmente lo establecido en la Guía de Práctica Clínica del Ministerio de Sanidad 2014 sobre su Recomendación basada en la Fuerza de la Evidencia. [244] Guía del Ministerio.

| | |
|---------------|---|
| FUERTE | Se recomienda no realizar un cribado universal del virus de la Hepatitis C en mujeres embarazadas |
| v | Se sugiere valorar la realización de cribado del virus de la Hepatitis C en mujeres que se consideren que tienen riesgo de infección por el VHC: antecedentes de consumo de drogas por vía parenteral, receptora de transfusiones sanguíneas, trasplantadas antes de la década de los 90, mujeres VIH (+), portadoras de VHB, con historia de intervenciones con endoscopia o hemodiálisis o que tengan una pareja con una infección del VHC. |

6. CONCLUSIONES

6.1. CRIBADO COMBINADO DE 1º TRIMESTRE.

1. Se recomienda ofrecer a todas las embarazadas, un test de cribado combinado de cromosopatías entre las semanas 10+0d y 13+6d para determinar el Riesgo de síndrome de Down, en el que se combinará la edad materna, medición ecográfica de la Translucencia Nucal (TN), y las determinaciones bioquímicas de Proteína A asociada al embarazo (PAPP-A) y la fracción libre de β -hCG, como primer paso para el cálculo del Índice de Riesgo.
2. Se ha producido un descenso en el “número absoluto” de partos al año en nuestra Área Sanitaria, con un valor máximo en el año 2008 de 3.671 partos y un valor mínimo de 2.997 en el año 2012. Descenso en el quinquenio del 18.36%.
3. En nuestra serie temporal de 5 años (2008-2012), se ha producido **un aumento** en el porcentaje de embarazadas que se **realizan** el “Cribado Combinado de 1º trimestre”, aumentando este porcentaje año a año desde un valor mínimo en el año 2008 de 69,90 %, hasta un valor máximo del 86,72 %, en el año 2012. Esta tendencia ascendente presenta significación estadística ($p < 0.001$).
4. De los 12.690 Cribados Combinados de 1º trimestre realizados, 269 gestantes (**2,12 %**) tienen un resultado de “Índice Alto Riesgo”, y 12.421 gestantes (**97,88 %**) resultado de “Índice Bajo Riesgo”.
5. En embarazadas **con un índice de “Alto Riesgo”, el 97,40 %, no presentan un** feto afecto de trisomía 21 como hecho final del embarazo. Tan solo **el 2,60 % de las de Alto Riesgo presentan** una trisomía 21.
6. Solo el **34,2 %** de las embarazadas **con “Alto Riesgo” se realizan cariotipo**. En la evolución temporal, este porcentaje de realización, osciló entre un máximo del 46 % en el año 2008 y un valor mínimo del 17 % en el año 2011, **sin que haya tendencia a una mejor adherencia al PACAC**, entre las embarazadas con índice de “Alto Riesgo”. Deben, desde el punto de vista preventivo, realizarse Estrategias de Captación para la realización de este segundo paso en el Diagnóstico Precoz de Cromosopatías.
7. En embarazadas que siguieron el Programa (PACAC), es decir, resultado de cribado **con “Alto Riesgo”** y a continuación realización de cariotipo, se

obtuvieron 5 resultados de **cariotipo compatibles con trisomía 21**, lo que supone un **5,44 %**. Es de suponer que si hubiéramos realizado el Protocolo a todas las mujeres con Riesgo Alto (269 mujeres), hubiéramos podido diagnosticar 14,60 embarazadas con trisomía 21.

8. En nuestra serie, el **1,45 %** de las embarazadas con **“Bajo Riesgo”**, se realiza cariotipo. El **5,08 %** de las embarazadas que **“No se han realizado cribado”**, se realizan sólo estudio de cariotipo.
9. **Cariotipo de Trisomía 21**, se ha obtenido en el **5,44 %** de las embarazadas que se lo realizan, a partir de Informe con **“Índice de Alto Riesgo”**; un **1,10 %** en las que tienen **“Índice de Bajo Riesgo”**, y el **3,36 %** en embarazadas que **“No se realizaron cribado”**.
10. En embarazadas que **“No se realizan Cribado ni Cariotipo”** para el Diagnóstico Precoz de Cromosomopatías y han permanecido al margen del PACAC, hemos podido constatar la presentación de 7 recién nacidos con Trisomía 21, lo que equivale a Tasa de 0,18 % **con Trisomía 21 (1,8 recién nacidos cada 1.000 partos)**. Esta Tasa obtenida, es concordante con la Incidencia esperada de Trisomía 21 en población normal No Cribada. Nuestros datos apoyan la Recomendación de inclusión contenida para toda embarazada en el PACAC, y conforme citamos en la conclusión 1.
11. Obtenemos el valor de **Falsos Negativos** de **0,04 %** en la población cribada. Así de las 12.421 embarazadas con resultado de índice de riesgo bajo, 5 fueron falsos negativos, (2 diagnosticados de trisomía 21 mediante cariotipo, y 3 diagnosticados de trisomía 21 en hijos recién nacidos).
12. La tasa de **Falsos Positivos** de nuestro **Test de Cribado** para informes con Índice de Alto Riesgo se sitúa en el **2 %**, y consideramos que supone un **resultado satisfactorio como medida de funcionamiento del test**, ya que está establecido que el Cribado tenga una tasa de Falsos Positivos < 5 %.
13. Asumiendo la tasa de Falsos Negativos de nuestro test de Cribado de Trisomía 21, que es del 0.4 ‰, la población gestante que no accedió al Programa en nuestra serie temporal, pudo beneficiarse en caso de haber accedido al Programa, con el diagnóstico prenatal de la Trisomía 21 en su embarazo, como posibilidad con un test con valor de Tasa de Detección (TD), de entre el 77,92 % y el 88,31 %.
14. Estimamos deben **exigirse** Controles de Calidad Internos y Externos con definida periodicidad, para garantía de las determinaciones analíticas, así como

deben exigirse Acreditaciones para realización de pruebas Ecográficas en Obstetricia.

15. Hemos podido constatar la **concordancia** entre nuestro estudio de Cribado Combinado de 1º trimestre, llevado a cabo en el periodo 2008-2012, con los contenidos de lo publicado en la “Guía de práctica clínica de atención en embarazo y puerperio del Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad”, en el año 2014.

6.2. RUBÉOLA.

1. No existiendo en esta fecha ningún tratamiento preventivo para tratar los casos de transmisión vertical de la Rubéola, y existiendo vacuna segura y eficaz (vacuna triple vírica) con los componentes de Sarampión, Rubéola y Parotiditis para conseguir la “inmunidad adquirida artificial activa”, en todas las mujeres desde su infancia, **se debe determinar la analítica serológica**, bien en visita preconcepcional o en la primera visita del embarazo, para conocer si las mujeres en edad fértil están inmunes y no susceptibles específicamente o por el contrario como “seronegativas y por lo tanto susceptible a la infección durante el embarazo”.
2. Durante el embarazo, el cribado prenatal se dirige principalmente a identificar a aquellas mujeres “embarazadas no inmunes” (seronegativas), y que podrían padecer la enfermedad durante el embarazo e incluso llegar al parto con un recién nacido con Rubéola Congénita en desarrollo.
3. En nuestro estudio analítico de serología en 12.015 embarazadas, en nuestra Área Sanitaria encontramos que el **99.94 %** tenía específica inmunidad frente a Rubéola y solo el **0.06 %** no tenían anticuerpos protectores. El cribado de la Rubéola en la gestante posibilita la vacunación tan pronto como sea posible en el postparto de la mujer seronegativa, no inmune. Una vez detectada una embarazada así, debe beneficiarse de la vacuna triple vírica, (por su componente rubeólico) siempre tras el parto, y así reducir el riesgo en futuros embarazos.
4. En el quinquenio 2008-2012, en nuestra Área Sanitaria, **no hubo registro de caso** alguno de Síndrome de Rubéola Congénita derivado de gestante infectada durante el embarazo.
5. El nivel de seroprotección, para Rubéola como enfermedad infecciosa vacunable, de la población gestante estudiada de nuestra Área Sanitaria, fué del 99,94 %, por lo que podemos afirmar que es una **cobertura excelente** y sin lugar a dudas, demuestra la amplia Cobertura Vacunal de la población de nuestra Área Sanitaria, influido este alto porcentaje de seroprotección por la escasa población inmigrante en nuestra Área Sanitaria y por el amplio cumplimiento del Calendario de Vacunaciones de nuestra Comunidad Autónoma para la edad infantil.
6. En nuestra serie para “no inmunes, y por tanto susceptibles”, se **estabiliza** la línea de tendencia temporal y no presenta significación estadística en su porcentaje evolutivo ($p=0.892$).

6.3 TOXOPLASMA.

1. La Prevalencia de seropositividad por *Toxoplasma gondii*, en mujeres gestantes de nuestra Área Sanitaria, fue baja (20,01 %) de media en los cinco años, oscilando anualmente entre el 16,40 % del año 2012 y el 22,65 % del año 2008. El de embarazadas con **IgG negativa** fue del **79,99 %** de media para estos cinco años (2008-2012), sobre una población de 12.015 gestantes estudiadas.
2. Las mujeres en edad fértil y que planifiquen su embarazo, deben conocer si han tenido contacto con *Toxoplasma* antes de embarazo y ser aconsejadas sobre las medidas higiénico-sanitarias adecuadas para evitar la infección durante el embarazo. Se sugiere realizar cribado serológico frente a *Toxoplasma* a las embarazadas, e informarles de las medidas higiénico-sanitarias dirigidas a reducir el riesgo de una infección. La realización de cribado durante el embarazo, frente a toxoplasma ayuda a la detección temprana de la infección.
3. El cribado de la Toxoplasmosis en las embarazadas nos ha permitido conocer el patrón de presentación de la Toxoplasmosis Congénita en la población estudiada, que ha sido de **0 casos**, al tiempo que aportar la información necesaria para evaluar como satisfactorio el Programa de Cribado en la embarazada y la eficacia del tratamiento y las medidas de prevención en ellas.
4. El cribado de toxoplasma en la embarazada mediante la determinación de IgG proporciona a los Tocólogos y Matronas una información muy útil para aconsejar a la embarazada, al tiempo que para valorar los resultados respecto de la Avidéz de las IgG, y la interpretación de la misma, para la toma de decisiones clínicas. En caso de positividad para Baja Avidéz IgG y como valoración clínica de esta enfermedad durante el embarazo, (con infección activa o reciente de menos de cuatro meses) se aconseja su tratamiento con Espiramicina bajo prescripción y seguimiento por el Tocólogo. En el total de nuestra serie, **sólo dos casos**, de embarazadas (2/12.015), así fueron consideradas para tratamiento con antiparasitarios por Obstetricia.
5. La línea de tendencia de las seropositivas, por infestación natural, **ha sido descendente** en el tiempo y **tiene significación estadística** ($p < 0.001$).
6. Existen diferentes opiniones sobre el valor de la determinación serológica de Toxoplasmosis en gestantes. El Ministerio de Sanidad en su Guía del año 2014 (con posterioridad a la finalización de esta Tesis), define como Recomendación “**Débil**”: se sugiere no ofrecer el cribado de infección por toxoplasma a toda mujer gestante.

6.4. VIRUS HEPATITIS B

1. La Prevalencia de gestantes “portadoras del VHB” y por consiguiente HBsAg (+) esto es infección presente, se sitúa en nuestro medio en el **0,42 %**, de media en estos cinco años de estudio sobre una población de 12.015 gestantes. El porcentaje mayor correspondió al año 2010 (0.50 %) y el menor al año 2012 (0.31 %). El 99,58 % de las gestantes tuvieron un resultado analítico Negativo para el HBsAg, esto es, No portadoras del *VHB*.
2. El porcentaje de las portadoras HBsAg (+) y que tienen además HBeAg (+), (**doble antígeno**) oscila anualmente entre el 11,11% del año 2011 y el 30% del año 2008 con una media para los cinco años del **17,69 %**. Este tipo de gestantes presenta mayor nivel replicativo, y por tanto con mayor capacidad infectiva y de transmisión materno-fetal y perinatal.
3. Del número de gestantes con resultado HBsAg (+) Portadoras, el mayor porcentaje tenían HBeAg negativo, oscilando anualmente entre el 70 % del año 2008 y el 89,89 % del año 2011, con una media para los cinco años del 82,31 % negativas respecto de doble antígeno.
4. De las gestantes HBsAg (+) y por tanto portadoras del VHB, solo el 39,58 % conocían ser portadoras del virus (VHB), cuando se les comunicó su resultado analítico de *screening*, y el **60,42 % desconocían serlo** y para estas fue una sorpresa conocer este dato. De aquí la importancia del diagnóstico de nueva población portadora del *VHB* conocido desde el control serológico de la gestantes y máxime cuando todas eran además asintomáticas.
5. Todas las mujeres y especialmente las que estén en edad fértil y quieran o puedan quedar embarazada, deben conocer su estado inmunitario frente al VHB. Deben estar vacunadas con primovacuna completa (pauta 0, 1, 6) en infancia o adolescencia. Su estado inmune con antiHBs (+), garantiza su estado de protegida y con memoria inmunológica (además de no portadora de HBsAg).
6. Se recomienda realizar cribado de *VHB* (HBsAg) a todas las gestantes en la primera visita del embarazo, independientemente de que la mujer se haya vacunado anteriormente o que tenga resultados negativos de pruebas anteriores. En caso de ser HBsAg (+) debe ser estudiada y hacer un seguimiento, realizando determinación de HBeAg y anti HBe para conocer mejor el estado replicativo del virus en la embarazada, y su función hepática. El hallazgo positivo de gestante portadora, permite estar en expectativa en Tología y Pediatría, para atender al recién nacido de madre portadora desde el momento del parto.

7. Se debe realizar cribado Universal prenatal del virus de la hepatitis B (HBsAg) porque el beneficio derivado reduce sustancialmente la consecuencia de una transmisión vertical/perinatal del virus y posterior riesgo de desarrollo de infección crónica y sus consecuencias.

8. La línea de tendencia temporal del porcentaje de gestantes portadoras de HBsAg, en nuestra serie temporal es **estabilizada**, y no presenta significación estadística en su evolución($p=0.34$)

6.5. SÍFILIS.

1. Se debe realizar control serológico de Sífilis, con prueba *No treponémica*, en la primera visita a toda la mujer embarazada. Respecto de gestantes con analítica R.P.R. positiva, prueba “*No treponémica*,” en una población de 12.015 gestantes, en el período de 5 años (2008–2012), encontramos un porcentaje que oscila anualmente entre el 0,19 % del año 2012 y el 0,29 % del año 2010.
2. Serología positiva R.P.R. en la mujer gestante de nuestra Área Sanitaria (Norte de Cádiz) es excepcional, y se registró media de los cinco años, de un **0.24 %**.
3. El porcentaje de gestantes para Sífilis R.P.R. Seronegativas anualmente, se situó entre los valores 99.71 % del año 2010 y el 99,81 % del año 2012. La media del porcentaje de la población embarazada estudiada para los cinco años (2008-2012) con R.P.R. negativo fué del 99,76 % prueba de *Screening*.
4. En posteriores estudios con técnica “Treponémica confirmatoria” (FTA/Abs-IgM), en todos los casos resultaron ser **Negativas (100%)**. En estos cinco años (2008-2012) no hemos encontrado ninguna gestante con clínica de Sífilis Positiva. El hallazgo confirmatorio positivo garantizaría un diagnóstico precoz de Sífilis en la gestante y reduciría las manifestaciones clínicas entre los recién nacidos, hijos de madre positiva, dada la posibilidad de poder administrar antibióticos específicos para ello durante el embarazo.
5. Dada la baja presencia de Sífilis en nuestro medio, y por la posibilidad de resultados falsos positivos, en test R.P.R., para caso de una positividad, se deben tener técnicas y protocolos adecuados para confirmar dicha positividad con pruebas Treponémicas como FTA-Abs-IgM, Técnicas de Capturas de IgM (ELISA) o MHA-TP (Microaglutinacion para *T. pallidum*).
6. La línea de tendencia temporal para gestantes con resultado de R.P.R. (+) es **estabilizada** en nuestra serie, y no presenta significación estadística en su porcentaje evolutivo ($p= 0.79$), lo que nos indica que se mantiene en el tiempo la necesidad de test específicos para confirmación.
7. Se debe recomendar cribado rutinario de sífilis a toda mujer embarazada en la primera visita del embarazo, dado el bajo coste de la prueba y las posibilidades de una detección precoz de la enfermedad en la embarazada y el evitar sífilis congénita. Ello es motivo suficiente para seguir realizando la prueba a toda embarazada. Especialmente se recomienda que a toda mujer embarazada, si tiene algún factor-práctica de riesgo para contraer Sífilis, se le informe de los riesgos de contraer esta enfermedad en el embarazo (primero y hasta último trimestre), así como de contraer otras enfermedades de transmisión sexual, en el transcurso del mismo.

6.6. VIH.

1. En población gestante, considerada por Obstetricia como a estudiar, por identificar criterios de factor/práctica de riesgo en nuestra Área Sanitaria para descartar seropositividad a VIH, la Prevalencia ha sido muy baja, **0.093 %** y en el único caso de análisis positivo que obtuvimos en cinco años (1/1064), presentaba como práctica de riesgo el de UDVP en gestante. La impregnación por VIH en la población gestante de nuestra Área Sanitaria, ha sido muy baja, con **hallazgo excepcional**.
2. En nuestro estudio realizamos 1.064 determinaciones analíticas, en cinco años, a gestantes con "algún factor/práctica de riesgo" para VIH, oscilando el número total de estudios anuales de estas, entre las 198 estudiadas en 2012 (el menor valor 7.63 %) sobre el total de gestantes, y las 230 del año 2009 (el mayor valor 9.99 %) sobre el total de las estudiadas para esos años. Para el total de la serie temporal (2008-2012) fueron solicitadas analíticas VIH al 8.85% del total de gestantes.
3. Las mujeres que presenten factor/práctica de riesgo de contraer el VIH y puedan quedar embarazadas, se les debe recomendar realizar determinación de VIH de forma regular, e informarles sobre los posibles riesgos de la transmisión del VIH al recién nacido y a otros como ETS.
4. Caso de ser gestante VIH (+) con técnica confirmatoria durante el embarazo, habría que conocer también la Carga Viral, valor de poblaciones linfocitarias CD-4 y test de resistencias a los antirretrovirales, para realizar, derivado de ello, tratamiento materno y posterior seguimiento del recién nacido, por Obstetricia y Pediatría, (así se realizó en el caso que hubo de embarazada VIH (+) diagnosticada en 2011).
5. Para el momento del cierre del estudio de las gestantes en 2012 en esta Tesis, el Sector Público consideraba, no adecuado en general, el cribado de VIH a la población total de embarazadas, salvo los casos de situación con factor de alto riesgo como antecedentes de transfusiones, UDVP, o indicaciones de sospechas, que así lo aconsejaban y siempre con consentimiento de la gestante. Sin embargo el Ministerio de Sanidad en su Guía del año 2014 (con posterioridad a la finalización de esta Tesis), define como Recomendación "**Fuerte**" se practique la serología VIH en "toda gestante en su primera visita prenatal". Incluso, además, a las gestantes con algún factor/práctica de riesgo, también en su último trimestre del embarazo.

6.7. VIRUS HEPATITIS C (VHC).

1. En el estudio en cinco años de gestantes de nuestra Área Sanitaria el porcentaje de embarazadas con seropositividad de anticuerpos frente a *VHC*, fue bajo, del **0,12 %** de media para los cinco años sobre 12.015 gestantes, frente al 99,89 % con seronegatividad. Encontramos positividad con rango entre el 0.08 % (2011 y 2012), y el 0.17 % (2009). La línea de tendencia temporal del porcentaje de seropositividad de *VHC* es **estabilizada** en nuestra serie y no presenta significación estadística en su evolución ($p=0.350$).
2. De los 2 casos detectados en 2011, 1 confirmado por detección PCR-RNA-*VHC* correspondía con la misma gestante del año 2011 con serología VIH (+), confirmando la “coinfeción” en la Positividad de VIH y *VHC* (Carga Viral 1.350.000 copias /ml).
3. Caso de ser *VHC* (+) durante el embarazo hay que conocer mediante PCR-RNA-*VHC*, la Carga Viral y la determinación de genotipo para orientar el posterior seguimiento.
4. Sería recomendable realizar serología en las mujeres embarazadas, que se consideren con riesgo de infección por el *VHC* (antecedentes de consumo de drogas por vía parenteral, receptoras de transfusiones sanguíneas, trasplantes antes de la década de los 90, mujeres *VIH* positivo, portadoras del *VHB*, mujeres con historia de endoscopia, hemodializadas o gestantes que tengan pareja con *VHC* positivo) y en ellas debe valorarse un chequeo de la pareja sexual y de los hijos si los hubiere.
5. Las mujeres en edad gestacional y que planifiquen quedar embarazadas y presenten alto riesgo de una infección por *VHC*, se les debe recomendar un cribado frente al *VHC* para ofrecer información sobre los posibles riesgos de la transmisión vertical.
6. Pese a las diferentes opiniones sobre el valor de la determinación serológica de *VHC* en gestantes, es cierto que sigue existiendo un número apreciable de casos ocultos y el “screening gestacional” podría ser un momento oportuno para su diagnóstico. Sin embargo el Ministerio de Sanidad en su Guía del año 2014 (con posterioridad a la finalización de esta Tesis), define como Recomendación “**Fuerte**” No realizar un cribado universal del *VHC* en mujeres embarazadas.

ANEXO I.

Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo (BOE 4/10/2010)



LEGISLACIÓN CONSOLIDADA

Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva
y de la interrupción voluntaria del embarazo.

Jefatura del Estado
«BOE» núm. 55, de 4 de marzo de 2010
Referencia: BOE-A-2010-3514

TEXTO CONSOLIDADO

Última modificación: 22 de septiembre de 2015

JUAN CARLOS I

REY DE ESPAÑA

A todos los que la presente vieren y entendieren.

Sabed: Que las Cortes Generales han aprobado y Yo vengo en sancionar la siguiente ley orgánica.

PREÁMBULO

I

El desarrollo de la sexualidad y la capacidad de procreación están directamente vinculados a la dignidad de la persona y al libre desarrollo de la personalidad y son objeto de protección a través de distintos derechos fundamentales, señaladamente, de aquellos que garantizan la integridad física y moral y la intimidad personal y familiar. La decisión de tener hijos y cuándo tenerlos constituye uno de los asuntos más íntimos y personales que las personas afrontan a lo largo de sus vidas, que integra un ámbito esencial de la autodeterminación individual. Los poderes públicos están obligados a no interferir en ese tipo de decisiones, pero, también, deben establecer las condiciones para que se adopten de forma libre y responsable, poniendo al alcance de quienes lo precisen servicios de atención sanitaria, asesoramiento o información.

La protección de este ámbito de autonomía personal tiene una singular significación para las mujeres, para quienes el embarazo y la maternidad son hechos que afectan profundamente a sus vidas en todos los sentidos. La especial relación de los derechos de las mujeres con la protección de la salud sexual y reproductiva ha sido puesta de manifiesto por diversos textos internacionales. Así, en el ámbito de Naciones Unidas, la Convención sobre la eliminación de todas las formas de discriminación contra la Mujer, adoptada por la Asamblea General mediante Resolución 34/180, de 18 de diciembre de 1979, establece en su artículo 12 que «Los Estados Partes adoptarán todas las medidas apropiadas para eliminar la discriminación contra la mujer en la esfera de la atención médica a fin de asegurar, en condiciones de igualdad entre hombres y mujeres, el acceso a servicios de atención médica, incluidos los que se refieren a la planificación familiar». Por otro lado, la Plataforma de Acción de Beijing acordada en la IV Conferencia de Naciones Unidas sobre la

mujer celebrada en 1995, ha reconocido que «los derechos humanos de las mujeres incluyen el derecho a tener el control y a decidir libre y responsablemente sobre su sexualidad, incluida la salud sexual y reproductiva, libre de presiones, discriminación y violencia». En el ámbito de la Unión Europea, el Parlamento Europeo ha aprobado la Resolución 2001/2128(INI) sobre salud sexual y reproductiva y los derechos asociados, en la que se contiene un conjunto de recomendaciones a los Gobiernos de los Estados miembros en materia de anticoncepción, embarazos no deseados y educación afectivo sexual que tiene como base, entre otras consideraciones, la constatación de las enormes desigualdades entre las mujeres europeas en el acceso a los servicios de salud reproductiva, a la anticoncepción y a la interrupción voluntaria del embarazo en función de sus ingresos, su nivel de renta o el país de residencia.

Por su parte, la Convención sobre los Derechos de las Personas con discapacidad de 13 de diciembre de 2006, ratificada por España, establece la obligación de los Estados Partes de respetar «el derecho de las personas con discapacidad a decidir libremente y de manera responsable el número de hijos que quieren tener [...] a tener acceso a información, educación sobre reproducción y planificación familiar apropiada para su edad y a que se provean los medios necesarios que les permitan ejercer esos derechos», así como a que «mantengan su fertilidad, en igualdad de condiciones que los demás».

La presente Ley pretende adecuar nuestro marco normativo al consenso de la comunidad internacional en esta materia, mediante la actualización de las políticas públicas y la incorporación de nuevos servicios de atención de la salud sexual y reproductiva. La Ley parte de la convicción, avalada por el mejor conocimiento científico, de que una educación afectivo sexual y reproductiva adecuada, el acceso universal a prácticas clínicas efectivas de planificación de la reproducción, mediante la incorporación de anticonceptivos de última generación, cuya eficacia haya sido avalada por la evidencia científica, en la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud y la disponibilidad de programas y servicios de salud sexual y reproductiva es el modo más efectivo de prevenir, especialmente en personas jóvenes, las infecciones de transmisión sexual, los embarazos no deseados y los abortos.

La Ley aborda la protección y garantía de los derechos relativos a la salud sexual y reproductiva de manera integral. Introduce en nuestro ordenamiento las definiciones de la Organización Mundial de la Salud sobre salud, salud sexual y salud reproductiva y prevé la adopción de un conjunto de acciones y medidas tanto en el ámbito sanitario como en el educativo. Establece, asimismo, una nueva regulación de la interrupción voluntaria del embarazo fuera del Código Penal que, siguiendo la pauta más extendida en los países de nuestro entorno político y cultural, busca garantizar y proteger adecuadamente los derechos e intereses en presencia, de la mujer y de la vida prenatal.

II

El primer deber del legislador es adaptar el Derecho a los valores de la sociedad cuyas relaciones ha de regular, procurando siempre que la innovación normativa genere certeza y seguridad en las personas a quienes se destina, pues la libertad sólo encuentra refugio en el suelo firme de la claridad y precisión de la Ley. Ese es el espíritu que inspira la nueva regulación de la interrupción voluntaria del embarazo.

Hace un cuarto de siglo, el legislador, respondiendo al problema social de los abortos clandestinos, que ponían en grave riesgo la vida y la salud de las mujeres y atendiendo a la conciencia social mayoritaria que reconocía la relevancia de los derechos de las mujeres en relación con la maternidad, despenalizó ciertos supuestos de aborto. La reforma del Código Penal supuso un avance al posibilitar el acceso de las mujeres a un aborto legal y seguro cuando concurriera alguna de las indicaciones legalmente previstas: grave peligro para la vida o la salud física y psíquica de la embarazada, cuando el embarazo fuera consecuencia de una violación o cuando se presumiera la existencia de graves taras físicas o psíquicas en el feto. A lo largo de estos años, sin embargo, la aplicación de la ley ha generado incertidumbres y prácticas que han afectado a la seguridad jurídica, con consecuencias tanto para la garantía de los derechos de las mujeres como para la eficaz protección del bien jurídico penalmente tutelado y que, en contra del fin de la norma, eventualmente han podido

poner en dificultades a los profesionales sanitarios de quienes precisamente depende la vigilancia de la seguridad médica en las intervenciones de interrupción del embarazo.

La necesidad de reforzar la seguridad jurídica en la regulación de la interrupción voluntaria del embarazo ha sido enfatizada por el Tribunal Europeo de Derechos Humanos en su sentencia de 20 de marzo de 2007 en la que se afirma, por un lado, que «en este tipo de situaciones las previsiones legales deben, en primer lugar y ante todo, asegurar la claridad de la posición jurídica de la mujer embarazada» y, por otro lado, que «una vez que el legislador decide permitir el aborto, no debe estructurar su marco legal de modo que se limiten las posibilidades reales de obtenerlo».

En una sociedad libre, pluralista y abierta, corresponde al legislador, dentro del marco de opciones que la Constitución deja abierto, desarrollar los derechos fundamentales de acuerdo con los valores dominantes y las necesidades de cada momento histórico. La experiencia acumulada en la aplicación del marco legal vigente, el avance del reconocimiento social y jurídico de la autonomía de las mujeres tanto en el ámbito público como en su vida privada, así como la tendencia normativa imperante en los países de nuestro entorno, abogan por una regulación de la interrupción voluntaria del embarazo presidida por la claridad en donde queden adecuadamente garantizadas tanto la autonomía de las mujeres, como la eficaz protección de la vida prenatal como bien jurídico. Por su parte, la Asamblea Parlamentaria del Consejo de Europa, en su Resolución 1607/2008, de 16 abril, reafirmó el derecho de todo ser humano, y en particular de las mujeres, al respeto de su integridad física y a la libre disposición de su cuerpo y en ese contexto, a que la decisión última de recurrir o no a un aborto corresponda a la mujer interesada y, en consecuencia, ha invitado a los Estados miembros a despenalizar el aborto dentro de unos plazos de gestación razonables.

En la concreción del modelo legal, se ha considerado de manera especialmente atenta la doctrina constitucional derivada de las sentencias del Tribunal Constitucional en esta materia. Así, en la sentencia 53/1985, el Tribunal, perfectamente dividido en importantes cuestiones de fondo, enunció sin embargo, algunos principios que han sido respaldados por la jurisprudencia posterior y que aquí se toman como punto de partida. Una de esas afirmaciones de principio es la negación del carácter absoluto de los derechos e intereses que entran en conflicto a la hora de regular la interrupción voluntaria del embarazo y, en consecuencia, el deber del legislador de «ponderar los bienes y derechos en función del supuesto planteado, tratando de armonizarlos si ello es posible o, en caso contrario, precisando las condiciones y requisitos en que podría admitirse la prevalencia de uno de ellos» (STC 53/1985). Pues si bien «los no nacidos no pueden considerarse en nuestro ordenamiento como titulares del derecho fundamental a la vida que garantiza el artículo 15 de la Constitución» esto no significa que resulten privados de toda protección constitucional (STC 116/1999). La vida prenatal es un bien jurídico merecedor de protección que el legislador debe hacer eficaz, sin ignorar que la forma en que tal garantía se configure e instrumente estará siempre intermediada por la garantía de los derechos fundamentales de la mujer embarazada.

La ponderación que el legislador realiza ha tenido en cuenta la doctrina de la STC 53/1985 y atiende a los cambios cualitativos de la vida en formación que tienen lugar durante el embarazo, estableciendo, de este modo, una concordancia práctica de los derechos y bienes concurrentes a través de un modelo de tutela gradual a lo largo de la gestación.

La presente Ley reconoce el derecho a la maternidad libremente decidida, que implica, entre otras cosas, que las mujeres puedan tomar la decisión inicial sobre su embarazo y que esa decisión, consciente y responsable, sea respetada. El legislador ha considerado razonable, de acuerdo con las indicaciones de las personas expertas y el análisis del derecho comparado, dejar un plazo de 14 semanas en el que se garantiza a las mujeres la posibilidad de tomar una decisión libre e informada sobre la interrupción del embarazo, sin interferencia de terceros, lo que la STC 53/1985 denomina «autodeterminación consciente», dado que la intervención determinante de un tercero en la formación de la voluntad de la mujer gestante, no ofrece una mayor garantía para el feto y, a la vez, limita innecesariamente la personalidad de la mujer, valor amparado en el artículo 10.1 de la Constitución.

La experiencia ha demostrado que la protección de la vida prenatal es más eficaz a través de políticas activas de apoyo a las mujeres embarazadas y a la maternidad. Por ello,

la tutela del bien jurídico en el momento inicial de la gestación se articula a través de la voluntad de la mujer, y no contra ella. La mujer adoptará su decisión tras haber sido informada de todas las prestaciones, ayudas y derechos a los que puede acceder si desea continuar con el embarazo, de las consecuencias médicas, psicológicas y sociales derivadas de la prosecución del embarazo o de la interrupción del mismo, así como de la posibilidad de recibir asesoramiento antes y después de la intervención. La Ley dispone un plazo de reflexión de al menos tres días y, además de exigir la claridad y objetividad de la información, impone condiciones para que ésta se ofrezca en un ámbito y de un modo exento de presión para la mujer.

En el desarrollo de la gestación, «tiene –como ha afirmado la STC 53/1985– una especial trascendencia el momento a partir del cual el nasciturus es ya susceptible de vida independiente de la madre». El umbral de la viabilidad fetal se sitúa, en consenso general avalado por la comunidad científica y basado en estudios de las unidades de neonatología, en torno a la vigésimo segunda semana de gestación. Es hasta este momento cuando la Ley permite la interrupción del embarazo siempre que concorra alguna de estas dos indicaciones: «que exista grave riesgo para la vida o la salud de la embarazada», o «que exista riesgo de graves anomalías en el feto». Estos supuestos de interrupción voluntaria del embarazo de carácter médico se regulan con las debidas garantías a fin de acreditar con la mayor seguridad posible la concurrencia de la indicación. A diferencia de la regulación vigente, se establece un límite temporal cierto en la aplicación de la llamada indicación terapéutica, de modo que en caso de existir riesgo para la vida o salud de la mujer más allá de la vigésimo segunda semana de gestación, lo adecuado será la práctica de un parto inducido, con lo que el derecho a la vida e integridad física de la mujer y el interés en la protección de la vida en formación se armonizan plenamente.

Más allá de la vigésimo segunda semana, la ley configura dos supuestos excepcionales de interrupción del embarazo. El primero se refiere a aquellos casos en que «se detecten anomalías fetales incompatibles con la vida», en que decae la premisa que hace de la vida prenatal un bien jurídico protegido en tanto que proyección del artículo 15 de la Constitución (STC 212/1996). El segundo supuesto se circunscribe a los casos en que «se detecte en el feto una enfermedad extremadamente grave e incurable en el momento del diagnóstico y así lo confirme un comité clínico». Su comprobación se ha deferido al juicio experto de profesionales médicos conformado de acuerdo con la evidencia científica del momento.

La Ley establece además un conjunto de garantías relativas al acceso efectivo a la prestación sanitaria de la interrupción voluntaria del embarazo y a la protección de la intimidad y confidencialidad de las mujeres. Con estas previsiones legales se pretende dar solución a los problemas a que había dado lugar el actual marco regulador tanto de desigualdades territoriales en el acceso a la prestación como de vulneración de la intimidad. Así, se encomienda a la Alta Inspección velar por la efectiva igualdad en el ejercicio de los derechos y el acceso a las prestaciones reconocidas en esta Ley.

Asimismo se recoge la objeción de conciencia de los profesionales sanitarios directamente implicados en la interrupción voluntaria del embarazo, que será articulado en un desarrollo futuro de la Ley.

Se ha dado nueva redacción al artículo 145 del Código Penal con el fin de limitar la pena impuesta a la mujer que consiente o se practica un aborto fuera de los casos permitidos por la ley eliminando la previsión de pena privativa de libertad, por un lado y, por otro, para precisar la imposición de las penas en sus mitades superiores en determinados supuestos. Asimismo se introduce un nuevo artículo 145 bis, a fin de incorporar la penalidad correspondiente de las conductas de quienes practican una interrupción del embarazo dentro de los casos contemplados por la ley, pero sin cumplir los requisitos exigidos en ella.

Finalmente, se ha modificado la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente con el fin de que la prestación del consentimiento para la práctica de una interrupción voluntaria del embarazo se sujete al régimen general previsto en esta Ley y eliminar la excepcionalidad establecida en este caso.

III

La Ley se estructura en un Título preliminar, dos Títulos, tres disposiciones adicionales, una disposición derogatoria y seis disposiciones finales.

El Título Preliminar establece el objeto, las definiciones, los principios inspiradores de la ley y proclama los derechos que garantiza.

El Título Primero, bajo la rúbrica «De la salud sexual y reproductiva, se articula en cuatro capítulos. En el capítulo I se fijan los objetivos de las políticas públicas en materia de salud sexual y reproductiva. El capítulo II contiene las medidas en el ámbito sanitario y el capítulo III se refiere a las relativas al ámbito educativo. El capítulo IV tiene como objeto la previsión de la elaboración de la Estrategia Nacional de Salud Sexual y Reproductiva como instrumento de colaboración de las distintas administraciones públicas para el adecuado desarrollo de las políticas públicas en esta materia.

En el Título Segundo se regulan las condiciones de la interrupción voluntaria del embarazo y las garantías en el acceso a la prestación.

La disposición adicional primera mandata que la Alta Inspección verifique el cumplimiento efectivo de los derechos y prestaciones reconocidas en esta Ley.

La disposición adicional segunda impone al Gobierno la evaluación del coste económico de los servicios y prestaciones incluidos en la Ley así como la adopción de medidas previstas en la Ley 16/2003, de 28 de mayo, de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud.

Finalmente, la disposición adicional tercera se refiere al acceso a los métodos anticonceptivos y su inclusión en la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud.

La disposición derogatoria deroga el artículo 417 bis del Código Penal introducido en el Código Penal de 1973 por la Ley Orgánica 9/1985, de 5 de julio, y cuya vigencia fue mantenida por el Código Penal de 1995.

La disposición final primera da nueva redacción al artículo 145 del Código Penal e introduce un nuevo artículo 145 bis, y la disposición final segunda modifica el apartado cuarto del artículo 9 de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. Finalmente, las restantes disposiciones finales se refieren al carácter orgánico de la ley, la habilitación al Gobierno para su desarrollo reglamentario, el ámbito territorial de aplicación de la Ley y la entrada en vigor que se fija en cuatro meses desde su publicación, con el fin de que se adopten las medidas necesarias para su plena aplicación.

TÍTULO PRELIMINAR

Disposiciones generales

Artículo 1. *Objeto.*

Constituye el objeto de la presente Ley Orgánica garantizar los derechos fundamentales en el ámbito de la salud sexual y reproductiva, regular las condiciones de la interrupción voluntaria del embarazo y establecer las correspondientes obligaciones de los poderes públicos.

Artículo 2. *Definiciones.*

A los efectos de lo dispuesto en esta Ley se aplicarán las siguientes definiciones:

- a) Salud: el estado de completo bienestar físico, mental y social y no solamente la ausencia de afecciones o enfermedades.
- b) Salud sexual: el estado de bienestar físico, psicológico y sociocultural relacionado con la sexualidad, que requiere un entorno libre de coerción, discriminación y violencia.
- c) Salud reproductiva: la condición de bienestar físico, psicológico y sociocultural en los aspectos relativos a la capacidad reproductiva de la persona, que implica que se pueda tener una vida sexual segura, la libertad de tener hijos y de decidir cuándo tenerlos.

Artículo 3. *Principios y ámbito de aplicación.*

1. En el ejercicio de sus derechos de libertad, intimidad y autonomía personal, todas las personas tienen derecho a adoptar libremente decisiones que afectan a su vida sexual y

reproductiva sin más límites que los derivados del respeto a los derechos de las demás personas y al orden público garantizado por la Constitución y las Leyes.

2. Se reconoce el derecho a la maternidad libremente decidida.

3. Nadie será discriminado en el acceso a las prestaciones y servicios previstos en esta Ley por motivos de origen racial o étnico, religión, convicción u opinión, sexo, discapacidad, orientación sexual, edad, estado civil, o cualquier otra condición o circunstancia personal o social.

4. Los poderes públicos, de conformidad con sus respectivas competencias, llevarán a cabo las prestaciones y demás obligaciones que establece la presente Ley en garantía de la salud sexual y reproductiva.

Artículo 4. Garantía de igualdad en el acceso.

El Estado, en el ejercicio de sus competencias de Alta Inspección, velará por que se garantice la igualdad en el acceso a las prestaciones y servicios establecidos por el Sistema Nacional de Salud que inciden en el ámbito de aplicación de esta Ley.

TÍTULO I

De la salud sexual y reproductiva

CAPÍTULO I

Políticas públicas para la salud sexual y reproductiva

Artículo 5. Objetivos de la actuación de los poderes públicos.

1. Los poderes públicos en el desarrollo de sus políticas sanitarias, educativas y sociales garantizarán:

a) La información y la educación afectivo sexual y reproductiva en los contenidos formales del sistema educativo.

b) El acceso universal a los servicios y programas de salud sexual y reproductiva.

c) El acceso a métodos seguros y eficaces que permitan regular la fecundidad.

d) La eliminación de toda forma de discriminación, con especial atención a las personas con algún tipo de discapacidad, a las que se les garantizará su derecho a la salud sexual y reproductiva, estableciendo para ellas los apoyos necesarios en función de su discapacidad.

e) La educación sanitaria integral y con perspectiva de género sobre salud sexual y salud reproductiva.

f) La información sanitaria sobre anticoncepción y sexo seguro que prevenga, tanto las enfermedades e infecciones de transmisión sexual, como los embarazos no deseados.

2. Asimismo en el desarrollo de sus políticas promoverán:

a) Las relaciones de igualdad y respeto mutuo entre hombres y mujeres en el ámbito de la salud sexual y la adopción de programas educativos especialmente diseñados para la convivencia y el respeto a las opciones sexuales individuales.

b) La corresponsabilidad en las conductas sexuales, cualquiera que sea la orientación sexual.

Artículo 6. Acciones informativas y de sensibilización.

Los poderes públicos desarrollarán acciones informativas y de sensibilización sobre salud sexual y salud reproductiva, especialmente a través de los medios de comunicación, y se prestará particular atención a la prevención de embarazos no deseados, mediante acciones dirigidas, principalmente, a la juventud y colectivos con especiales necesidades, así como a la prevención de enfermedades de transmisión sexual.

CAPÍTULO II

Medidas en el ámbito sanitario

Artículo 7. *Atención a la salud sexual y reproductiva.*

Los servicios públicos de salud garantizarán:

- a) La calidad de los servicios de atención a la salud sexual integral y la promoción de estándares de atención basados en el mejor conocimiento científico disponible.
- b) El acceso universal a prácticas clínicas efectivas de planificación de la reproducción, mediante la incorporación de anticonceptivos de última generación cuya eficacia haya sido avalada por la evidencia científica, en la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud.
- c) La provisión de servicios de calidad para atender a las mujeres y a las parejas durante el embarazo, el parto y el puerperio. En la provisión de estos servicios, se tendrán en cuenta los requerimientos de accesibilidad de las personas con discapacidad.
- d) La atención perinatal, centrada en la familia y en el desarrollo saludable.

Artículo 8. *Formación de profesionales de la salud.*

La formación de profesionales de la salud se abordará con perspectiva de género e incluirá:

- a) La incorporación de la salud sexual y reproductiva en los programas curriculares de las carreras relacionadas con la medicina y las ciencias de la salud, incluyendo la investigación y formación en la práctica clínica de la interrupción voluntaria del embarazo.
- b) La formación de profesionales en salud sexual y salud reproductiva, incluida la práctica de la interrupción del embarazo.
- c) La salud sexual y reproductiva en los programas de formación continuada a lo largo del desempeño de la carrera profesional.
- d) En los aspectos formativos de profesionales de la salud se tendrán en cuenta la realidad y las necesidades de los grupos o sectores sociales más vulnerables, como el de las personas con discapacidad.

CAPÍTULO III

Medidas en el ámbito educativo

Artículo 9. *Incorporación de la formación en salud sexual y reproductiva al sistema educativo.*

El sistema educativo contemplará la formación en salud sexual y reproductiva, como parte del desarrollo integral de la personalidad y de la formación en valores, incluyendo un enfoque integral que contribuya a:

- a) La promoción de una visión de la sexualidad en términos de igualdad y corresponsabilidad entre hombres y mujeres con especial atención a la prevención de la violencia de género, agresiones y abusos sexuales.
- b) El reconocimiento y aceptación de la diversidad sexual.
- c) El desarrollo armónico de la sexualidad acorde con las características de las personas jóvenes.
- d) La prevención de enfermedades e infecciones de transmisión sexual y especialmente la prevención del VIH.
- e) La prevención de embarazos no deseados, en el marco de una sexualidad responsable.
- f) En la incorporación de la formación en salud y salud sexual y reproductiva al sistema educativo, se tendrán en cuenta la realidad y las necesidades de los grupos o sectores sociales más vulnerables, como el de las personas con discapacidad proporcionando, en todo caso, a este alumnado información y materiales accesibles, adecuados a su edad.

Artículo 10. Actividades formativas.

Los poderes públicos apoyarán a la comunidad educativa en la realización de actividades formativas relacionadas con la educación afectivo sexual, la prevención de infecciones de transmisión sexual y embarazos no deseados, facilitando información adecuada a los padres y las madres.

CAPÍTULO IV

Estrategia de salud sexual y reproductiva

Artículo 11. Elaboración de la Estrategia de Salud Sexual y Reproductiva.

Para el cumplimiento de los objetivos previstos en esta Ley, el Gobierno, en cooperación con las Comunidades Autónomas y con respeto a su ámbito competencial, aprobará un Plan que se denominará Estrategia de Salud Sexual y Reproductiva, que contará con la colaboración de las sociedades científicas y profesionales y las organizaciones sociales.

La Estrategia se elaborará con criterios de calidad y equidad en el Sistema Nacional de Salud y con énfasis en jóvenes y adolescentes y colectivos de especiales necesidades.

La Estrategia tendrá una duración de cinco años y establecerá mecanismos de evaluación bienal que permitan la valoración de resultados y en particular del acceso universal a la salud sexual y reproductiva.

TÍTULO II

De la interrupción voluntaria del embarazo

CAPÍTULO I

Condiciones de la interrupción voluntaria del embarazo

Artículo 12. Garantía de acceso a la interrupción voluntaria del embarazo.

Se garantiza el acceso a la interrupción voluntaria del embarazo en las condiciones que se determinan en esta Ley. Estas condiciones se interpretarán en el modo más favorable para la protección y eficacia de los derechos fundamentales de la mujer que solicita la intervención, en particular, su derecho al libre desarrollo de la personalidad, a la vida, a la integridad física y moral, a la intimidad, a la libertad ideológica y a la no discriminación.

Artículo 13. Requisitos comunes.

Son requisitos necesarios de la interrupción voluntaria del embarazo:

Primero.–Que se practique por un médico especialista o bajo su dirección.

Segundo.–Que se lleve a cabo en centro sanitario público o privado acreditado.

Tercero.–Que se realice con el consentimiento expreso y por escrito de la mujer embarazada o, en su caso, del representante legal, de conformidad con lo establecido en la Ley 41/2002, Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de información y documentación clínica.

Podrá prescindirse del consentimiento expreso en el supuesto previsto en el artículo 9.2.b) de la referida Ley.

Cuarto.– **(Suprimido).**

Artículo 14. Interrupción del embarazo a petición de la mujer.

Podrá interrumpirse el embarazo dentro de las primeras catorce semanas de gestación a petición de la embarazada, siempre que concurren los requisitos siguientes:

a) Que se haya informado a la mujer embarazada sobre los derechos, prestaciones y ayudas públicas de apoyo a la maternidad, en los términos que se establecen en los apartados 2 y 4 del artículo 17 de esta Ley.

b) Que haya transcurrido un plazo de al menos tres días, desde la información mencionada en el párrafo anterior y la realización de la intervención.

Artículo 15. *Interrupción por causas médicas.*

Excepcionalmente, podrá interrumpirse el embarazo por causas médicas cuando concurra alguna de las circunstancias siguientes:

a) Que no se superen las veintidós semanas de gestación y siempre que exista grave riesgo para la vida o la salud de la embarazada y así conste en un dictamen emitido con anterioridad a la intervención por un médico o médica especialista distinto del que la practique o dirija. En caso de urgencia por riesgo vital para la gestante podrá prescindirse del dictamen.

b) Que no se superen las veintidós semanas de gestación y siempre que exista riesgo de graves anomalías en el feto y así conste en un dictamen emitido con anterioridad a la intervención por dos médicos especialistas distintos del que la practique o dirija.

c) Cuando se detecten anomalías fetales incompatibles con la vida y así conste en un dictamen emitido con anterioridad por un médico o médica especialista, distinto del que practique la intervención, o cuando se detecte en el feto una enfermedad extremadamente grave e incurable en el momento del diagnóstico y así lo confirme un comité clínico.

Artículo 16. *Comité clínico.*

1. El comité clínico al que se refiere el artículo anterior estará formado por un equipo pluridisciplinar integrado por dos médicos especialistas en ginecología y obstetricia o expertos en diagnóstico prenatal y un pediatra. La mujer podrá elegir uno de estos especialistas.

2. Confirmado el diagnóstico por el comité, la mujer decidirá sobre la intervención.

3. En cada Comunidad Autónoma habrá, al menos, un comité clínico en un centro de la red sanitaria pública. Los miembros, titulares y suplentes, designados por las autoridades sanitarias competentes, lo serán por un plazo no inferior a un año. La designación deberá hacerse pública en los diarios oficiales de las respectivas Comunidades Autónomas.

4. Las especificidades del funcionamiento del Comité clínico se determinarán reglamentariamente.

Artículo 17. *Información previa al consentimiento de la interrupción voluntaria del embarazo.*

1. Todas las mujeres que manifiesten su intención de someterse a una interrupción voluntaria del embarazo recibirán información sobre los distintos métodos de interrupción del embarazo, las condiciones para la interrupción previstas en esta Ley, los centros públicos y acreditados a los que se pueda dirigir y los trámites para acceder a la prestación, así como las condiciones para su cobertura por el servicio público de salud correspondiente.

2. En los casos en que las mujeres opten por la interrupción del embarazo regulada en el artículo 14 recibirán, además, un sobre cerrado que contendrá la siguiente información:

a) Las ayudas públicas disponibles para las mujeres embarazadas y la cobertura sanitaria durante el embarazo y el parto.

b) Los derechos laborales vinculados al embarazo y a la maternidad; las prestaciones y ayudas públicas para el cuidado y atención de los hijos e hijas; los beneficios fiscales y demás información relevante sobre incentivos y ayudas al nacimiento.

c) Datos sobre los centros disponibles para recibir información adecuada sobre anticoncepción y sexo seguro.

d) Datos sobre los centros en los que la mujer pueda recibir voluntariamente asesoramiento antes y después de la interrupción del embarazo.

Esta información deberá ser entregada en cualquier centro sanitario público o bien en los centros acreditados para la interrupción voluntaria del embarazo. Junto con la información en sobre cerrado se entregará a la mujer un documento acreditativo de la fecha de la entrega, a los efectos de lo establecido en el artículo 14 de esta Ley.

La elaboración, contenidos y formato de esta información será determinada reglamentariamente por el Gobierno.

3. En el supuesto de interrupción del embarazo previsto en la letra b del artículo 15 de esta Ley, la mujer recibirá además de la información prevista en el apartado primero de este artículo, información por escrito sobre los derechos, prestaciones y ayudas públicas existentes de apoyo a la autonomía de las personas con alguna discapacidad, así como la red de organizaciones sociales de asistencia social a estas personas.

4. En todos los supuestos, y con carácter previo a la prestación del consentimiento, se habrá de informar a la mujer en los términos de los artículos 4 y 10 de la Ley 41/2002 de 14 de noviembre, y específicamente sobre las consecuencias médicas, psicológicas y sociales de la prosecución del embarazo o de la interrupción del mismo.

5. La información prevista en este artículo será clara, objetiva y comprensible. En el caso de las personas con discapacidad, se proporcionará en formatos y medios accesibles, adecuados a sus necesidades.

Se comunicará, en la documentación entregada, que dicha información podrá ser ofrecida, además, verbalmente, si la mujer lo solicita.

CAPÍTULO II

Garantías en el acceso a la prestación

Artículo 18. *Garantía del acceso a la prestación.*

Los servicios públicos de salud, en el ámbito de sus respectivas competencias, aplicarán las medidas precisas para garantizar el derecho a la prestación sanitaria de la interrupción voluntaria del embarazo en los supuestos y con los requisitos establecidos en esta Ley. Esta prestación estará incluida en la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud.

Artículo 19. *Medidas para garantizar la prestación por los servicios de salud.*

1. Con el fin de asegurar la igualdad y calidad asistencial de la prestación a la interrupción voluntaria del embarazo, las administraciones sanitarias competentes garantizarán los contenidos básicos que el Gobierno determine, oído el Consejo Interterritorial de Salud. Se garantizará a todas las mujeres por igual el acceso a la prestación con independencia del lugar donde residan.

2. La prestación sanitaria de la interrupción voluntaria del embarazo se realizará en centros de la red sanitaria pública o vinculados a la misma.

Los profesionales sanitarios directamente implicados en la interrupción voluntaria del embarazo tendrán el derecho de ejercer la objeción de conciencia sin que el acceso y la calidad asistencial de la prestación puedan resultar menoscabadas por el ejercicio de la objeción de conciencia. El rechazo o la negativa a realizar la intervención de interrupción del embarazo por razones de conciencia es una decisión siempre individual del personal sanitario directamente implicado en la realización de la interrupción voluntaria del embarazo, que debe manifestarse anticipadamente y por escrito. En todo caso los profesionales sanitarios dispensarán tratamiento y atención médica adecuados a las mujeres que lo precisen antes y después de haberse sometido a una intervención de interrupción del embarazo.

Si excepcionalmente el servicio público de salud no pudiera facilitar en tiempo la prestación, las autoridades sanitarias reconocerán a la mujer embarazada el derecho a acudir a cualquier centro acreditado en el territorio nacional, con el compromiso escrito de asumir directamente el abono de la prestación.

3. Las intervenciones contempladas en la letra c) del artículo 15 de esta Ley se realizarán preferentemente en centros cualificados de la red sanitaria pública.

Artículo 20. *Protección de la intimidad y confidencialidad.*

1. Los centros que presten la interrupción voluntaria del embarazo asegurarán la intimidad de las mujeres y la confidencialidad en el tratamiento de sus datos de carácter personal.

2. Los centros prestadores del servicio deberán contar con sistemas de custodia activa y diligente de las historias clínicas de las pacientes e implantar en el tratamiento de los datos las medidas de seguridad de nivel alto previstas en la normativa vigente de protección de datos de carácter personal.

Artículo 21. Tratamiento de datos.

1. En el momento de la solicitud de información sobre la interrupción voluntaria del embarazo, los centros, sin proceder al tratamiento de dato alguno, habrán de informar a la solicitante que los datos identificativos de las pacientes a las que efectivamente se les realice la prestación serán objeto de codificación y separados de los datos de carácter clínico asistencial relacionados con la interrupción voluntaria del embarazo.

2. Los centros que presten la interrupción voluntaria del embarazo establecerán mecanismos apropiados de automatización y codificación de los datos de identificación de las pacientes atendidas, en los términos previstos en esta Ley.

A los efectos previstos en el párrafo anterior, se considerarán datos identificativos de la paciente su nombre, apellidos, domicilio, número de teléfono, dirección de correo electrónico, documento nacional de identidad o documento identificativo equivalente, así como cualquier dato que revele su identidad física o genética.

3. En el momento de la primera recogida de datos de la paciente, se le asignará un código que será utilizado para identificarla en todo el proceso.

4. Los centros sustituirán los datos identificativos de la paciente por el código asignado en cualquier información contenida en la historia clínica que guarde relación con la práctica de la interrupción voluntaria del embarazo, de forma que no pueda producirse con carácter general, el acceso a dicha información.

5. Las informaciones relacionadas con la interrupción voluntaria del embarazo deberán ser conservadas en la historia clínica de tal forma que su mera visualización no sea posible salvo por el personal que participe en la práctica de la prestación, sin perjuicio de los accesos a los que se refiere el artículo siguiente.

Artículo 22. Acceso y cesión de datos de carácter personal.

1. Únicamente será posible el acceso a los datos de la historia clínica asociados a los que identifican a la paciente, sin su consentimiento, en los casos previstos en las disposiciones legales reguladoras de los derechos y obligaciones en materia de documentación clínica.

Cuando el acceso fuera solicitado por otro profesional sanitario a fin de prestar la adecuada asistencia sanitaria de la paciente, aquél se limitará a los datos estricta y exclusivamente necesarios para la adecuada asistencia, quedando constancia de la realización del acceso.

En los demás supuestos amparados por la ley, el acceso se realizará mediante autorización expresa del órgano competente en la que se motivarán de forma detallada las causas que la justifican, quedando en todo caso limitado a los datos estricta y exclusivamente necesarios.

2. El informe de alta, las certificaciones médicas y cualquier otra documentación relacionada con la práctica de la interrupción voluntaria del embarazo que sea necesaria a cualquier efecto, será entregada exclusivamente a la paciente o persona autorizada por ella. Esta documentación respetará el derecho de la paciente a la intimidad y confidencialidad en el tratamiento de los datos de carácter personal recogido en este Capítulo.

3. No será posible el tratamiento de la información por el centro sanitario para actividades de publicidad o prospección comercial. No podrá recabarse el consentimiento de la paciente para el tratamiento de los datos para estas actividades.

Artículo 23. Cancelación de datos.

1. Los centros que hayan procedido a una interrupción voluntaria de embarazo deberán cancelar de oficio la totalidad de los datos de la paciente una vez transcurridos cinco años desde la fecha de alta de la intervención. No obstante, la documentación clínica podrá conservarse cuando existan razones epidemiológicas, de investigación o de organización y funcionamiento del Sistema Nacional de Salud, en cuyo caso se procederá a la cancelación

de todos los datos identificativos de la paciente y del código que se le hubiera asignado como consecuencia de lo dispuesto en los artículos anteriores.

2. Lo dispuesto en el apartado anterior se entenderá sin perjuicio del ejercicio por la paciente de su derecho de cancelación, en los términos previstos en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Disposición adicional primera. *De las funciones de la Alta Inspección.*

El Estado ejercerá la Alta Inspección como función de garantía y verificación del cumplimiento efectivo de los derechos y prestaciones reconocidas en esta Ley en todo el Sistema Nacional de Salud.

Para la formulación de propuestas de mejora en equidad y accesibilidad de las prestaciones y con el fin de verificar la aplicación efectiva de los derechos y prestaciones reconocidas en esta Ley en todo el Sistema Nacional de Salud, el Gobierno elaborará un informe anual de situación, en base a los datos presentados por las Comunidades Autónomas al Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud.

Disposición adicional segunda. *Evaluación de costes y adopción de medidas.*

El Gobierno evaluará el coste económico de los servicios y prestaciones públicas incluidas en la Ley adoptando, en su caso, las medidas necesarias de conformidad a lo dispuesto en la Ley 16/2003, de 28 de mayo, de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud.

Disposición adicional tercera. *Acceso a métodos anticonceptivos.*

El Gobierno, en el plazo de un año, desde la entrada en vigor de la Ley, concretará la efectividad del acceso a los métodos anticonceptivos. En este sentido, se garantizará la inclusión de anticonceptivos de última generación cuya eficacia haya sido avalada por la evidencia científica, en la cartera de servicios comunes del Sistema Nacional de Salud en las mismas condiciones que las prestaciones farmacéuticas con financiación pública.

Disposición derogatoria única. *Derogación del artículo 417 bis del Código Penal.*

Queda derogado el artículo 417 bis del Texto Refundido del Código Penal publicado por el Decreto 3096/1973, de 14 de septiembre, redactado conforme a la Ley Orgánica 9/1985, de 5 de julio.

Disposición final primera. *Modificación de la Ley Orgánica 10/1995, de 23 de noviembre, del Código Penal.*

Uno. El artículo 145 del Código Penal queda redactado de la forma siguiente:

«Artículo 145.

1. El que produzca el aborto de una mujer, con su consentimiento, fuera de los casos permitidos por la ley será castigado con la pena de prisión de uno a tres años e inhabilitación especial para ejercer cualquier profesión sanitaria, o para prestar servicios de toda índole en clínicas, establecimientos o consultorios ginecológicos, públicos o privados, por tiempo de uno a seis años. El juez podrá imponer la pena en su mitad superior cuando los actos descritos en este apartado se realicen fuera de un centro o establecimiento público o privado acreditado.

2. La mujer que produjere su aborto o consintiere que otra persona se lo cause, fuera de los casos permitidos por la ley, será castigada con la pena de multa de seis a veinticuatro meses.

3. En todo caso, el juez o tribunal impondrá las penas respectivamente previstas en este artículo en su mitad superior cuando la conducta se llevare a cabo a partir de la vigésimo segunda semana de gestación.»

Dos. Se añade un nuevo artículo 145 bis del Código Penal, que tendrá la siguiente redacción:

«Artículo 145 bis.

1. Será castigado con la pena de multa de seis a doce meses e inhabilitación especial para prestar servicios de toda índole en clínicas, establecimientos o consultorios ginecológicos, públicos o privados, por tiempo de seis meses a dos años, el que dentro de los casos contemplados en la ley, practique un aborto:

- a) sin haber comprobado que la mujer haya recibido la información previa relativa a los derechos, prestaciones y ayudas públicas de apoyo a la maternidad;
- b) sin haber transcurrido el período de espera contemplado en la legislación;
- c) sin contar con los dictámenes previos preceptivos;
- d) fuera de un centro o establecimiento público o privado acreditado. En este caso, el juez podrá imponer la pena en su mitad superior.

2. En todo caso, el juez o tribunal impondrá las penas previstas en este artículo en su mitad superior cuando el aborto se haya practicado a partir de la vigésimo segunda semana de gestación.

3. La embarazada no será penada a tenor de este precepto.»

Tres. Se suprime el inciso «417 bis» de la letra a) del apartado primero de la disposición derogatoria única.

Disposición final segunda. *Modificación de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de información y documentación clínica.*

El apartado 4 del artículo 9 de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, Básica Reguladora de la Autonomía del Paciente y de Derechos y Obligaciones en materia de información y documentación clínica, tendrá la siguiente redacción:

«4. La práctica de ensayos clínicos y de técnicas de reproducción humana asistida se rige por lo establecido con carácter general sobre la mayoría de edad y por las disposiciones especiales de aplicación.»

Disposición final tercera. *Carácter orgánico.*

La presente Ley Orgánica se dicta al amparo del artículo 81 de la Constitución.

Los preceptos contenidos en el Título Preliminar, el Título I, el capítulo II del Título II, las disposiciones adicionales y las disposiciones finales segunda, cuarta, quinta y sexta no tienen carácter orgánico.

Disposición final cuarta. *Habilitación para el desarrollo reglamentario.*

El Gobierno adoptará las disposiciones reglamentarias necesarias para la aplicación y desarrollo de la presente Ley.

En tanto no entre en vigor el desarrollo reglamentario referido, mantienen su vigencia las disposiciones reglamentarias vigentes sobre la materia que no se opongan a lo dispuesto en la presente Ley.

Disposición final quinta. *Ámbito territorial de aplicación de la Ley.*

Sin perjuicio de las correspondientes competencias autonómicas, el marco de aplicación de la presente Ley lo será en todo el territorio del Estado.

Corresponderá a las autoridades sanitarias competentes garantizar la prestación contenida en la red sanitaria pública, o vinculada a la misma, en la Comunidad Autónoma de residencia de la mujer embarazada, siempre que así lo solicite la embarazada.

Disposición final sexta. *Entrada en vigor.*

La Ley entrará en vigor en el plazo de cuatro meses a partir del día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Por tanto,

BOLETÍN OFICIAL DEL ESTADO
LEGISLACIÓN CONSOLIDADA

Mando a todos los españoles, particulares y autoridades, que guarden y hagan guardar esta ley orgánica.

Madrid, 3 de marzo de 2010.

JUAN CARLOS R.

El Presidente del Gobierno,
JOSÉ LUIS RODRÍGUEZ ZAPATERO

Este texto consolidado no tiene valor jurídico.
Más información en info@boe.es

ANEXO II.

Ley Orgánica 11/2015, de 21 de septiembre, para reforzar la protección de las menores y mujeres con capacidad modificada judicialmente en la interrupción voluntaria del embarazo (BOE 22/09/2015).

I. DISPOSICIONES GENERALES

JEFATURA DEL ESTADO

10141 *Ley Orgánica 11/2015, de 21 de septiembre, para reforzar la protección de las menores y mujeres con capacidad modificada judicialmente en la interrupción voluntaria del embarazo.*

FELIPE VI

REY DE ESPAÑA

A todos los que la presente vieren y entendieren.
Sabed: Que las Cortes Generales han aprobado y Yo vengo en sancionar la siguiente ley orgánica.

EXPOSICIÓN DE MOTIVOS

La Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo, extendió la capacidad de otorgar el consentimiento para la interrupción voluntaria del embarazo a las menores de 16 y 17 años, equiparándolas al régimen general aplicable a las mujeres mayores de edad, que está establecido en el Código Civil.

Con el fin de superar la singularidad, que para las menores de edad implicó el tratamiento introducido por la Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de interrupción del embarazo, que supuso la necesaria modificación de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, se rectifica el régimen de consentimiento de las menores para la interrupción del embarazo.

I

El que las menores de 16 y 17 años se encuentren acompañadas de sus representantes legales, padre y/o madre, personas que ostenten la patria potestad o tutores, según proceda, es fundamental para situaciones de vital importancia e impacto futuro, como es la interrupción voluntaria del embarazo. No se trata únicamente de la protección de la menor, sino que su cuidado comprende el núcleo esencial de todas esas figuras jurídicas; y así lo fija el Código Civil, tanto en el artículo 154, estableciendo que entre los deberes y facultades del ejercicio de la patria potestad está el de «velar por ellos, tenerlos en su compañía, alimentarlos, educarlos y procurarles una formación integral», como en el artículo 269, que dispone que «el tutor está obligado a velar por el tutelado», y, en particular, «a educar al menor y procurarle una formación integral».

Por tanto, la modificación contemplada en la Ley Orgánica 2/2010 impide a los progenitores y tutores cumplir con la obligación recogida en el Código Civil, privando a las menores de la protección que el mismo texto legislativo reconoce, de poder contar, en un momento crucial y complicado de su vida, con la asistencia de quienes ejercen su patria potestad.

Asimismo, esta modificación afectó a la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, en lo que se refiere a los límites del consentimiento informado.

Es, por ello, que esta Ley Orgánica suprime la posibilidad de que las menores de edad puedan prestar el consentimiento por sí solas, sin informar siquiera a sus progenitores. De este modo, para la interrupción voluntaria del embarazo de las menores de edad será preciso, además de la manifestación de su voluntad, el consentimiento expreso de los titulares de la patria potestad.

cev: BOE-A-2015-10141

Además, se hace una remisión al Código Civil, a fin de solucionar cualquier tipo de conflicto que surja al prestar el consentimiento por los representantes legales o cuando la decisión de estos pueda poner en peligro el interés superior del menor.

II

La ley se estructura en dos artículos y tres disposiciones finales que se refieren al carácter orgánico de la ley, a su ámbito territorial de aplicación y a su entrada en vigor, que se fija al día siguiente de su publicación.

Artículo primero. *Modificación de la Ley Orgánica 2/2010, de 3 de marzo, de salud sexual y reproductiva y de la interrupción voluntaria del embarazo.*

Se suprime el apartado cuarto del artículo 13, que queda sin contenido.

Artículo segundo. *Modificación de la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.*

Se modifica el apartado 5 del artículo 9, que queda redactado de la siguiente manera:

«5. La práctica de ensayos clínicos y la práctica de técnicas de reproducción humana asistida se rigen por lo establecido con carácter general sobre la mayoría de edad y por las disposiciones especiales de aplicación.

Para la interrupción voluntaria del embarazo de menores de edad o personas con capacidad modificada judicialmente será preciso, además de su manifestación de voluntad, el consentimiento expreso de sus representantes legales. En este caso, los conflictos que surjan en cuanto a la prestación del consentimiento por parte de los representantes legales, se resolverán de conformidad con lo dispuesto en el Código Civil.»

Disposición final primera. *Disposición de carácter ordinario.*

El artículo segundo tiene carácter de ley ordinaria.

Disposición final segunda. *Ámbito territorial de aplicación de la ley.*

Sin perjuicio de las correspondientes competencias autonómicas, el marco de aplicación de la presente ley será todo el territorio del Estado.

Disposición final tercera. *Entrada en vigor.*

La presente ley entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Por tanto,

Mando a todos los españoles, particulares y autoridades, que guarden y hagan guardar esta ley orgánica.

Madrid, 21 de septiembre de 2015.

FELIPE R.

El Presidente del Gobierno,
MARIANO RAJOY BREY

7. BIBLIOGRAFIA.

1. Proceso Atención Integrado (PAI), Embarazo, parto y puerperio. Consejería de Salud Andalucía. 2ª ed. 2005; 2 : 1-147.
2. Benn P, Wright D, Cuckle H. Practical strategies in contingent sequential screening for Down syndrome. *Prenat Diagn.* 2005; 25:645-52.
3. Mutton D, Albertan E, Hook E B. Cytogenetic and epidemiological finding in Down syndrome, England and Wales 1989 to 1993. National Down Syndrome Cytogenetic Register and the Association of Clinical Cytogeneticists. *J Med Genet* 1996;3:387-94
4. Bach C, Torrente S, Cabrero D, y Sabría J. Cribado Bioquímico-ecográfico de las aneuploidias en el primer trimestre. Metodología y resultados. *Prog Obstet Ginecol* 2004; 47: 5-19
5. Bermejo E, Cuevas L, Mendioroz J, Martínez-Frías ML. Vigilancia epidemiológica de anomalías congénitas en España en los últimos 23 años (período 1980-2002). Boletín del ECEMC: *Revista de Dismorfología y Epidemiología* 2003; 5(2): 60-100.
6. Malone F. D., Canick J.A, Ball R.H, Nyberg D.A.. Comstock, C. H Bukowski R., Berkowitz R. L., Gross, S. J Dugoff, L., Craig S. D., Timor-Tritsch I. E., Carr, S R., Wolfe H.M., Dukes, K. Bianchi, D. W. Rudnicka, A. R., Hackshaw, A. K. Lambert-Messerlian, G., Wald, N. J. and D'Alton. M. E. First-trimester or second trimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005; 353 (19):2001-11.
7. Wald N J., Rodeck C, Hackshaw A. K., Walters, J., Chitty L. and Mackinson A M. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 2003;10 (2):56-104.
8. Bermejo E, Cuevas L, Mendioroz J, Martínez-Frías ML. Anomalías congénitas en España: vigilancia epidemiológica en el último cuarto de siglo (1980-2004). Boletín del ECEMC: *Revista de Dismorfología y Epidemiología* 2005; 5 (4): 62-85.
9. Ramos-Corpas D, Santiago JC, Gallo M, Salamanca A. Cribado del síndrome de Down en Andalucía: se precisa una estrategia más eficaz. *Prog Obstet. Ginecol* 2004; 47: 446-51.

10. Parkman Paul D. «Togaviruses: Rubella Virus». Medical Microbiology. 4th edition. Baron S, editor. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston PMID 21413314.
<http://feelsynapsis.com/pg/file/read/68806/chapter-55-togaviruses-rubella-virus-by-paul-d-parkman>.
11. Frey TK Biología molecular del virus de la rubeola. *Adv Virus Res* 1994; 44: 69–160. PMID 7817880.
12. Best et al. Interpretation of Rubella serology in pregnancy-pitfalls and problems. *BMJ*, 2002; 325:147-8
13. Siegel M, Fuerst HT, Guinee VF. Epidemiología y embriopatía de la rubeola. Resultados de un estudio prospectivo de larga duración) *Am J Dis Child*. 1971; 121 (6): 469–73. PMID 5581012.
14. Edlich RF, Winters KL, Long WB, Gubler KD Rubella and congenital rubella (German measles). *J Long Term Eff Med Implants* 2005; 15 (3): 319–28. PMID 16022642.
<http://www.begellhouse.com/journals/1bef42082d7a0fdf,69622d0e4ea6cf4b,4fb4b32d494cf55c.html>.
15. Richardson M, Elliman D, Maguire H, Simpson J, Nicoll A «Evidencia de base de los periodos de incubación, periodos de infectibilidad y políticas de exclusión para el control de enfermedades comunicables en escuelas y jardines». *Pediatr Infect Dis J*. 2001; 20 (4): 380–91. PMID 11332662.
<http://meta.wkhealth.com/pt/pt-core/template-journal/lwwgateway/media/landingpage.htm?issn=08913668&volumen=20&número=4&spage=380>.
16. Atreya CD, Mohan KV, Kulkarni S. Virus de la rubéola y defectos congénitos: molecular insights into the viral teratogenesis at the cellular level. *Birth Defects Res Part A Clin. Mol Teratol.*; 2004; 70 (7): 431–7.
17. De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, Caruso A Infección de rubéola en el embarazo. *Reprod Toxicol* 2006; 21 (4): 390–8. doi: 10.1016/j.reprotox.2005.01.014. PMID 16580940.
[http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890-6238\(05\)00073-0](http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0890-6238(05)00073-0).
18. Chen R.T.: Vaccine risks: real, perceived and unknown. *Vaccine* 1999/; 17S: 41–46.
19. Dubey JP, Lindsay DS, Speer CA. Structures of *Toxoplasma gondii* tachyzoites, bradyzoites, and sporozoites and biology and development of tissue cysts. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11:267-99

20. Vaz, A J., Guerra, E M, Ferrato, L C et al. Positive serology of syphilis, toxoplasmosis and Chagas' disease in pregnant women on their first visit to State Health Centers in a metropolitan area, Brazil. *Rev Saúde Pública* [online]. 1990, vol. 24, (5): 373-79.
21. Vidigal, P V, Santos, D V, Castr, F. C. et al. Prenatal toxoplasmosis diagnosis from amniotic fluid by PCR. *Rev Soc Bras Med Trop* [online]. 2002; 35; 1 : 1-6.
22. Velasco-Castrejón, O ., Tenorio G. y Rivas-Sánchez. B. Diagnóstico diferencial entre toxoplasmosis y leptospirosis de 26 casos mexicanos de uveitis posterior. *Rev Cubana Med Trop* 2005;57(1):77-8.
23. Gómez JE, Ruiz B, Silva P, Beltrán S, Cortés J, Montoya J, Agudelo A. *Guía de práctica clínica para toxoplasmosis durante el embarazo y toxoplasmosis congénita en Colombia. Guía de práctica clínica* 2007; 11: 129-41.
24. Bruguera M. Transmisión de la Hepatitis B. *Med Clin (Barc.)* 1985;8:312-14
25. Bruguera M. *Hepatitis* Ed Doyma. Barcelona. 1993
26. Larsen SA. Manual of test for syphilis. *American Public Health Association*. Whashington DC. 1990
27. Hook EW, Marra CE. Acquired syphilis in adults. *N Engl J Med* 1992; 326:1060-69.
28. Larsen SA, Steiner BM, Rudolf Ah. Laboratory diagnosis and test for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:1-21.
29. Larsen S.A. et al. A Manual of test for Syphilis. *American Public Health Association*. 9ª edic.1999.
30. Sharp P M, Shaw M, Hahn, B. H. (2005). Simian immunodeficiency virus infection of chimpanzees. *J Virol* 2005;79: 3891-902.
31. Santiago M L, Range F, Keele B F, Li Y, Bailes E, Bibollet-Ruche F, Fruteau C, Noe R, Peeters M., Brookfield J F, Shaw G M, Sharp P M Hahn B H Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (*Cercocebus atys atys*) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *J Virol* 2005;79: 12515-27.
32. Ling, B., Apetrei, C., Pandrea, I., Veazey, R. S., Lackner, A. A., Gormus, B. & Marx, P. A. «Classic AIDS in a sooty mangabey after an 18-year natural infection». *J Virol* 2004;78(16):8902-8

33. International Committee on Taxonomy of Viruses. «61.0.6. Lentivirus». National Institutes of Health.2006-02-28
34. International Committee on Taxonomy of Viruses. «61. Retroviridae». National Institutes of Health.2002
35. Lévy, J A. HIV pathogenesis and long-term survival. *AIDS* 1993; (7): 1401–10.
36. Smith J A; Daniel R . Following the path of the virus: the exploitation of host DNA repair mechanisms by retroviruses. *ACS Chem Biol* 2006;1 (4): 217–26.
37. Gilbert PB, Mckeague,IW, Eisen G,. Comparison of HIV-1 and HIV-2 infectivity from a prospective cohort study in Senegal. *Statistics in Medicine* 2003;22 (4): 573–93.
38. Reeves J D, and Doms R W . Human Immunodeficiency Virus Type 2. *J Gen Virol* 2002;83 :1253-65
39. De Cock KM, Jaffe HW, Curran JW . The evolving epidemiology of HIV/AIDS. *AIDS* 2012 ; 26 (10): 1205-13.
40. Simmonds P, Bukh J, Combet C, Deléage G, Enomoto N, Feinstone S, Halfon P, Inchauspé G, Kuiken C, Maertens G, Mizokami M, Murphy D, Okamoto H, Pawlotsky J, Penin F, Sablon E, Shin-I T, Stuyver L, Thiel H, Viazov S, Weiner A, Widell A . Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology* 2005;42 (4): 962-73.
41. W.H.O.Hepatitis C – Global prevalence (update). *Wkly Epidemiol Rec* 1999;74:425-7.
42. Brown RS, Gaglio PJ. Scope of worldwide hepatitis C problem. *Liver Transpl* 2003;9:S10-3.
43. Seeff LB. Natural history of chronic hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S35-46.
44. Rakela J, Vargas HE. Hepatitis C: magnitude of the problem. *Liver Transpl* 2002;8:S3- 6.
45. El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma and hepatitis C in the United States. *Hepatology* 2002;36:S74-83.
46. Buckel E, Uribe M, Ferrario M, Godoy J, Cheng S, Brahm J, Segovia R, Silva G, Ceresa S, Hunter B, Alegría S, Santander MT, Calabran L, Herzog

C. Resultados en 165 trasplantes hepáticos consecutivos. La mayor experiencia en Chile. *Gastroenterol Hepatol* 2002;25(Supl 2):37.

47. Soza A, Arrese M, González R, Alvarez M, Pérez RM, Cortés P, Patillo A, Riquelme A, Glasinovic JC. Clinical and epidemiological features of 147 Chilean patients with chronic hepatitis C. *Ann Hepatol* 2004;3:146-51.
48. González R, Soza A, Hernández V, Pérez RM, Alvarez M, Morales A, Arrellano M, Riquelme A, Viviani P, Covarrubias C, Arrese M, Miquel JF, Nervi F. Incidence and prevalence of hepatitis C virus infection in Chile. *Ann Hepatol* 2005;4:127-30
49. Quero MS, Suarez M, Munoz G, Torres M, Pena M. Prevalence of hepatitis C virus antibodies in pregnant women in Santiago. *Rev Med Chil* 1995;123:907-8.
50. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology* 2002;36:S21-9.
51. Liang TJ, Rehermann B, Seeff LB, Hoofnagle JH. Pathogenesis, natural history, treatment, and prevention of hepatitis C. *Ann Intern Med* 2000;132:296-305.
52. Conte D, Fraquelli M, Prati D, Colucci A, Minola E. Prevalence and clinical course of chronic hepatitis C virus (HCV) infection and rate of HCV vertical transmission in a cohort of 15250 pregnant women. *Hepatology* 2000;31:751-5.
53. Yeung LT, King SM, Roberts EA. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Hepatology*, 2001;34:223-9.
54. Lin HH, Kao JH, Hsu HY, Ni YH, Yeh SH, Hwang LH, Chang MH, Hwang SC, Chen PJ, Chen DS. Possible role of high-titer maternal viremia in perinatal transmission of hepatitis C virus. *J Infect Dis* 1994;169:638-41.
55. Manzini P, Saracco G, Cerchier A, Riva C, Musso A, Ricotti E, Palomba E, Scolfaro C, Verme G, Bonino F, et al. Human immunodeficiency virus infection as risk factor for mother-to-child hepatitis C virus transmission; persistence of anti-hepatitis C virus in children is associated with the mother's anti-hepatitis C virus immunoblotting pattern. *Hepatology* 1995;21:328-32.
56. CDC Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV-related chronic disease. Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR Recomm Rep* 1998;47:1-39.

57. Azzari C, Resti M, Moriondo M, Ferrari R, Lionetti P, Vierucci A. Vertical transmisión of HCV is related to maternal peripheral blood mononuclear cell infection. *Blood* 2000;96:2045-8.
58. Ozaslan E, Yilmaz R, Simsek H, Tatar G. Interferon therapy for acute hepatitis C during pregnancy. *Ann Pharmacother* 2002;36:1715-8.
59. Floreani A, Paternoster D, Zappala F, Cusinato R, Bombi G, Grella P, Chiaramonte M. Hepatitis C virus infection in pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1996;103:325-9.
60. Bortolotti F, Resti M, Giacchino R, Azzari C, Gussetti N, Crivellaro C, Barbera C, Mannelli F, Zancan L, Bertolini A. Hepatitis C virus infection and related liver disease in children of mothers with antibodies to the virus. *J Pediatr* 1997;130:990-3.
61. Palomba E, Manzini P, Fiammengo P, Maderni P, Saracco G, Tovo PA. Natural history of perinatal hepatitis C virus infection. *Clin Infect Dis* 1996;23:47-50.
62. Wald NJ, Cuckle HS, Densem JW, Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *BMJ* 1988;297:883-7
63. Neveux LM, et al. Refinements in managing maternal weight adjustment for interpreting prenatal screening results. *Prenatal Diagnosis* 1996;(12):1115-9
64. Wald NJ, et al. Serum screening for Down's syndrome between 8 and 14 weeks of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:407-12
65. Biagiotti R. First trimester screening for Down syndrome using maternal serum PAPP-A and free B-HCG in combination with fetal nuchal translucency thickness. *Br J Obstet Gynecol* 1998; 105: 917-20
66. De Biaso P, Siccardi M, Volpe G, Famularo L, Santi F, Canini S, et al. First trimester screening for Down syndrome using nuchal translucency measurement with free B-HCG and PAPP-A between 10-13 weeks of pregnancy, the combined test. *Prenatal Diagn* 1999; 19(4): 360-63
67. Krantz DA. First trimester Down syndrome screening using blood biochemistry and nuchal translucency. *Obstet Gynecol* 2000; 96: 207-11
68. Nicolaidis KH, Spencer K, Avgidou K, Faiola S, Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75,821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage first-trimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25(3) 221-26.

69. AETSA :Agencia de Evaluaciòn de Tecnològias Sanitarias de Andalucía.Consejería de Salud. Cribado prenatal del Síndrome de Down. *Informe – AETSA 6/2005*
70. MacDonald AD, Armstrong BG,Sloan M. Cigarette, alcohol, and coffee consumption and prematurity.*Am J Public Health* 1992; 82(1) : 87-90
71. Sabria J. Cabrero D, Aleixandre RN, Vila I, Bach C, Cribaje bioquímico y bioquímico-ecográfico de las cromosopatías en el primer trimestre del embarazo. Falsos positivos. *Pro Diag Prenat* 1999; 11 : 20-6
72. Ochshorn Y, Kupfermic M, Wolman I, Orr- Urteger A, Jaffa A, Yaron Y. First trimester PAPP-A in the detection of non-Down syndrome aneuploidy .*Prenatal Diagn* 2001; 21: 547-49
73. Lin TM,Galbert SP,Kiefer D, Spellacy WN, Gall S. Characterizacion of four human pregnancy-associate plasma protein. *Am J Obstet Gynecol* 1974 ; 118 (2):223-36
74. Bischof P. Three pregnancy proteins (PP12, PP14, and PAPP-A): their biological and clinical relevance. *Am J Perinatol* 1989;6(2):110-6
75. Oxvig C, Sand O,Kristensen T,Gleich GJ,Sottrup-Jensen L.Circulating human pregnancy-associated plasma protein-A is disulfide-bridge to the proform of eosinophil major basic protein. *J Biol Chem* 1993;268 (17): 12243-6
76. Oxvig C,Sand O,Kristensen T,Gleich GJ,Sottrup-Jensen L. Isolation and caracterizacion of circulating complex between human pregnancy associated plasma protein-A and proform of eosinophil major basic protein. *Biochim Biophys Acta* 1994 ;1201(3):415-23.
77. Silahtaroglu AN,Turner Z, Kristensen T, Sottrup-Jensen L. Tommerup N. Assignment of the human gene for pregnancy-associated plasma protein A (PAPP-A) to 9q33.1 by fluorescence in situ hybridization to mitotic and mitotic chromosomes. *Cytogenet Cell Genet* 1993;62(4):214-6
78. Troyano J, Usandizaga M, Ecurrída M, Valero J, Montalvo J, Martínez-Cortés L, Pérez-Medina T, Mercé L. Organización de la ecografía obstétrico-ginecológica. Recomendaciones para la organización de un Servicio de Obstetricia y Ginecología. Documento *SEGO* 2005:31-40
79. Orlando F. First trimestre screening for fetal aneuploidy: biochemistry and nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10: 381-386

80. Nicolaides KH, Azar G, Byrne D, Mansur C, Marks K. Fetal nuchal translucency: ultrasound screening for chromosomal defects in first trimester of pregnancy. *Br Med J* 1992; 304:867-9.
81. Nicolaides KH, Brizot ML, Snijders RJM. Fetal nuchal translucency thickness: ultrasound screening for fetal trisomy in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1994; 101:782-6.
82. Pandya PP, Snijders RJM, Johnson SJ, Brizot M, Nicolaides KH. Screening for fetal trisomies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10 to 14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:957- 62.
83. Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes K, Sepúlveda W, Nicolaides KH: Screening for trisomy 21 in pregnancies by maternal age and fetal nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Br J Obstet Gynecol* 1996; 103:999-1003.
84. Snijders RJM, Johnson S, Sebire NJ, Noble PL, Nicolaides KH. First-trimester ultrasound screening for chromosomal defects. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:216-26.
85. Snijders RJM, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchal-translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Lancet* 1998; 352:343-6.
86. Sepúlveda W. Screening ultrasonográfico a las 11-14 semanas de gestación. Conferencia oficial. Santiago de Chile *I Congreso Chileno de Ultrasonografía*. 1995.
87. Sepúlveda W, Be C, Bravo M. Anomalías cromosómicas en el primer trimestre del embarazo: correlación entre hallazgos ultrasonográficos y cariograma por biopsia de vellosidades coriales. *Rev Chil Obstet Ginecol* 1997; 62:268-74.
88. Sepúlveda W, Be C, Bravo M, Youlton R. Rendimiento de la translucencia nuchal en 120 biopsias de vellosidades coriales. *Rev Chil Ultrason* 1999; 2:15-8.
89. Chitty LS, Pandya PP. Ultrasound screening for fetal abnormalities in the first trimester. *Prenat Diagn* 1995; 17:1269-81
90. Whitlow BJ, Economides DL. The optimal age to examine fetal anatomy and measure nuchal translucency in the first trimester. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:258-61.
91. Pajkrt E, Bilardo C, Van Lith J, Mol B, Blecker O. Nuchal translucency measurement in normal fetuses. *Obstet Gynecol* 1995; 86:994-7.

92. Braithwaite J, Morris R, Economides D. Nuchal translucency measurements: frequency distribution and changes with gestation in a general population. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:1201-4.
93. Schuchter K, Wald N, Hackshaw A, Hafner E, Leibbart E. The distribution of nuchal translucency at 10-13 weeks of pregnancy. *Prenat Diagn* 1998;18:281-6.
94. Pajrkt E, Mol B, Van Lith J, Blecker O, Bilardo C. Screening for Down's syndrome by fetal nuchal translucency measurement in a high-risk population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12:156-62.
95. Yagel S, Anteby E, Rosen L, Yaffe E, Rabinowitz R, Tadmor O. Assessment of first-trimester nuchal translucency by daily reference intervals. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:262-5.
96. Roberts L, Bewley S, Mackinson A, Rodeck C. First trimester translucency: problems with screening the general population 1. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:381-5.
97. Pandya PP, Altman D, Brizot ML, Pettersen H, Nicolaides KH. Repeatability of measurement of fetal nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:334-7.
98. Herman A, Maymon R, Draezen E, Caspi E, Bukovsky I, Weinraub Z. Image magnification does not contribute to the repeatability of caliper placement in measuring nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;11:266-70.
99. Pajrkt E, Mol BWJ, Boer K, Drogtróp AP, Bossuyt PMM, Bilardo CM. Intra- and interobserver repeatability of the nuchal translucency measurement. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2000;15(4):297-301.
100. Whitlow BJ, Chatzipapas I, Economides D. The effect of fetal neck position on nuchal translucency measurement. *Br J Obstet Gynaecol* 1998; 105:872- 6.
101. Pandya PP, Kondylios A, Hilbert L, Snijders RJM, Nicolaides KH. Chromosomal defects and outcome in 1015 fetuses with increased nuchal translucency. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:15-9.
102. Szabo J, Gellen J, Szemere G. First trimester ultrasound screening for fetal aneuploidies in women over 35 and under 35 years of age. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:161-3.
103. Comas M, Martínez JM, Ojuel J, Casals E, Puerto B, Borrel A, Fortuny A. First-trimester nuchal edema as a marker of aneuploidy. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:26-9.

104. Brambati B, Cislighi C, Tului L, Alberti E, Amidani M, Colombo U, Zuliani G. First trimester Down's syndrome screening using nuchal translucency: a prospective study in patients undergoing chorionic villus sampling. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995; 5:9-14.
105. Taipale P, Hiilesmaa V, Salonen R, Ylostalo P. Increased nuchal translucency as a marker for fetal chromosomal defects. *N Engl J Med* 1997; 337:1654-8.
106. Bewley S, Roberts LJ, Mackinson AM, Rodeck CH. First trimester fetal nuchal translucency: problems with screening the general population 2. *Br J Obstet Gynaecol* 1995; 102:386-8.
107. Hafner E, Schuchter K, Liebbart E, Philipp K. Results of routine fetal nuchal translucency measurement at weeks 10-13 in 4233 unselected pregnant women. *Prenat Diagn* 1998; 18:29-34.
108. Theodoropoulos P, Lolis D, Papageorgiou C, Papaioannaou S, Plachouras N, Makrydimas G. Evaluation of first trimester screening by fetal nuchal translucency and maternal age. *Prenat Diagn* 1998; 18:133-7.
109. Pajkrt E, Van Lith JM, Mol BW, Blecker OP, Bilardo CM. Screening for Down's syndrome by fetal nuchal translucency measurement in a general obstetric population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 12:163-9.
110. Hyett JA, Noble PL, Snijders RJM, Montenegro N, Nicolaides KH. Fetal heart rate in trisomy 21 and other chromosomal abnormalities at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:239-44.
111. Martinez JM, Echeverria M, Borrell A, Puerto B, Fortuny A. Fetal heart rate and nuchal translucency in detecting chromosomal abnormalities other than Down syndrome. *Obstet Gynecol* 1998; 92:68-71.
112. Martinez JM, Borrel A, Antolin E et al. Combining nuchal translucency with umbilical Doppler velocimetry for detecting fetal trisomies in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynaecol* 1997; 104:11-4.
113. Matias A, Gomes C, Flack N, Montenegro N, Nicolaides KH. Screening for chromosomal abnormalities at 10-14 weeks: the role of ductus venosus blood flow. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998;12:380-4.
114. Kornman LH, Morssink L, Beekhuis J, Heringa M, Mantingh A. Nuchal translucency cannot be used as a screening test for chromosomal abnormalities in the first trimester of pregnancy in a routine ultrasound practice. *Prenat Diagn* 1996; 16:797-805.

115. Hyett JA, Sebire NJ, Snijders RJM, Nicolaides KH. Intrauterine lethality of trisomy 21 fetuses with increased nuchal translucency thickness. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:101-3.
116. Vitzileos AM, Anath C, Fisher A, Smulian J, Day-Salvatore D, Beazoglou T. An economic evaluation of first-trimester genetic sonography for prenatal detection of Down syndrome. *Obstet Gynecol* 1998; 91:535-9.
117. Bersinger N, Nicolaides KH. Maternal serum hCG and fetal nuchal translucency thickness for the prediction of fetal trisomies in the first trimester of pregnancy. *Br J Obstet Gynecol* 1995; 102:127-32.
118. Brizot M, Snijders RJM, Bersinger N, Kuhn P, Nicolaides KH. Maternal serum pregnancy-associated plasma protein A and fetal nuchal translucency thickness for the prediction of fetal trisomies in early pregnancy. *Obstet Gynecol* 1994; 84:918-22.
119. Zimmermann R, Hucha A. Serum parameters and nuchal translucency in first trimester screening for fetal chromosomal abnormalities. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:1009-14.
120. De Basio P, Siccardi M, Volpe G, Famularo L, Santi F, Canini S. First trimester screening for Down syndrome using nuchal translucency measurement with free beta-HCG and PAPP-A between 10 and 13 weeks of pregnancy –the combined test. *Prenat Diagn* 1999; 19:360-3
121. Spencer K, Souter V, Tul N, Snijders RJM, Nicolaides KH. A screening program for trisomy 21 at 10-14 weeks using fetal nuchal translucency, maternal serum free beta-human chorionic gonadotropin and pregnancy-associated plasma protein-A. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999; 13:231-7.
122. Brady A, Pandya PP, Yuksel B, Greenough A, Patton M, Nicolaides KH. Outcome of chromosomally normal livebirths with increased fetal nuchal translucency at 10-14 weeks gestation. *J Med Genet* 1998; 35:222-4.
123. Souka A, Snijders R, Novakov A, Soares W, Nicolaides KH. Defects and syndromes in chromosomally normal fetuses with increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:391- 400.
124. Bilardo C, Pajkrt E, de Graaf I, Mol B, Blecker O. Outcome of fetuses with enlarged nuchal translucency and normal karyotype. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:401-6.
125. Hyett J, Perdu M, Sharland G, Snijders RJM, Nicolaides KH. Using fetal nuchal translucency to screen for major congenital cardiac defects at 10-14 weeks of gestation: population based cohort study. *Br Med J* 1999; 318:81-5.

126. Tegnander E, Eik-Nes SH, Johansen OJ, Linker DT Prenatal detection of heart defects at the routine fetal examination at 18 weeks in a non-selected population. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1995;5:372-80.
127. Schaefer M, Laurichesse- Delmas H, Ville Y. The effect of nuchal cord on nuchal translucency measurement at 10-14 weeks. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1998; 11:271-3.
128. Maymon R, Herman A, Dreazen E, Towbin Y, Bukovsky I, Weinraub Z. Can nuchal cord cause transient increased nuchal translucency thickness?. *Hum Reprod* 1999; 14:556-9.
129. Nicolaides KH, Sebire NJ, Snijders RJM. The 11-14 weeks scan. The diagnosis of fetal abnormalities. London: Parthenon Publishing. 1999.
130. Sepulveda W, Sebire NJ, Hughes K, Odibo A, Nicolaides KH. The lambda sign at 10-14 weeks as a predictor of chorionicity in twin pregnancies. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1996; 7:421-3.
131. Sebire NJ, Snijders RJM, Hughes K, Sepulveda W, Nicolaides KH. The hidden mortality of monochorionic twin pregnancies *Br J Obstet Gynecol* 1997; 104:1203-7.
132. Sebire NJ, D'Ercole C, Hughes K, Carvalho M, Nicolaides KH. Increased nuchal translucency thickness at 10-14 weeks of gestation as a predictor of severe twin-to-twin transfusion syndrome. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1997; 10:86-89.
133. Sebire NJ, Noble PL, Psarra A, Papapanagiotou G, Nicolaides KH. Fetal karyotyping in twin pregnancies: selection of technique by measurement of fetal nuchal translucency thickness. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103:887-90.
134. Eiben B, Bartels I, Bahr-Porsch et al. Cytogenetic analysis of 750 spontaneous abortions with the direct preparation method of chorionic villi and its implications for studying genetic causes of pregnancy wastage. *Am J Hum Genet* 1990; 47:656-63.
135. Sepulveda W, Rocha M, Dezerega V, Gutiérrez J, Sandoval R, Carstens E. Anomalías congénitas en el primer trimestre del embarazo: diagnóstico ultrasonográfico, significado clínico y manejo. *Rev Chil Ultras* 1999;2(3):87-92
136. George P. Schimid. *Current Opinion in Infectious Diseases* 1994;7:34-40
137. Cooper LZ, Alford Jr. CA. Rubella. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2006:893-926.

138. Best JM, Castillo-Solorzano C, Spika JS, et al. Reducing the global burden of congenital rubella syndrome: report of the World Health Organization Steering Committee on research related to measles and rubella vaccines and vaccination. *J Infectious Dis* 2005;192:1890-7.
139. Brody JA, Sever JL, McAlister R, et al. Rubella epidemic on St. Paul Island in the Pribilofs, 1963. *JAMA* 1965;191(8):83-7.
140. Horstmann DM, Liebhaber H, LeBouvier GL, et al. Rubella: reinfection of vaccinated and naturally immune persons exposed in an epidemic. *N Engl J Med* 1970;283(15):771-8.
141. Herrmann KL, Halstead SB, Wiebenga NH. Rubella antibody persistence after immunization. *JAMA* 1982;247(2):193-6
142. Preblud SR, Serdula MK, Frank . JA, *et al.* Rubella vaccination in the United States: a ten year review. *Epidemiol Rev* 1980;2:171.94.
143. Binnicker MJ, Jespersen DJ, and J. A. Harring . National Committee for Clinical Laboratory Standards. Multiplex Detection of IgM and IgG Class Antibodies to *Toxoplasma gondii*, Rubella Virus, and Cytomegalovirus Using a Novel Multiplex Flow Immunoassay . *Clin Vaccine Immunol* 2010: vol 17; (11); 1734-38
144. US Department of Labor, OSHA: Occupational Safety and Health Administration, 29 CFR Part 1910.1030, Bloodborne pathogens.
145. CDC.NIH. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. Public Health Service 2009
146. World Health Organization. *Laboratory Biosafety Manual*. 3rd ed. Geneva: World Health Organization; 2004
147. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline - Third Edition*. CLSI Document M29-A3. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.USA
148. Boscatto LM, Stuart MC. Heterophilic antibodies: a problem for all immunoassays. *Clin Chem* 1988;34(1):27-33.
149. Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, et al. Human anti-murine immunoglobulin responses in patients receiving monoclonal antibody therapy. *Cancer Res* 1985;45:879-85.8
150. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods; Approved*

Guideline - Second Edition. NCCLS document EP5-A2. Wayne, PA: NCCLS. 2004.USA

151. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures: A Statistical Approach; Approved Guideline*. NCCLS document EP6-A, Wayne, PA: NCCLS, 2003.USA
152. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline - Second Edition*. CLSI document EP7-A2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.USA
153. Engvall E, Perlmann P. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Quantitative Assay of Immunoglobulin G. *Immunochem* 1971;8:871-4.
154. Engvall E, Perlmann P. Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA). In: Peeters H, editor. *Protides of the Biological Fluids*. Proceedings of the Nineteenth Colloquium, Bruges. Oxford: Pergamon Press. 1971;553-6.
155. Engvall E, Jonsson K, Perlmann P. Enzyme Linked Immunosorbent Assay II. Quantitative Assay of Protein Antigen, Immunoglobulin G, By Means of Enzyme Labelled Antigen and Antibody Coated Tubes. *Biochem Biophys Acta* 1971;251:427-34.
156. Van Weemen BK and Schuurs AH. Immunoassay Using Antigen- Enzyme conjugates. *Febs Letters* 1971;15(3):232-36.
157. Wisdom GB. Enzyme-Immunoassay. *Clin Chem* 1976;22:1243-55.
158. Wolters G, Kuijpers L, Kacaki J, et al. Solid Phase Enzyme Immunoassay for Detection of Hepatitis B Surface Antigen. *J Clin Pathol* 1976;29:873-9.
159. Wei R, Knight GJ, Zimmerman DH, et al. Solid Phase Enzyme Immunoassay for Hepatitis B Surface Antigen. *Clin Chem* 1977;23: 813-5.
160. David GS, Present W, Martinis J, et al. Monoclonal Antibodies in the Detection of Hepatitis Infection. *Med Lab Sci* 1981;38:341-8.
161. Drouet J, Courouce AM, Kalil J, et al. Monoclonal Antibodies to HBsAg Produced by Murine Hybridomas. In: Szmuness W, Alter HJ, Maynard JE, editors. *Viral Hepatitis*. Philadelphia: Franklin Institute Press.USA 1982:706-7.
162. Goodall AH, Miescher G, Meek FM, et al. Monoclonal Antibodies in a Solid Phase Radiometric Assay for HBsAg. *Med Lab Sci* 1981;38:349-354.

163. Kennedy RC, Ionescu Matiu I, Alder Storthz K, et al. Characterization of Anti Hepatitis B Surface Antigen Monoclonal Antibodies. *Intervirology* 1983;19:176- 80.
164. Shih JW K, Cote PJ, Dapolito GM, et al. Production of Monoclonal Antibodies Against Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) by Somatic Cell Hybrids. *J Virol Methods* 1980;1:257- 73.
165. Wands JR, Zurawski VR. High Affinity Monoclonal Antibodies to Hepatitis B Surface Antigen (HBsAg) Produced by Somatic Cell Hybrids. *Gastroenterology* 1981;80:225- 32.
166. US Department of Health and Human Services. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*. 5th ed. Washington, DC:US Government Printing Office; January 2007.USA
167. Perez Sainz JL, Alados arboleda JC.,Borrell Sole N y col. Manual de Seguridad laboratorio Microbiologia Clinica. Madrid. Grupo gestion de Microbiologia Clinica SEIMC; 20110.
168. Clinical and Laboratory Standards Institute. *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections: Approved Guideline Edition*. CLSI Document M29A3, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
169. Primus FJ, Kelley EA, Hansen HJ, et al. “Sandwich” Type Immunoassay of Carcinoembryonic Antigen in Patients Receiving Murine Monoclonal Antibodies for Diagnosis and Therapy. *Clin Chem* 1988;34:261–4.
170. Schroff RW, Foon KA, Beatty SM, et al. Human Anti Murine Immunoglobulin Responses in Patients Receiving Monoclonal Antibody Therapy. *Cancer Res* 1985;45:879–85.
171. Larsen SA, Hunter EF, Macgregor BE. Syphilis. In: Wentworth BB, Judson FN (eds). Laboratory methods for the diagnosis of sexually transmitted diseases, p 1-42. *American Public Health Association*, Whashington DC, 1984.USA
172. Larsen SA, Pettt DE, Perryman MW, Hambie EA, Mullally R, Whittington. EDTA-treated plasma in the RPR card test and the toluidine red unheated serum test for serodiagnosis of syphylis. *J Clin Microbiol* 1983; 17: 341-45
173. Muller F, Lindenschmidt EG. Demonstration of specific 19S (IgM) antibodies in untreated and treated syphylis. Comparative studies of the 19S (IgM) FTA test, the 19S(IgM) TPHA test, and the solid phase haemadsorption assay. *Br J Vener Dis* 1982; 58: 12-17

174. Luger A, Smidt BL, Steyrer K, Wider G.. Screening for syphilis with the AMHA-TP test. *Eur J Sex Trans Dis* 1982; 1:25-27.
175. Snijders R. J., K. Sundberg, W. Holzgreve, G. Henry, and K. H. Nicolaides. Maternal age- and gestation-specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 199 13 (3):167-70
176. Chitayat D, Langlois S, and Wilson RD, Prenatal screening for fetal aneuploidy in singleton pregnancies. *J Obstet Gynaecol Can* 2011; 33 (7):736-50,
177. Wapner R., Thom E, Simpson JL, Pergament E, Silver R, Filkins K, Platt L, Mahoney M, A. Johnson A, Hogge WA, Wilson RD, P. Mohide P, D. Hershey D, Krantz D, J. Zachary , Snijders JR, Greene N, R. Sabbagha R, S. MacGregor S, Hill L, Gagnon A, Hallahan T, and Jackson L. First-trimester screening for trisomies 21 and 18. *N Engl J Med* 2003:349 (15):1405-1413
178. Wald N. J., Rodeck C, Hackshaw AK, Walters J; Chitty L, and Mackinson AM. First and second trimester antenatal screening for Down's syndrome: the results of the Serum, Urine and Ultrasound Screening Study (SURUSS). *J Med Screen* 10 (2):56-104, 2003.
179. Nicolaides K H, K. Spencer K, Avgidou K, Faiola S, and Falcon O. Multicenter study of first-trimester screening for trisomy 21 in 75 821 pregnancies: results and estimation of the potential impact of individual risk-orientated two-stage firsttrimester screening. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2005;25 (3):221-26
180. Malone F. D., Canick JA, Ball RH, Nyberg DA, Comstock CH, R. Bukowski R, Berkowitz RL, S. J. Gross SJ, Dugoff L, Craigo SD, Timor-Tritsch IE, Carr SR, Wolfe HM, Dukes K, Bianchi DW, A. R. Rudnicka AR, Hackshaw AK, G. Lambert-Messerlian, G,N. J. Wald NJ, and D'Alton ME, First-trimester or secondtrimester screening, or both, for Down's syndrome. *N Engl J Med* 2005: 353 (19):2001-11,
181. Comas C, Echavarría M, Rodríguez MA, Rodríguez I, Sabría J. Control de Calidad en el cribado prenatal de aneuploidía. *Diagn Prenat* 2012;23:15-24
182. Ramirez Garrido FA, Ulibarrena Estevez J, Valverde Cuesta S, Ramayo Barrio E, Camacho Carretero A. Modelo de control de calidad para marcadores bioquímicos y ecográficos del cribado prenatal de aneuploidías fetales. *Rev Lab Clin* 2012;5:182-7
183. Ramos Corpas DJ, Gallo Vallejo M, Santiago Blázquez JC. Control de calidad en los programas de cribado de cromosopatías del primer trimestr. *Prog Diag Trat Prenat* 2005;17:40-5

184. Spencer K, Crossley JA, Aitken DA, Nix AB, Dunstan FD, Williams K. The effect of temporal variation in biochemical markers of trisomy 21 across the first trimester of pregnancy on the estimation of individual patient-specific risks and detection rates for Down's syndrome. *Ann Clin Biochem* 2003;40:219-31
185. Evans MI, Krantz DA, Hallahan TW, David A, Sherwin JE, Undermeasurement of nuchal translucencies: Implications for screening. *Obst Gynecol* 2010;116:815-8
186. Sabriá J, Barceló-Vidal C, Aridita M, Jiménez JM, Puerto B, Borrel A. The CUSUM test applied in prospective nuchal translucency measurement provides by the cululative summation technique. *Ultrasound Obstet Gynecol* 2011;37:582-7
187. Spencer K, Cicero S, Atzei A, Otigbah C, Nicolaides KH. The influence of maternal insulin-dependent diabetes on fetal nuchal translucency thickness and first-trimester maternal serum biochemical marker of aneuploidy. *Prenat Diag* 2005;25:927-9
188. Nicolaides KH, Snijders RJ, Cuckle HS. Correct estimation of parameters for ultrasound nuchal screening. *Prenat Diagn* 1998;18:519-23
189. Sainz JA, Peral I, Borrero C, Almeida C, Moro A, Turmo E. Stepwise sequential screening for Down's síndrome (combined test associated with modified genetic sonography) in pregnant women with low risk for chromosomal disorders. *J Perinat Med* 2012;40:647-51
190. Cicero S, Bindra R, Rembouskos G, Spencer K, Nicolaides KH. Integrated ultrasound and biochemical screening for trisomy 21 using fetal nuchal translucency, absent fetal nasal bone, free β -hCG and PAPP-A at 11-14 weeks. *Prenat Diagn* 2003;23:306-10.
191. Miller E. Cradock-Watson J.E., Pollock T.M.: Consequences of confirmed maternal rubella at successive stages of pregnancy. *Lancet* 1982;2:781-84.
192. Gutierrez -Zufiaurre N, Sanchez J, Muñoz S, Marin R, Delgado N, Saenz MC., Muñoz.J.L. Garcia J.A. ; Seroprevalence of antibodies against *Treponema pallidum*, *Toxoplasma gondii*, rubella virus, hepatitis B and C virus, and HIV in pregnant women. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004;22:512-516
193. Sampendro A., Mazuelas P, Rodriguez-Granger J, Torres E, Marcadores serológicos en gestantes inmigrantes y autóctonas de Granada. *Enferm Infecc y Microbiol Clin* 2010;28(10):694-97

194. McLeod R., Kieffer F, Sautter M, Hosten T, and Pelloux H. Why prevent, diagnose and treat congenital toxoplasmosis? *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009 104 (2):320-44.
195. McLeod R., Boyer KM, Lee D, Mui E, Wroblewski K, Karrison T, Noble, AG, Withers S, Swisher CN, Heydemann PT, Sautter M, J. Babiarz J, P. Rabiah P, Meier P, and Grigg ME. Prematurity and severity are associated with *Toxoplasma gondii* alleles (NCCCTS, 1981-2009). *Clin Infect Dis* 2012 54 (11):1595-1605
196. Stillwaggon E, Carrier CS, Sautter M, McLeod R. Maternal serologic screening to prevent congenital toxoplasmosis: a decision-analytic economic model. *PLoS Negl Trop Dis* 2011; 5(9):e1333
197. Bartolome J, Martinez M., Moreno L, Lorent S, Crespo M.D. : Prevalence and incidence in Albacete, Spain, of *Toxoplasmosis gondii* infection in women of childbearing age: differences between immigrant and non-immigrant (2001-2007). *Rev Esp Salud Publica* 2008;82: 333-42
198. Ramos JM, Milla A, Rodriguez JC., Gutierrez F,: Seroprevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii*, rubella virus, hepatitis B virus, HIV and *treponema pallidum* in foreign pregnant women in Elche (Spain) *Med Clin (Barc)* 2007;129:677-78
199. Muñoz C, Guardia C, Juncosa T, Vinas L, Sierra M, Sanfeliu I, Bosch J, Dopico E, Lite J, Matas L, Juste C, Barranco M., : *Toxoplasmosis* and pregnancy. Multicenter study of 16.362 pregnant women in Barcelona. *Med Clin (Barc)* 2004; 123:12-16
200. Gutierrez J., Roldan C., Maroto M.C.: Seroprevalencia of human toxoplasmosis. *Microbios* 1996; 85(343):73-5
201. Jaqueti J, Hernandez-Garcia R,Nicolas D, Martinez-Hernandez D, Navarro-Gallard F, Garcia-Esteban RJ. Serology against *Toxoplasma gondii* in pregnant women. Development of prevalence rates in the course of 4 years. *Rev Clin Esp* 1991; 188:278-80
202. Guerra Garcia C, Fernandez Sanpedro J. Seroprevalencia of *Toxoplasma gondii* in pregnant women. *Aten Primaria* 1995; 16:151-3 PMID:7647210
203. Mendez MT, Cordero M, Viejo G, Miguel D. Malo de Molina A.Otero C. Marcadores serológicos en población gestantes de la Zona Basica de Salud Natahoyo (Gijón). *Aten Prim* 1996;18: 45-51
204. Pujol-Riqué M, Quinto L, Dané C, Valls ME, Coll O, Jimenez de Anta MT Seroprevalencia de la toxoplasmosis en mujeres en edad fértil. *Med Clin (Barc)* 2000; 115:375-6

205. Nowakowska D, Stray-Pedersen B, Spiewak E, Sobala W, Malafiej E, Wilczynski J. Prevalence and estimated incidence of Toxoplasma infection among pregnant women in Poland: a decreasing trend in the younger population. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12: 913-7
206. Peterson K, Stray-Pedersen B, Malm G, Forsgren M, Evengard B. Seroprevalence of Toxoplasma gondii among pregnant women in Sweden. *Acta Obstet Gynecol Scand* 2000; 79: 824-9
207. De Paschale M, Agrappi C, Clerici P, Mirri P, Manco MT, Cavallari S et al. Seroprevalence and incidence of Toxoplasma gondii infection in the Legnano area of Italy. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 186-9
208. Diza E, Frantzidou F, Souliou E, Arvanitidou M, Gioula G, Antoniadis A, Seroprevalence of toxoplasma gondii in northern Greece during the last 20 years. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 719-23
209. Nash JQ, Chissel S, Jones J, Warburton F, Verlander NQ. Risk factors for Toxoplasmosis in pregnant women in Kent United Kingdom. *Epidemiol Infect* 2005; 133: 475-83
210. Thiebaut R, Leproust S, Chene G, Gilbert R. Effectiveness of prenatal treatment for congenital toxoplasmosis: a meta-analysis of individual patients data. *Lancet* 2007; 369:115-22
211. Salleras L, Dominguez A, Bruguera M, Plans P, Espunes J, Costa J, Cardenosa N, Plasencia A. Seroepidemiology of hepatitis B virus infection in pregnant women in Catalonia (Spain). *J Clin Virol* 2009;44:329-32
212. Panizo A, Martinez V, Panizo C. Seroprevalence of hepatitis B virus markers in pregnant women attending a public hospital in Navarra. *Rev Clin Esp* 1994(10);194: 891-96 PMID: 7800869
213. Suárez A, Solis G, Otero L, Viejo G, Alvarez C, Garcia R. Prevalence of immunity to hepatitis viruses in pregnant women from the health area of Gijón (Spain). *Gastroenterol Hepatol* 2004;27:347-52
214. Delgado Sanchez A, Bailon Muñoz E, Sanchez Perez MR, Tara Arriola J, Sanchez Mariscal MD, Vazquez Molina R. Resultados y análisis de la investigación de HBsAg en la embarazadas de un centro de salud durante cuatro años. *Aten Primaria* 1990; 7: 556-8.
215. Ranger S, Mounier M, Denis F, Alain J, Baudet J, Tabaste JL, et al. Prevalence of hepatitis B (HBsAg, HBeAg, DNA) and delta virus markers, in about 10.000 pregnant women in Limoges (France). *Pathol Biol (Paris)* 1990;38:694-9

216. Baldo V, Floreani A, Menegon T, Grella P, Paternoster DM, Trivello R. Hepatitis C virus, hepatitis B virus and human immunodeficiency virus infection in pregnant women in North-East Italy: a seroepidemiology. *Eur J Epidemiol* 2000;16:87-91
217. CDC. Discordant results from reverse sequence syphilis screening-five laboratories. United States 2006-2010. *MMWR Mortal Wkly Rep* 2011;60:133-37
218. Barros F C, Bhutta ZA, Batra M, Hansen T N, Victora C G, and Rubens CE. Global report on preterm birth and stillbirth (3 of 7): evidence foreffectiveness of interventions. *BMC Pregnancy Childbirth* 2010; 10 Suppl 1:S3, 2010
219. Cheng J, Q, H. Zhou H, Hong F C, Zhang D, Zhang Y J, Pan P. and Cai Y M. Syphilis screening and intervention in 500,000 pregnant women in Shenzhen, the People's Republic of China. *Sex Transm Infect* 2007; 83 (5):347-50
220. Coles F. B, A. G. Muse A G, and Hipp S S. Impact of a mandatory syphilis delivery test on reported cases of congenital syphilis in Upstate New York. *J Public Health Manag Pract* 1998 4 (3):50-56.
221. Nelson H. D, Glas N, Huffman L, Villemyer K, Hamilton A, and P. Frame P. Screening for Syphilis: Brief Update. Rockville, MD: *Agency for Healthcare Research and Quality* 2004. USA
222. Wolff T, Shelton E, Sessions C, and T. Miller T. Screening for syphilis infection in pregnant women: evidence for the U.S. Preventive Services Task Force reaffirmation recommendation statement. *Ann Intern Med* 2009; 150 (10):710-16
223. Screening for syphilis infection in pregnancy : U.S. Preventive Services Task Force reaffirmation recommendation statement. *Ann Intern Med* 2009; 150:705-09
224. Garcia I, de Ory F, Delgado A, Fuertes A, Garcia I, Sierra M: Guia para estudios serológicos en la prevencion de la infección congénita y perinatal. *Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* 2004;1-26
225. Garcia Bermejo I, De Ory-Manchón F: Diagnóstico serológico de las infecciones congénitas y algoritmos para mejorar la eficacia diagnóstica. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2015;33(Supl 2):20-26.

226. Moreno R.,Hernandez I.,Estelles M.A., Tourne I., Varez-Dardet C.,: Prevalence of human immunodeficiency virus infection, hepatitis B virus and syphilis in full term pregnancy. *Med Clin (Barc)* 1992 ;98:768-70
227. Orio M, Peña JM, Rives MT, Sanz M, Bates I, Madero R et al. Cambios en la transmisión vertical del virus de la inmunodeficiencia humana: comparación de los años 1994 y 2004.*Med Clin (Barc)* 2007;128:321-4
228. Connor E.M.,Sperling r.s.,Gelber r.,Kiselev P., Scott G., O'Sullivan M.J., VanDyke R., Bey M., Shearer W., Jacobson R.L.: “ Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus tipo 1 with zidovudine treatment. Pediatric: AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group. *N Engl J Med* 1994;331:1173-180
229. Suarez A. Viejo G., Otero L., Soli G. Antibody determination for the human immunodeficiency virus in pregnant women in the public health care area of Gijón. Spain *Med Clin (Barc)* 2001;116:517-19
230. Seisdedos T., Diez M, Diaz A, Muñoz L, Garcia A.: Evolution of the human immunodeficiency virus seroprevalence in mothers of newborns from 8 autonomous regions (Spain), 1996-2005”]. *Med Clin (Barc)* 2008;131:250-52
231. Muñoz-Almagro C, Juncosa T, Fortuny C, Guillen JJ, Gonzalez-Cuevas A, Latorre C. Prevalence of hepatitis C virus in pregnant women and vertical transmission. *Med Clin (Bar)* 2002;118:452-4
232. Sola R, Cruz de Castro E, Hombrados M, Planas R, Coll S, Jaardi RS, et al. Prevalence of hepatitis B, and hepatitis C viruses in different countries of Catalonia ,Spain : cross-sectional study. *Med Clin (Barc)* 2002;119:90-5
233. Riestra S, Fernandez E, Leiva P, Garcia S, Ocio G, Rodrigo L. Prevalence of hepatitis C virus infection in the general population of northern Spain. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:477-81
234. Calleja Panero JL, Llop Herrera E, Ruiz Moraga M, de la Revilla Negro J, Calvo Bonacho E, Pons Renedo F, et al. Prevalence of viral hepatitis (Band C) serological workers in healthy working population. *Rev Esp Enferm Dig* 2013;105:249-54.
235. Sabatino G, Ramenghi LA, Dimarzio M, Pizzigallo E, Vertical transmisión of hepatitis C virus. An epidemiological study of 2.980 pregnant women in Italy. *Eur. J. Epidemiol* 1996;12:443-7.
236. Ohto H, Terezawa S,Sasaki N, Sasaki NO, Hino K, Ishiwata C. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *N. Engl J Med* 1994;330: 744-50

237. Marcellin P, Bernau J, Martinot-Peigoux M, Larzul D, XU LZ, Tran S et al. Prevalence of hepatitis C virus infection in asymptomatic and HIV 1 negative pregnant women and their children. *Dig Dis Sci* 1993;38:2151-5
238. Manzini P, Sarocco G, Cerchier A, Riba C, Musso A, Riccoti E, et al. Human immunodeficiency virus infection as risk factor for mother to child hepatitis C virus transmission. Persistence of antihepatitis C virus in children associated with the mother's antihepatitis C virus immunoblotting pattern. *Hepatology* 1995;21;328-32
239. Ruiz-Extremera A, López-Garrido MA, Barranco E, Quintero MD, Ocete-Hita E, Muñoz de Rueda P, et al. Activity of hepatic enzymes from week sixteen of pregnancy. *Am J Obstet Gynecol* 2005;193:2010-6.
240. Rubio Quevedo C, Holgado Carballo M A, Garcia Suarez A, Martín Lara I, Molto Ripoll L. Transmisión vertical del VHC. *An Esp Pediatr* 2001; 54:27-31.
241. Casanova Lax J. Transmisión vertical del VHC. *Anales Españoles de Pediatría* 1997; 47(6)
242. Salmerón J, Gimenez F, Torres C, Ros R, Palacios A, Quintero D. et al. Epidemiology and prevalence of seropositivity for hepatitis C virus in pregnant women in Granada. *Rev Esp Enferm Dig* 1998;90:847-50
243. Ades AE, Parker S, Walker J, Cubit WD, Jones R. HCV prevalence in pregnant women in the UK. *Epidemiol Infect* 2000;125:399-405
244. Guía de práctica de atención en el embarazo y puerperio. Guías de Práctica Clínica en el SNS. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad, Madrid. 2014

