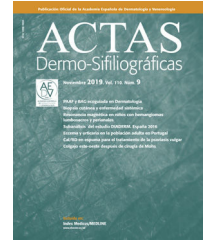




ACTAS Derma-Sifiliográficas

Full English text available at
www.actasdermo.org



REVISIÓN

Actualización en el diagnóstico de las infecciones de transmisión sexual

Q1 J. Rodríguez-Granger^{a,*}, B. Espadafor López^b, F. Cobo^a, G. Blasco Morente^b,
A. Sampedro Martínez^a, J. Tercedor Sánchez^b, L. Aliaga-Martínez^{a,c},
A. Padilla-Malo de Molina^d y J.M. Navarro-Mari^a

^a Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

^b Servicio de Dermatología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

^c Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España

^d Distrito Granada Nordeste. C. S. Purullena, Granada, España

Recibido el 26 de septiembre de 2018; aceptado el 13 de mayo de 2019

PALABRAS CLAVE

Infecciones de transmisión sexual;
Diagnóstico;
Prueba de amplificación de ácidos nucleicos;
Cultivo;
Pruebas de diagnóstico en el punto de atención

KEYWORDS

Sexually transmitted infections;
Diagnosis;
Nucleic Acid Amplification Test;

Resumen Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son uno de los problemas de salud pública más frecuentes y universales. Debido a que las ITS son responsables de una alta morbilidad, así como de secuelas graves, es muy importante que todos los profesionales de la salud las tengan en cuenta en el momento de valorar al paciente. La dificultad en el control de las ITS se debe principalmente al retraso diagnóstico. Las pruebas diagnósticas permiten realizar un manejo etiológico, así como facilitar un tratamiento más efectivo tanto de los pacientes sintomáticos como de los asintomáticos, y finalmente permitirán interrumpir de una forma más precoz la cadena epidemiológica de transmisión. En la presente revisión se ha llevado a cabo una actualización acerca de los principales métodos diagnósticos existentes en las ITS más relevantes.

© 2020 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de AEDV. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Update on the Diagnosis of Sexually Transmitted Infections

Abstract Sexually transmitted infections (STIs) are one of the most frequent and universal Public Health problems. Health professionals should be aware of the possibility of STIs due to their high morbidity and the presence of sequelae. The delay in the diagnosis is one of the factors that justifies the difficulty to infections control. Diagnostic tests allow the introduction

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: javierm.rodriguez.sspa@juntadeandalucia.es (J. Rodríguez-Granger).

<https://doi.org/10.1016/j.ad.2019.05.008>

0001-7310/© 2020 Publicado por Elsevier España, S.L.U. en nombre de AEDV. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Culture;
Point of care test

of aetiological treatment and also lead to treating symptomatic and asymptomatic patients more effectively, as well as to interrupt the epidemiological transmission chain without delay. In this review we have made an update of the main existing diagnostic methods for the more important STIs.

© 2020 Published by Elsevier España, S.L.U. on behalf of AEDV. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Introducción

Q3 Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son un problema de salud pública que va en aumento a nivel mundial, presentando una estimación de un millón de nuevas infecciones cada día. Aunque en gran parte son infecciones que se pueden prevenir, tienen un amplio abanico de consecuencias negativas en la salud individual. Estas oscilarán desde aquellas patologías agudas hasta complicaciones graves, con secuelas a largo plazo, así como el aumento del riesgo de contagio del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Más allá de la repercusión en la morbimortalidad, las ITS representarán también una importante carga económica.

El lograr cuantificar la prevalencia e incidencia de las ITS sigue siendo un aspecto fundamental de la monitorización global, que permitirá planificar las intervenciones, recomendaciones de tratamiento y abogar por más recursos¹. La mayoría de los países realizan una comunicación de los casos universales y en algunos de ellos también se dispone de centros centinela. Sin embargo, en general, existe una escasa estandarización entre los países, teniendo muchos de ellos aún pendiente la implementación de sistemas de vigilancia de ITS.

Cada año se estiman 357 millones de nuevos casos entre personas de 15 a 49 años, sobre todo en 4 de las ITS que son curables: *Chlamydia trachomatis* se diagnostica en 131 millones de personas a nivel mundial, 78 millones se contagiarán con *Neisseria gonorrhoeae* (NG), 5,6 millones de sífilis y 143 millones de tricomoniasis. La prevalencia de algunas ITS virales es de la misma forma elevada. Más de 500 millones de personas presentarán una infección por el virus del herpes simple tipo 2 (VHS-2). Sin embargo, las características epidemiológicas del VHS están variando, observándose, en los países industrializados, un incremento de herpes genital secundario a infecciones por el VHS-1. La infección por el virus del papiloma humano (VPH) es la infección de transmisión sexual más frecuente tanto en hombres como en mujeres a nivel mundial, presentándose más de 290 millones de mujeres con infección por el VPH. La prevalencia de este variará según la región y el género². Las verrugas genitales son un importante problema de salud pública. El informe de vigilancia de los Centros Europeos para la Prevención y el Control de Enfermedades (ECDC) sobre las ITS en Europa, y la Red Nacional de Vigilancia Epidemiológica (RENAVE) en España, ha descrito las características epidemiológicas y las tendencias básicas de las 5 ITS que se encuentran bajo la vigilancia de la Unión Europea: la infección por *C. trachomatis*, la gonorrea, la sífilis, la sífilis congénita y el linfogranuloma venéreo^{3,4}.

En el 2015, *C. trachomatis* fue la ITS más frecuente en Europa con 394.163 casos reportados. En España, se notificaron 7.162 nuevas infecciones en el 2016. La tasa de incidencia se estimó en 18 por 100.000 (con valores que varían entre las diferentes regiones, siendo la más alta de 46,4 en Cataluña). Aproximadamente el 53% de los casos comunicados fueron en mujeres y la mayoría de los casos en jóvenes de entre los 15 y 24 años. Esto indica que las pruebas se deben realizar en estos grupos, ya que son los que tendrán conductas asociadas a un mayor riesgo de ITS, teniendo al mismo tiempo como objetivo reducir el riesgo de complicaciones en el tracto reproductivo^{4,5}. A pesar de que la tendencia en cuanto al número de contagios por clamidia parece haberse estabilizado en los últimos años (2011-2015, aumentado en un 4% en general), las tasas de infección por gonorrea han aumentado un 79% desde el 2008, particularmente entre los varones. Con más de 75.000 casos reportados en el 2016, la gonorrea es la segunda ITS más frecuentemente notificada en Europa, y España no es la excepción con 6.456 casos comunicados, el 83% en hombres. La relación hombre/mujer en España fue de 5:1. Este aumento parece estar relacionado con un mayor número de casos entre hombres que tienen sexo con hombres (HSH)^{4,6}. El número y la tasa de casos de sífilis notificados han seguido aumentando en el 2015 (28.701 casos de sífilis en Europa). El aumento continúa siendo influido principalmente por casos relacionados entre hombres, específicamente entre los HSH (62%). Las tendencias entre hombres y mujeres heterosexuales, por otro lado, se mantienen estables o demuestran una ligera disminución. Las tasas de sífilis se incrementaron en España hasta el 2011, pero posteriormente se han estabilizado, reportándose 3.886 casos notificados en 2015 y 3.357 en 2016^{4,7}. Siguiendo esta tendencia decreciente, la tasa de notificaciones de sífilis congénita se ha estabilizado desde el 2006. En el 2015 se notificaron 42 casos en Europa y 4 casos en España en el 2016^{4,8}.

Finalmente, el número de casos comunicados de linfogranuloma venéreo continúa incrementándose en los países de Europa occidental y central, presentando 1.787 casos en el 2015. España notificó 248 casos en el 2016. Los estudios epidemiológicos sugieren que la transmisión se da principalmente entre los HSH, VIH positivos, que tienen prácticas sexuales de alto riesgo^{4,9}. La infección por el VIH y las ITS están claramente interrelacionadas, compartiendo factores de riesgo, la misma incidencia y mecanismos de transmisión. Actualmente, la tasa global de nuevos diagnósticos de VIH en España se encuentra en niveles similares a los de otros países de la Región Europea de la OMS. Desde el 2003, se ha realizado un registro de nuevos diagnósticos de infección por

VIH en nuestro país, con un número estable en los últimos 7 años, que se ubica en un promedio de 3.293 casos/año.

Esta revisión actualiza los principales métodos diagnósticos que se utilizan en las ITS comunitarias en la actualidad, y que tienen como finalidad garantizar una disponibilidad amplia de intervenciones que sean efectivas en cuanto a la prevención, detección, diagnóstico y tratamiento de las ITS.

Infecciones por *Chlamydia trachomatis*

Varios factores pueden explicar el aumento en el diagnóstico de las infecciones por *C. trachomatis*, incluidos los cambios en el comportamiento sexual y la falta de prevención y educación, pero también la mayor realización de pruebas diagnósticas, así como el uso de mejores sistemas de detección. Las pruebas diagnósticas de clamidia se indicarán en pacientes con afectación urogenital, cervicitis, enfermedad inflamatoria pélvica (EIP) e infección extragenital secundaria a una transmisión sexual: anorrectal, faríngea y ocular¹⁰. En un inicio, todas las muestras pueden analizarse mediante técnicas de biología molecular. Se preferirá la utilización de muestras obtenidas de forma no invasiva, en particular cuando se trata del estudio de sujetos que son asintomáticos. La primera evacuación de la orina matinal y la toma mediante el uso de hisopos uretrales en los pacientes de sexo masculino se considerarán como equivalentes en pruebas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT). La recogida de las muestras de orina se tolerará mejor y, por lo tanto, es el tipo de muestra que se recomienda en los pacientes de sexo masculino^{11,12}. Para detectar infecciones de *C. trachomatis* extragenitales, la muestra se obtiene mediante un hisopo o se recogerá a partir de muestras extraídas directamente del tejido correspondiente. La infección por *C. trachomatis* en HSH estará localizada con frecuencia en el recto o en la faringe, sin causar ningún tipo de síntoma, y requerirá la toma de un hisopo oral y anal de manera apropiada para que estos puedan ser diagnosticados. En este caso, el realizar únicamente el análisis de una muestra de orina puede conllevar un infradiagnóstico de la infección^{13,14}.

Diagnóstico de las infecciones por *Chlamydia trachomatis*

Prueba de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT)

El aislamiento de *C. trachomatis* en cultivo celular o la identificación de *C. trachomatis* mediante ensayos de fluorescencia directa (DFA) se pueden utilizar para el diagnóstico de infecciones agudas solo en el caso de que los NAAT de *C. trachomatis* no estén disponibles o cuando no son accesibles. Se recomienda el uso de NAAT validados y de calidad garantizada debido a su mayor sensibilidad, especificidad y velocidad en el diagnóstico de infecciones sintomáticas y asintomáticas, en comparación con todas las demás técnicas de diagnóstico^{15,16}. Debido a la alta especificidad de los NAAT validados para la *C. trachomatis*, y al hecho de que cuando se repiten las pruebas existe un riesgo de perder algún resultado positivo débil, no se recomienda la realización de pruebas confirmatorias de las muestras que hayan resultado positivas^{17,18}. Una excepción importante a tener cuenta es cuando se realizan investigaciones judiciales en el caso de sospecha de una agresión sexual.

Los NAAT pueden usar muestras recogidas de forma poco invasiva, como son las muestras de orina en hombres, hisopos vulvovaginales en mujeres e hisopos anorrectales en ambos sexos¹⁹. Se puede incrementar la sensibilidad diagnóstica utilizando esferas de partículas magnéticas recubiertas, con lo que los ácidos nucleicos se aislarán en mayor cantidad y calidad²⁰. Estos sistemas de extracción basados en el uso de esferas se pueden automatizar y utilizar en diversos sistemas de alto rendimiento, lo que permite la realización de pruebas simultáneas de clamidia y gonococos con adecuada sensibilidad y especificidad²⁰. Para incrementar la sensibilidad de la técnica, estas pruebas se basan en la detección de genes presentes en un gran número de copias (plásmido críptico X06707 [10 copias/genoma] o 16S ADNr [2 copias/genoma])²¹.

En aquellos estudios donde se ha buscado comparar ambos métodos, los NAAT detectaron un 10-30% de resultados positivos de *C. trachomatis* que los cultivos^{22,23}. En otros estudios, los resultados obtenidos a partir de diferentes NAAT mostraron ser altamente concordantes^{24,25}. La importancia de las variaciones genéticas se hizo evidente con la aparición de la variante sueca, la cual no fue detectada por algunos NAAT comercializados debido a la delección en la región diana de estas pruebas²⁶. La implementación de una segunda región diana en los NAAT representa una mejora importante, permitiendo la detección de nuevas variantes que tengan delecciones o recombinación en una de las regiones diana²⁷. Como ejemplo de sistemas que desarrollaron una modificación de la técnica tenemos al Cobas Taqman CT/NG v 2.0 (Roche) y al Artus *C. trachomatis* plus RG Kit PCR (Qiagen). Una limitación de todas estas técnicas de diagnóstico es la falta de discriminación entre los diferentes biovars de *C. trachomatis* relacionados con diferentes procesos patológicos que pueden detectarse en muestras uretrales o cervicales. Ninguna de las técnicas anteriores puede discriminar entre los serotipos D-K y los serotipos L1-L3 relacionados con el linfogranuloma venéreo²¹.

Pruebas a la cabecera del paciente (POCT)

Las pruebas rápidas en el punto de atención proporcionan un resultado rápido y fácil, y permitirán que el diagnóstico y el tratamiento posterior se puedan realizar en la misma visita en la clínica o incluso en modo remoto. La mayoría de las POCT son pruebas cromatográficas inmunes basadas en una tecnología de flujo lateral y que detectan el antígeno lipopolisacárido de la clamidia (LPS), tanto en hisopos genitales como en orina. En comparación con el cultivo y los NAAT, estas POCT basadas en antígenos son significativamente menos sensibles y específicas. Las POCT basadas en antígenos no se han recomendado para la prueba de *C. trachomatis*, tanto en la detección precoz de pacientes asintomáticos como en la de los pacientes sintomáticos²⁸. Se han desarrollado POCT con mayor sensibilidad y nuevos NAAT de POCT (p. ej., el ensayo Xpert de Cepheid CT/NG). Este estudio se basa en el uso de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real realizada en un sistema cerrado. Después de haber colocado la muestra clínica en un cartucho, los pasos subsiguientes de aislamiento de ácido nucleico, amplificación y detección de productos de PCR continúan un proceso completamente automatizado. Otras POCT de NAAT comercializadas utilizan tecnología de

249 amplificación isotérmica, como la amplificación isotérmica
250 mediada por bucle (LAMP) o por la amplificación mediante
251 recombinasa polimerasa (RPA)²⁹.

252 Serología

253 La prueba de anticuerpos contra *C. trachomatis* no es útil
254 para diagnosticar la infección local del epitelio del tracto
255 genital inferior, ya que los anticuerpos solo se detectarán
256 tras varias semanas, los títulos de anticuerpos pueden ser
257 bajos y muchas pruebas serológicas no podrán diferenciar
258 los anticuerpos de diferentes especies de clamidias.

259 La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) se con-
260 sideraba el método de referencia para el estudio de los
261 anticuerpos contra clamidia durante mucho tiempo, pero
262 los inmunoensayos enzimáticos (EIA) y los inmunoblots o
263 inmunoensayos en línea se usan actualmente con mayor fre-
264 cuencia en la detección de infecciones por clamidia^{30,31}.
265 La tecnología de los EIA se basa en la detección del anti-
266 geno mediante la medición de una señal coloreada generada
267 por los lipopolisacáridos de reacción antigénica (LPS) con el
268 anticuerpo. Tradicionalmente han gozado de gran populari-
269 dad por ser técnicas simples, objetivas y automatizadas. La
270 especificidad del EIA es baja, pudiendo dar falsos positivos
271 debido a la presencia de lipopolisacáridos bacterianos (LPS).
272 Otras técnicas se basarán en la tinción directa de muestras
273 con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína
274 (DFA). Esta última técnica utiliza anticuerpos específicos de
275 la especie dirigidos principalmente contra la proteína prin-
276 cipal de la membrana externa (MOMP) del antígeno y, en
277 menor medida, contra el LPS. Las principales ventajas de las
278 técnicas de DFA son su velocidad (30 min) y su especificidad
279 cercana al 100%, la sensibilidad es del 85-90%, y en com-
280 paración con el cultivo no requieren medios de transporte
281 específicos. Entre sus inconvenientes están la interpretación
282 subjetiva, el requerir personal experimentado, el presen-
283 tar una baja reproducibilidad y, por último, el volumen de
284 muestras no debe ser elevado.

285 Cultivo celular

286 Hasta finales del siglo XX, el cultivo celular fue el estándar
287 de referencia con el que se han comparado todas las demás
288 pruebas diagnósticas. Sin embargo, principalmente debido
289 a la aparición de nuevos métodos de diagnóstico, que son
290 más fáciles de implementar, así como rápidos y sensibles, el
291 cultivo celular ha sido relegado sobre todo a los laboratorios
292 de referencia. Las líneas celulares establecidas para el ais-
293 lamiento de *C. trachomatis* incluyen la McCoy, Hela 29²¹. Las
294 muestras para el cultivo deben recogerse utilizando dispositi-
295 vos y medios de transporte especiales. La sensibilidad del
296 cultivo puede verse afectada por la recolección, el almace-
297 namiento y el transporte inadecuados de las muestras, las
298 sustancias tóxicas en las muestras clínicas y el crecimiento
299 excesivo de cultivos celulares por bacterias y hongos comen-
300 sales. El cultivo celular es una técnica muy específica, sin
301 embargo, la sensibilidad no es muy buena (75-80%)^{21,32}.

302 Infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* (NG)

303 La gonorrea es la segunda ITS bacteriana más frecuente en
304 todo el mundo³³, a pesar de que su prevalencia variará entre
305 las distintas poblaciones³⁴. A partir de una lesión localizada,

el microorganismo puede ascender al tracto genital superior
y causar enfermedad inflamatoria pélvica, epididimoorqui-
tis o incluso diseminarse en forma de bacteriemia. Debido
a este hecho, un diagnóstico apropiado y un tratamiento
efectivo de esta infección son factores importantes que
contribuirán a medidas de control de la salud pública y a
prevenir complicaciones graves. Sin embargo, el incremento
de la resistencia a los tratamientos indicados ha demostrado
afectar de manera importante el control de esta infección³⁵.

315 Diagnóstico de infecciones por NG

316 Microscopia

317 La NG se puede visualizar microscópicamente mediante
318 la tinción de un frotis obtenido del tracto genital de los
319 pacientes sintomáticos. En hombres con secreción uretral,
320 se puede usar la microscopia ($\times 1.000$) de la tinción de
321 Gram para identificar diplococos dentro de los leucocitos
322 polimorfonucleares, con una buena sensibilidad ($\geq 95\%$) y
323 especificidad ($\geq 99\%$), como prueba diagnóstica rápida³⁶.
324 Sin embargo, en hombres asintomáticos esta técnica tiene
325 poca sensibilidad ($\leq 55\%$), así como en la identificación de
326 la infección endocervical o rectal ($\leq 55\%$ y $\leq 40\%$, respecti-
327 vamente), por lo que, en estas circunstancias, no se puede
328 recomendar el uso de la microscopia como prueba para des-
329 cartar una infección. Además, las tinciones de Gram de
330 muestras endocervicales, rectales o faringéas no se reco-
331 miendan para la detección de infecciones debido a la poca
332 especificidad y a la baja sensibilidad.

333 Cultivo

334 El cultivo es el único método diagnóstico que permite rea-
335 lizar pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, por
336 lo que sigue siendo importante para detectar y controlar la
337 resistencia a estos. Las muestras deben obtenerse utili-
338 zando hisopos que no contengan compuestos como la madera
339 y el algodón, ya que estos pueden ser inhibidores o tóxicos
340 para la NG. Algunos sistemas de transporte pueden man-
341 tener la viabilidad del gonococo hasta 48 h a temperatura
342 ambiente³⁷. Los hisopos se deben insertar 2-3 cm en la ure-
343 tra masculina o 1-2 cm en el canal endocervical, y luego se
344 realizarán 2-3 rotaciones.

345 Las muestras obtenidas de localizaciones estériles se
346 pueden cultivar en un medio no selectivo (p. ej., Agar cho-
347 colate), mientras que las de localizaciones no estériles
348 se cultivarán en un medio selectivo (p. ej., Martin-Lewis,
349 Thayer-Martin)³⁸, el cual contiene agentes antimicrobianos
350 que inhibirán el crecimiento de otras bacterias y hongos.
351 Estos medios se incuban a 35 °C en un ambiente suplemen-
352 tado con el 5% de CO₂ y se valorarán al menos durante
353 48-72 h. Los diplococos gramnegativos y las colonias oxidasa
354 positivas presumiblemente se pueden identificar como NG.
355 Sin embargo, se necesitarán pruebas bioquímicas adiona-
356 les para poder confirmar el diagnóstico.

357 Se deberá realizar un cultivo para el estudio de la
358 sensibilidad antimicrobiana en aquellos pacientes con una
359 infección persistente o si se sospecha un fracaso del trata-
360 miento. Además, la caracterización de estos mediante una
361 tipificación molecular puede ser una herramienta útil para
362 predecir la resistencia a los antimicrobianos, ya que algu-
363 nos tipos estarán asociados a una menor susceptibilidad a

diversos antibióticos³⁹. La sensibilidad del cultivo es elevada en las muestras genitales, pero dependerá en gran medida de la forma de recolección de las muestras, del transporte, del almacenamiento y de los procedimientos de aislamiento.

Pruebas de amplificación de los ácidos nucleídos (NAAT)

Las técnicas de NAAT se recomiendan para la detección de infecciones causadas por la NG con y sin síntomas. Los NAAT son más sensibles que el cultivo, se pueden usar en una gama más amplia de tipos de muestras, y la calidad, el transporte y el almacenamiento de las muestras son menos estrictos⁴⁰⁻⁴³. Los NAAT son la prueba de elección para valorar pacientes que estén asintomáticos⁴⁰. Estas técnicas tendrán una sensibilidad similar en las muestras de orina y en las de la uretra de los hombres⁴³, así como una sensibilidad similar en las muestras endocervicales tomadas por médicos y en aquellas tomadas por los mismos pacientes⁴⁴. Sin embargo, en las mujeres, las muestras de orina tendrán una menor sensibilidad que las muestras obtenidas con hisopos genitales⁴⁵. Además, los NAAT serán significativamente más sensibles que el cultivo para la detección de la NG en las muestras faríngeas y rectales^{46,47}, por lo que son las pruebas de elección para el cribado de este tipo de infecciones. Sin embargo, estas técnicas no se han aprobado para el estudio de las muestras de estas localizaciones. En la guía actualizada norteamericana para el diagnóstico de estas infecciones se puede encontrar un resumen de las plataformas de análisis NAAT disponibles en el mercado y que han sido aprobadas por la *Food and Drug Administration* (FDA) para la detección de NG en los Estados Unidos⁴⁸.

Infecciones por *Treponema pallidum* (sífilis)

La sífilis se desarrolla en varias fases, y los síntomas varían con cada etapa (sífilis primaria, secundaria, latente y tardía o terciaria, donde están incluidas la neurosífilis y la sífilis cardiovascular). Las fases pueden superponerse, y los síntomas no siempre ocurrirán en el mismo orden. Por otro lado, los pacientes pueden estar completamente asintomáticos e identificarse directamente en una revisión de rutina. La elección del método para poder diagnosticar la sífilis depende del momento de la enfermedad y de la presentación clínica.

Métodos de detección directa

La microscopía de campo oscuro (DFM) y la tinción directa de anticuerpos fluorescentes para *T. pallidum* (DFA-TP) se han utilizado en laboratorios clínicos durante décadas para visualizar la espiroqueta en el exudado de la lesión de pacientes con sífilis primaria y secundaria. Sin embargo, estos métodos no están disponibles en todos los laboratorios, además de necesitar personal experimentado para su realización.

Las pruebas NAAT, como es la PCR, no se han utilizado de forma rutinaria para el diagnóstico de sífilis, ya que en el mercado no se dispone de ninguna prueba comercial y tampoco ninguna ha sido aprobada internacionalmente⁴⁹. Sin embargo, las pruebas de PCR se pueden realizar para el diagnóstico de neurosífilis, particularmente entre las personas infectadas con VIH^{50,51}. Se considera que la PCR del líquido

cefalorraquídeo (LCR) tiene poco valor para el diagnóstico de neurosífilis debido a su baja sensibilidad y especificidad. Su realización en sangre no se recomienda, dada la existencia de sustancias inhibitorias. Para hacer esta prueba se pueden utilizar muestras en fresco o congeladas. Existen formatos comerciales, validados para todo tipo de muestras, por lo que es esencial utilizar los controles de validación correspondientes.

Estudios serológicos

Las pruebas serológicas son el método más comúnmente usado en la detección de la sífilis, el diagnóstico y el seguimiento del tratamiento⁵². Las pruebas serológicas para sífilis se pueden dividir en dos tipos: prueba no treponémica (NTT) y prueba treponémica (TT). Ambas pruebas se utilizan para confirmar la infección y determinar si la enfermedad está activa.

Los NTT detectan anticuerpos IgM e IgG contra los antígenos lipídicos liberados de las células dañadas del huésped^{49,53}. Los NTT incluyen las pruebas de laboratorio de investigación de enfermedades venéreas (VDRL), la reagin plasmática rápida (RPR) y las pruebas séricas en frío con rojo de toluidina (TRUST). Los anticuerpos no treponémicos se vuelven positivos 10-15 días después de la aparición de la lesión primaria. Los NTT carecen de sensibilidad en la sífilis primaria y terciaria y su uso como prueba de detección presenta dificultades. Sin tratamiento, los títulos seguirán aumentando hasta 1-2 años después de la infección y posteriormente disminuirán gradualmente de forma espontánea e incluso en algunos pacientes dejarán de ser reactivos. Después del tratamiento, los títulos generalmente disminuyen y en la mayoría de los individuos inmunocompetentes se hacen no reactivos a los 6 meses. Sin embargo, hasta el 20% de las personas infectadas y tratadas correctamente muestran resultados de títulos bajos de NTT persistentemente reactivos^{54,55}. Los resultados falsos positivos con esta prueba pueden ocurrir durante el embarazo, en pacientes con enfermedades reumatológicas, infecciones crónicas (VIH, enfermedades micobacterianas) y en los usuarios de drogas parenterales.

Los TT usan antígenos nativos o recombinantes del *T. pallidum* para detectar anticuerpos específicos contra componentes treponémicos. Estas pruebas incluyen el ensayo de absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS), el ensayo de aglutinación de partículas de *T. pallidum* (TPPA), inmunoensayos ligados a enzimas (EIA), inmunoensayos de quimioluminiscencia (CIA) y ensayos de inmunocromatografía (IC). Los anticuerpos específicos son los primeros en aparecer (6-14 días después de la aparición del chancro primario) y persisten durante toda la vida. Los TT no pueden usarse para distinguir una infección activa de una pasada o tratada previamente y, por lo tanto, no son útiles para evaluar la efectividad del tratamiento antibacteriano.

El FTA-ABS se considera la prueba estándar en muchos países con bajos ingresos, pero tiene algunos inconvenientes como son el tiempo, el coste y la dificultad en la lectura. Este estudio se puede usar en el LCR. La sensibilidad de los TT varía del 82 al 100% según el estadio de la enfermedad, mientras que la especificidad es del 99%.

En los últimos años, para la sífilis se han desarrollado pruebas serológicas rápidas y económicas. Las pruebas rápidas de sífilis son estudios de IC que utilizan una muestra de sangre entera, no requieren un equipo y solo necesitan un entrenamiento mínimo, dando un resultado en pocos minutos con una sensibilidad del 86%⁵⁶. La mayoría de las pruebas usan antígenos treponémicos, pero se ha desarrollado una prueba de IC que permite la detección simultánea de anticuerpos no treponémicos y treponémicos en el análisis con un único dispositivo⁵⁷⁻⁵⁹, lo que permite distinguir las infecciones nuevas de aquellas tratadas previamente. El rendimiento general para el diagnóstico de una infección activa es del 88,3% (rango 87,1-89,4%)⁵⁷⁻⁵⁹.

Interpretación de las pruebas reactivas

Muchos laboratorios, especialmente aquellos con un elevado volumen de muestras, realizan una detección mediante una prueba treponémica automática inicial (EIA o CLIA). Una prueba treponémica negativa probablemente indica la ausencia de sífilis y, en general, no se requieren más pruebas. Sin embargo, no se puede descartar una infección reciente y se debe considerar repetir la prueba en pacientes que han tenido una exposición de riesgo reciente.

Las muestras reactivas se deben realizar mediante una prueba no treponémica para determinar si la enfermedad aún está activa. Un título positivo con un VDRL o RPR indica una sífilis activa, por lo que se realizarán pruebas serológicas de seguimiento para controlar la respuesta al tratamiento. Cuando el NTT no es reactivo en pacientes que no refieren ningún antecedente de haber recibido algún tratamiento para la sífilis, podría tratarse de una sífilis muy temprana, de una sífilis latente de larga data o de un resultado biológico falso positivo. Se deberán realizar segundos TT distintos. Los pacientes con segundos TT positivos serán candidatos para recibir el tratamiento si es que no lo han recibido previamente.

Situaciones especiales

Neurosífilis

El examen de LCR en un paciente con signos y síntomas neurológicos debe incluir proteínas totales, el número de células mononucleares y una prueba serológica. Las alteraciones del LCR (pleocitosis y una mayor concentración de proteínas) son comunes en personas con neurosífilis. CSF-VDRL es altamente específico pero insensible (se observa una prueba positiva de CSF-VDRL en solo alrededor de 1:3 casos de neurosífilis). No se recomienda la prueba rápida de reagina plasmática en el LCR⁴⁹.

En una persona con signos o síntomas neurológicos, un CSF-VDRL reactivo (en ausencia de contaminación sanguínea) se considera diagnóstico de neurosífilis. Cuando el CSF-VDRL es negativo, pero existen signos clínicos de neurosífilis y un recuento anormal de células y/o proteínas del CSF, se debe considerar el diagnóstico de una neurosífilis.

La prueba CSF FTA-ABS es menos específica para la neurosífilis que la CSF-VDRL, pero es muy sensible. En pacientes con sospecha de neurosífilis pero con un VDRL de LCR negativo, se puede usar una prueba de FTA-ABS de LCR para descartar una neurosífilis⁴⁹.

Sífilis congénita

Debido a que los anticuerpos maternos no treponémicos y treponémicos IgG pueden transferirse de madre a hijo, no se recomiendan las pruebas treponémicas séricas del neonato. Un aumento de 4 veces o más del título de un NTT en el suero del niño en comparación con el suero de la madre (ambos obtenidos simultáneamente al nacer) es altamente sugestivo de sífilis congénita, pero su ausencia no excluye el diagnóstico⁵³. En niños en quienes la madre presenta una prueba treponémica positiva y cualquier evidencia de sífilis congénita en el examen físico, o con una radiografía de huesos largos sugestiva, o que presentan un análisis de CSD VDRL reactivo, o una elevación del recuento celular o de proteínas a nivel del LCR (sin otra causa aparente), se puede sugerir el diagnóstico de sífilis congénita⁵³.

Infecciones causadas por *Trichomonas vaginalis* (TV)

Trichomonas vaginalis (TV) es la ITS no viral más frecuente en todo el mundo. Estas infecciones representan la ITS curable más común en hombres y mujeres jóvenes sexualmente activos. En las mujeres, la tricomoniasis se ha asociado con malos resultados de salud reproductiva, como bajo peso al nacer y parto prematuro⁶⁰. Por lo tanto, la detección temprana y el tratamiento de las infecciones de TV son recomendables tanto en mujeres como en hombres sintomáticos. En pacientes asintomáticos, los estudios de cribado solo se recomiendan en mujeres VIH positivas⁶¹.

Diagnóstico de infecciones por *Trichomonas vaginalis* (TV)

Métodos convencionales: microscopía y cultivo

El diagnóstico de tricomoniasis se basa comúnmente en el examen microscópico de preparaciones en fresco de descargas vaginales y uretrales, secreciones prostáticas y sedimento de orina. Las muestras deben mezclarse con una gota de solución salina fisiológica (pero nunca refrigerarse) y examinarse microscópicamente dentro de 1 h a baja potencia (aumento $\times 100$), con iluminación reducida. La presencia de tricomonas activamente móviles es diagnóstica de la infección⁶². Las células polimorfonucleares a menudo están presentes en estas preparaciones. Sin embargo, aunque esta técnica es rápida y económica, la sensibilidad es del 50-70% y puede ser menor en mujeres asintomáticas. El factor más importante que afecta la sensibilidad de las pruebas de «montaje húmedo» es el tiempo entre la recolección y el examen de la muestra.

El cultivo de fluidos genitales se ha considerado la prueba estándar en el diagnóstico, aunque requiere una incubación de 18-24 h. La sensibilidad del cultivo es superior al 80% en comparación con el del frotis vaginal. El medio de transporte Amies Agar Gel podría mantener la viabilidad del cultivo de TV en torundas mantenidas a temperatura ambiente durante 24 ± 6 h antes de la inoculación de la muestra en una bolsa de cultivo. Sin embargo, la mejor práctica es que las muestras se recojan adecuadamente y se inoculen inmediatamente en el medio apropiado, como el medio modificado de Diamond, Trichosel o Holander. Los sistemas de cultivo o

los sistemas que permiten la inoculación directa, el transporte, el cultivo y el examen microscópico están disponibles comercialmente⁶³.

Pruebas de detección rápida: pruebas diagnósticas en la cabecera del enfermo

Se han desarrollado diversos métodos de detección de antígenos, siendo la principal ventaja que son rápidos y fáciles de realizar. La prueba de aglutinación de látex ha demostrado una excelente sensibilidad⁶⁴. Comercialmente está disponible una prueba de flujo capilar inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de TV en hisopos vaginales^{65,66}. El kit de prueba rápida OSOM Trichomonas es un estudio con tiras reactivas que proporcionan resultados en 10 min. Esta prueba ha demostrado una buena sensibilidad y especificidad en comparación con otros métodos de diagnóstico⁶⁷. Se ha desarrollado una prueba rápida para la detección de la TV. Esta prueba usa una novedosa detección electroquímica utilizando una región de múltiples copias del genoma de la TV como diana del análisis. La sensibilidad y la especificidad logradas al usar este método son comparables con las obtenidas con la prueba NAAT⁶⁸.

Affirm VPIII es una prueba de hibridación de ácidos nucleicos que utiliza sondas sintéticas de captura de los ácidos nucleicos y sondas de detección de desarrollo de color⁶⁹.

El ensayo AmpliVue utiliza la amplificación isotérmica dependiente de la helicasa (HDA) y tiene como diana una secuencia repetida de ADN conservada de la TV⁷⁰. Esta técnica ha sido aprobada recientemente por la FDA para su uso en hisopos vaginales. Por otro lado, la prueba Solana para Trichomonas es un NAAT cualitativo in vitro para la detección de TV que también utiliza la tecnología HDA y la herramienta Solana⁷¹. Recientemente fue aprobado por la FDA. En comparación con un ensayo NAAT, la sensibilidad/especificidad fue del 89,7/99,0% para muestras tomadas con hisopos y del 100/98,9% en muestras de orina.

Finalmente, el ensayo GeneXpert TV ha sido aprobado por la FDA para su uso en muestras de orina de pacientes varones.

Técnicas de amplificación de ácidos nucleicos (NAAT)

Estas técnicas están ahora disponibles comercialmente para el diagnóstico de TV en mujeres y han reemplazado al cultivo como la prueba estándar debido a su excelente sensibilidad y especificidad. Las tomas genitales y de orina son muestras aceptables⁷². A pesar de que la FDA no ha aprobado los NAAT en pacientes de sexo masculino, estas técnicas han demostrado una alta sensibilidad y especificidad en esta población. Entre las mujeres, los NAAT pueden detectar una prevalencia de 3 a 5 veces mayor que la microscopia de muestras en fresco⁷³.

Actualmente, existen dos plataformas NAAT robóticas aprobadas por la FDA para la detección de TV en mujeres: estas incluyen el método Aptima TV (Hologic Gen-Probe)⁷² y el estudio ProbeTec Qx en el sistema BD Viper (Becton Dickinson)⁷⁴.

Los estudios que utilizan el Trichomonas Aptima Combo 2 han demostrado un rendimiento superior en comparación con otros métodos. Esta prueba está aprobada para la detección de infecciones por TV de una amplia variedad de tipos

de muestras, como muestras vaginales o endocervicales, muestras de citología de base líquida ThinPrep y muestras de orina.

Por otro lado, el BD TV Qx utiliza hisopos vaginales o endocervicales femeninos, así como una citología de orina y citologías de base líquida. Esta técnica ha demostrado una excelente sensibilidad y especificidad, y el tiempo de detección es inferior a 5 h.

Otro método disponible fuera de los EE. UU. es el sistema de detección ACE Seeplex STD 6 (Seegene)⁷⁵. Esta prueba es una PCR multiplex dirigida a genes únicos del patógeno específico.

Finalmente, el sistema BD MAXTM proporciona un estudio adecuado para ser utilizado con muestras de orina femenina y muestras de torunda vaginal o endocervical. Su uso en el estudio de muestras de orina masculina aún ha sido estudiado para la TV. Este método tiene una sensibilidad $\geq 91,5\%$ y una especificidad $\geq 98,6\%$ ⁷⁷.

Infecciones por virus del papiloma humano (VPH)

El VPH es la causa más frecuente de ITS en todo el mundo. En España, la prevalencia de infección por VPH en mujeres sexualmente activas es de aproximadamente el 14%, aunque esta prevalencia puede variar según el grupo de edad y los factores de riesgo asociados⁷⁷. Se han identificado más de 100 genotipos de VPH y se estima que 40 de ellos se encuentran en la región anal y genital. Los genotipos no oncogénicos (genotipos de bajo riesgo), principalmente el 6 y el 11, pueden causar manifestaciones benignas como condilomas o verrugas genitales. Por otro lado, los genotipos oncogénicos (genotipos de alto riesgo y genotipos de alto riesgo probable/posible) se han asociado con la etiopatogenia del cáncer cervical invasivo^{78,79}. Este tipo de cáncer afecta a casi 500.000 mujeres en todo el mundo cada año, con una mortalidad de más de 270.000 personas⁸⁰.

El principal enfoque de cribado han sido los programas basados en la realización de citologías, sin embargo, estas a menudo no están disponibles en la mayoría de los países con escasos recursos⁸¹. Las guías de la OMS del 2014 acerca del cribado del cáncer de cuello uterino recomiendan que este se realice al menos una vez entre los 39 y 49 años, y que este examen se debería ampliar a las mujeres con menos de 30 años si existe una evidencia de riesgo elevado de neoplasia cervical intraepitelial de alto grado. Las pruebas de los genotipos de alto riesgo de VPH se han incorporado a los algoritmos de detección y gestión elaborados por distintos grupos científicos, así como por la FDA. La determinación del VPH se recomienda en aquellas pacientes con más de 30 años que presenten un resultado inicial positivo para VPH de alto riesgo, asociado a un resultado negativo de citología cervical, y como cribado en pacientes con resultados de citología cervical indeterminada (ASCUS, célula escamosa atípica de importancia indeterminada). Los principales métodos de diagnóstico del VPH son la citología y la histología. Sin embargo, la detección del VPH se ha visto facilitada gracias a los recientes avances en biología molecular para la detección de secuencias del ADN del VPH en muestras clínicas usando la captura híbrida y la PCR.

Diagnóstico de las infecciones por VPH

Las muestras más adecuadas para la detección del VPH son las provenientes de cepillados endocervicales (células exfoliadas cervicales) o biopsias endocervicales recogidas en medio líquido⁸². El cepillo endocervical debe introducirse en los 2/3 del canal endocervical seguido de 4-5 rotaciones y las biopsias cervicales deben congelarse lo antes posible. El material residual de los bloques embebidos en parafina para diagnóstico, fijados con formalina, también puede ser usados para estudios de VPH. Por otro lado, las muestras de orina han demostrado tener una menor sensibilidad, por lo que no se ha recomendado su uso para la detección del VPH. Además, se deben tomar muestras de genitales externos, perineo, ano y/o sitios orofaríngeos, tanto en mujeres como en hombres, si es que existe la afectación de una de estas localizaciones.

Citología convencional y monocapa

El principal método de detección del VPH sigue siendo la tinción del frotis con Papanicolaou. La prueba de detección de Papanicolaou para el cáncer de cuello uterino fue introducida por George Papanicolaou en 1941⁸³ y se ha asociado a una disminución mantenida de la incidencia del cáncer de cuello uterino y de las tasas de mortalidad⁸⁴. Sin embargo, la efectividad de este método nunca se ha demostrado en un ensayo clínico de tipo aleatorizado. La prueba de Papanicolaou tiene como objetivo identificar células anormales obtenidas de la zona de transformación, la unión del ecto y el endocervix, donde aparecerá la displasia, así como la neoplasia de cuello uterino. Sin embargo, el procedimiento por el cual se realiza el Papanicolaou tiene algunas limitaciones, como por ejemplo que en el 8% las muestras serán inadecuadas, además de haberse informado tasas cercanas al 30% de falsos negativos.

La citología de capa fina o de base líquida ha sido ampliamente implementada en todo el mundo y tiene algunas ventajas teóricas sobre la citología convencional, principalmente en relación con la reducción del número de resultados falsos negativos. Sin embargo, en las revisiones sistemáticas donde se han comparado la citología convencional y la citología líquida, no se ha demostrado de manera consistente que la citología líquida detecte lesiones preneoplásicas significativas de manera más efectiva que la citología convencional^{85,86}.

Histopatología

Los pacientes con alteraciones en las pruebas de Papanicolaou, pero en las que no existe evidencia de lesiones cervicales, se pueden valorar mediante una colposcopia y una biopsia adicional. La colposcopia puede detectar displasia de bajo y alto grado, pero no detecta lesiones microinvasivas. Las tinciones obtenidas a partir de las biopsias se pueden usar para la detección de antígenos o de ADN del VPH.

Detección de ácidos nucleicos del VPH

Técnicas comerciales para la detección molecular de VPH
Actualmente en el mercado existen más de 125 técnicas para la detección del VPH. Estas técnicas se pueden diferenciar en 4 tipos:

- Técnicas de detección de ADN: el ADN del VPH se detecta tanto en la región de la cápside como en el oncogén E6.
- Técnicas de detección de ARN: el ARNm se detecta a partir de los oncogenes VPH E6/7.
- Técnicas de hibridación in situ: tienen baja sensibilidad y especificidad.
- Técnicas serológicas: solo se utilizan con fines epidemiológicos y de eficacia vacunal.

Según la tecnología utilizada, los principales sistemas disponibles comercialmente se pueden clasificar de la siguiente manera:

1. Métodos de amplificación de señal: captura de híbridos de ARN-ADN e invasor químico.
2. Métodos de amplificación de ADN: PCR, PCR en tiempo real, PCR multiplex, amplificación mediada por transcripción (TMA), oligonucleótido de cebado doble (DPO) y la espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización asistida por matriz (MALDI-TOF MS).

Validación y aprobación de la FDA

En el 2009 un comité internacional de expertos propuso que, para que una prueba sea utilizada en la detección primaria del cáncer de cuello uterino en mujeres, esa tecnología debía ser tan precisa como las técnicas utilizadas como prueba estándar de elección hasta ese momento (GP5 + /GP6 + PCR y captura híbrida)⁸⁷. Este comité introdujo algunos criterios basados tanto en la sensibilidad clínica como en la especificidad de más de 0,90 y 0,98, respectivamente.

Por otro lado, el protocolo VALGENT es una red internacional para la validación de los ensayos de genotipado de VPH. Además, la aprobación de la FDA se logra cuando un método establece su sensibilidad y especificidad mediante estudios prospectivos realizados en 3 o más sitios.

Comparación de técnicas de detección de VPH

Abbott Real Time HR-HPV y BD Onclarity HPV son dos técnicas de amplificación de ADN por RT-PCR totalmente automatizadas. La tecnología Abbott permite el procesamiento de los tubos primarios e informa los genotipos 16/18 y otros no 16/18 de manera diferente. Este método está indicado principalmente para laboratorios con alta carga de trabajo. BD Onclarity utiliza la tecnología SDA (*strand displacement amplification*) y amplifica la región E6/7.

Anyplex II HPV HR (Seegene) se basa en RT-PCR multiplex con tecnología DPO y TOCE. Este método permite el genotipado de 14 genotipos en la misma reacción y su cuantificación relativa.

El sistema de genotipo Xpert HPV (Cepheid) es la prueba más rápida (1 h). Con este método, podemos obtener el

814 genotipado de VPH-16 y otros 5 grupos de genotipos de alto
815 riesgo. Debido a su baja tasa de contaminación, se reco-
816 menda a laboratorios con baja carga de trabajo.

817 Otras técnicas clínicamente validadas son la detección de
818 virus por MALDI-TOF MS y la hibridación inversa con matrices
819 en microesferas (Luminex).

820 Linear Array HPV Genotyping Kit (Roche Diagnostics)
821 detecta 37 genotipos, muy útiles para estudios de impacto
822 de vacunas o con fines epidemiológicos.

823 Cuatro técnicas están aprobadas por la FDA para la detec-
824 ción citológica de ASCUS o para la detección con citología
825 y VPH al mismo tiempo: captura híbrida (Qiagen), Cervista
826 (Hologic), Cobas 4800 HPV (Roche Diagnostics) y Aptima
827 (Hologic). Solo la prueba de Cobas VPH está aprobada por la
828 FDA para la detección de la población basada en la detección
829 del VPH.

830 Hybrid Capture 2 ADN de VPH de alto riesgo (Digene)

831 Fue el primer método aprobado por la FDA (marzo de 2003)
832 para la detección de genotipos oncogénicos de VPH. Es un
833 método de amplificación de señal de fase líquida/sólida
834 basado en la hibridación en solución de sondas de ARN sin-
835 téticas largas complementarias a la secuencia genómica de
836 13 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45,
837 51, 52, 56, 58, 59 y 68) y 5 de bajo riesgo (6, 11, 42, 43 y
838 44). Los híbridos son detectados por algunas reacciones que
839 generan una señal luminiscente que puede ser detectada por
840 quimioluminiscencia. La principal limitación de este ensayo
841 es que no discrimina el genotipo y la reactividad cruzada
842 que puede conducir a resultados falsos positivos⁸⁸.

843 Cervista HPV HR (Hologic)

844 Fue aprobado por la FDA en 2009. Este ensayo se basa en la
845 tecnología *Invader* que consiste en reacciones isotérmicas
846 concurrentes en dos partes. La reacción principal detecta la
847 presencia de secuencias específicas de ADN viral, mientras
848 que la segunda genera fluorescencia. Se puede detectar la
849 presencia de cualquiera de los 14 genotipos de VPH de alto
850 riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66,
851 68), pero no se puede realizar de forma individualizada. Sin
852 embargo, Cervista HPV 16/18 identificará el VPH 16 y 18 de
853 manera individual.

854 Prueba de VPH Cobas (Roche Diagnostics)

855 El sistema Cobas 4800 es un método automatizado que uti-
856 liza la muestra primaria obtenida para la citología en base
857 líquida. Los resultados aparecen diferenciados en 4 cana-
858 les: VPH 16, VPH 18, VPH de alto riesgo no 16/18 (31, 33,
859 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) y β -globina (control
860 interno). Las principales ventajas son la alta sensibilidad, la
861 reproducibilidad y el alto grado de automatización.

862 Ensayo Aptima de VPH (Hologic)

863 Es un método que identifica la presencia de 14 genotipos de
864 alto riesgo mediante la caracterización del ARNm viral de
865 los oncogenes E6/7. La presencia de transcripciones de los
866 oncogenes del VPH es el marcador más preciso y específico
867 de infección o transformación celular por VPH de alto riesgo.
868 Este método es útil para diferenciar entre transcripciones
869 oncogénicas de VPH episomales e integradas, como en el
870 cáncer cervical. Esta técnica consta de 3 pasos: captura,

871 amplificación por sistema TMA y detección por hibridación⁸⁹.
872 Sin embargo, el principal problema con esta técnica es que el
873 ARN es mucho más lábil que el ADN y está menos disponible
874 en la mayoría de las muestras biológicas.

875 Microarrays (chips de ADN)

876 El reciente desarrollo en la combinación de sondas molecu-
877 lares con chips de silicio puede conducir a un diagnóstico
878 rápido y relativamente más económico. Esta tecnología
879 requiere el uso de chips de silicio. La superficie del chip
880 está cubierta con una fina capa de oro, y las sondas molecu-
881 lares están unidas a la superficie del chip. Cada una de las
882 sondas moleculares difiere en la diana de ADN para la que
883 están diseñadas para hibridarse. Si se detecta la unión, la
884 muestra se consideraría positiva para el VPH.

885 Estudios serológicos

886 La mayoría de los estudios emplearon EIA, pero el principal
887 problema con el uso de la serología es la estandarización y el
888 establecimiento de un estándar internacional que asigne una
889 unidad de medida o unidad internacional. Los estudios han
890 demostrado que aproximadamente la mitad de las personas
891 expuestas al VPH nunca desarrollarán títulos medibles de
892 anticuerpos⁹⁰.

893 Utilidad del P16^{INK4a}

894 La sobreexpresión de esta proteína se ha propuesto como
895 marcador tisular para la infección por VPH de alto riesgo.
896 La positividad de esta proteína aumenta con la gravedad
897 de la lesión, y un alto porcentaje de muestras de citología
898 HSIL son positivas. La sensibilidad de los ensayos de P16^{INK4a}
899 para detectar CIN3 es similar a los estudios de ADN del VPH,
900 pero la especificidad necesita ser mejorada. Su papel como
901 factor pronóstico molecular sigue siendo un tema pendiente
902 de valoración⁹¹.

903 Infección genital por virus de herpes simples

904 El herpes genital es una enfermedad de transmisión sexual
905 muy frecuente. Está causada por el virus de herpes simple
906 tipo 2 (VHS-2) o el virus del herpes simple tipo 1 (VHS-1). La
907 mayoría de las personas que tienen VHS-1 o VHS-2 no tienen
908 síntomas.

909 El diagnóstico de laboratorio del herpes genital se reco-
910 mienda para la confirmación del herpes genital clínicamente
911 sospechoso o el diagnóstico diferencial con otras ITS ulcera-
912 tivas o dermatosis con úlceras genitales, y en complicaciones
913 extragenitales del herpes genital.

914 En las lesiones activas, la recolección de líquido vesicular
915 o del exudado de las vesículas pequeñas con algodón o hisopo
916 Dacron es el método de elección para recolectar muestras.
917 Los métodos de laboratorio para el diagnóstico directo del
918 herpes incluyen el cultivo viral, la detección de antígenos
919 y la detección de ADN basada en la amplificación de ácido
920 nucleico por PCR.

921 Aislamiento viral

922 El aislamiento en un tubo de cultivo es el método estándar
923 para la detección de VHS. El VHS crece con facilidad

924 en una amplia variedad de líneas celulares, pero las líneas
925 celulares más utilizadas en el cultivo del VHS son los fibro-
926 blastos, las células MRC-5 y las células Vero. Si bien esta
927 prueba tiene una especificidad del 100% para VHS-1 o VHS-2,
928 la sensibilidad dependerá de la fase en la cual se encuentra
929 la lesión en el momento de la recolección de la muestra. La
930 sensibilidad también variará entre el 75% para los episodios
931 iniciales hasta un 50% en las recurrencias^{92,93}. El cultivo en
932 el «vial-Shell» puede disminuir los tiempos del aislamiento
933 viral de uno a 7 días hasta 16 a 48 h. Sin embargo, aunque
934 estos métodos son rápidos y específicos, son ligeramente
935 menos sensibles que los cultivos en tubos tradicionales y
936 más caros⁹⁴.

937 Detección de antígenos

938 El antígeno viral se puede detectar mediante una prueba de
939 inmunofluorescencia directa (DFA) o un EIA. La prueba de IF
940 es un método satisfactorio y rápido (< 4 h) para el diagnóstico
941 (sensibilidad del 80% y especificidad del 90%), pero requiere
942 muestras provenientes de vesículas frescas⁹⁵.

943 Detección viral mediante biología molecular

944 Los estudios de PCR u otros NAAT, actualmente, son las prue-
945 bas más sensibles disponibles para la detección de VHS en
946 muestras clínicas. La PCR en tiempo real es más rápida,
947 requiere menos mano de obra que la PCR tradicional y, en
948 presencia de lesiones activas, la PCR es la prueba ideal, con
949 una sensibilidad y especificidad superiores al 95%^{96,97}.

950 Diagnóstico serológico

951 Las pruebas serológicas pueden ser útiles en pacientes con
952 síntomas genitales recurrentes o síntomas atípicos y con una
953 PCR negativa del VHS. Además, el estudio serológico es útil
954 para conocer el estatus infeccioso en la pareja con un herpes
955 genital. Si hay lesiones genitales, la serología específica y
956 la prueba directa de virus pueden ayudar a establecer si
957 el episodio es una reactivación o una nueva infección por
958 VHS.

959 Las pruebas de IgM contra el VHS tienen una disponibili-
960 dad limitada en los entornos de diagnóstico de rutina y no
961 se pueden recomendar en la práctica clínica habitual. Los
962 anticuerpos IgG específicos para el VHS son negativos en las
963 primeras etapas de la infección por herpes, y se volverán
964 detectables entre 2 semanas y 3 meses después del inicio de
965 los síntomas y persistirán detectables de manera indefinida.
966 Se recomiendan pruebas de ELISA basadas en glucoproteína
967 G del VHS específicos para el diagnóstico serológico. Las
968 infecciones primarias por VHS pueden objetivarse por sero-
969 conversión con sueros apareados. Las sensibilidades de estas
970 pruebas de IgG para la detección del anticuerpo VHS-2 varían
971 de entre el 80 al 98%, y las especificidades de estos estudios
972 serán $\geq 96\%$ ⁹⁵. Resultados falsos negativos pueden ocurrir en
973 un período de ventana de entre 2 semanas a 3 meses después
974 de la exposición al VHS.

975 Infección por *Mycoplasma genitalium*

976 Desde que se dispone de estudios moleculares, el
977 *Mycoplasma genitalium* se ha asociado con muchas compli-
978 caciones, como son la uretritis no gonocócica en hombres y
979 muchas secuelas reproductivas adversas en mujeres, como
980 la cervicitis, la endometritis, el parto prematuro, el aborto
981 espontáneo y la enfermedad inflamatoria pélvica^{98,99}. Otros
982 estudios han reportado un ascenso en el diagnóstico y la
983 propagación del VIH entre los pacientes con antecedente
984 de infección por *M. genitalium*¹⁰⁰. Sin embargo, el *Myco-*
985 *plasma hominis*, el *Ureaplasma urealyticum* (anteriormente
986 *U. urealyticum* biovar 2) y el *U. parvum* (anteriormente el
987 *U. urealyticum* biovar 1) se encuentran con frecuencia en
988 el tracto urogenital humano tanto en individuos sanos como
989 en pacientes sintomáticos¹⁰¹.

990 Se han descrito diversas modalidades de amplificación
991 de ADN de *M. genitalium* que se producen de manera
992 comercial. Cebadores oligonucleotídicos específicos de *M*
993 *genitalium* han sido incorporados en métodos de PCR sim-
994 ple o multiplex para 6 ITS (p. ej., Seeplex STD6, Seegene)
995 en muestras urogenitales o muestras vaginales y de orina
996 mediante microarray de PCR (chip STDetect, Lab Genomics).
997 Otros intentos de detectar el ADN de *M. genitalium* vienen
998 en el contexto de pruebas diseñadas para detectar *M. geni-*
999 *tialium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* y *U. urealyticum* de la
1000 primera muestra de orina de por la mañana en pacientes
1001 varones junto con otros patógenos (p. ej., el panel FilmArray
1002 STI, Diagnóstico BioFire)¹⁰¹.

1003 Así mismo, existen otras pruebas que tienen marcado CE
1004 (Bio-rad DX CT/NG/MG, Biorad) (prueba Hyplex STD Myco-
1005 plasma, Amplex Bioystems); este último ha mostrado una
1006 sensibilidad y especificidad del 87% y 96% para la detección
1007 de *M. genitalium*¹⁰².

1008 Se han publicado varios estudios acerca de la resisten-
1009 cia a macrólidos en muestras positivas para *M. genitalium*,
1010 utilizando la detección de mutaciones en el gen de ARN
1011 23s asociado a resistencias, para lo cual se utilizó la PCR y
1012 el análisis de la curva de fusión¹⁰³. PlexZyme y PlexPrime
1013 recientemente desarrollaron un estudio con el 23S en el
1014 qPCR multiplex para la detección de *M. genitalium* y las 5
1015 mutaciones asociadas a la resistencia a macrólidos. En este
1016 estudio se evaluaron 400 muestras provenientes de 254 par-
1017 ticipantes incluidos de manera consecutiva; el 56% presentó
1018 una mutación relacionada con la resistencia a macrólidos y
1019 su sensibilidad y especificidad fueron del 99,1% y del 98,5%
1020 para la detección de *M. genitalium* y del 97,4% y del 100%
1021 para la resistencia a los macrólidos¹⁰¹.

1022 Infección por virus de la inmunodeficiencia 1023 humana (VIH)

1024 En la actualidad, en nuestro país, los datos de vigilancia
1025 sugieren una estabilización o disminución de la incidencia
1026 del VIH ante el aparente incremento del número de personas
1027 evaluadas entre los grupos de riesgo. Las razones por las que
1028 se observa esta tendencia de mejora aún no están claras,
1029 pero para que se mantengan, se debe continuar refinando
1030 los sistemas de diagnóstico del VIH, así como continuar acer-
1031 cando a la población a los métodos de atención y prevención,
1032 según corresponda¹⁰⁴.

Las pruebas de VIH a menudo se realizarán tras una clara exposición, como puede ser tras el pinchazo con una aguja, o tras la rotura o la no utilización del preservativo durante el acto sexual.

Tras una exposición que posteriormente conducirá a una infección, existe un período de tiempo variable llamado «período eclipse», en el que ninguna prueba diagnóstica existente será capaz de detectar el VIH. El ARN del VIH es el primer marcador confiable de infección. El 50% de las personas infectadas tienen ARN plasmático detectable a los 12 días y los niveles alcanzarán su punto máximo entre los 20 y 30 días. Alrededor del día 15, la proteína p24 de la cápside del VIH-1 alcanzará niveles detectables en el plasma. La antigenemia con p24 continúa aumentando durante los días 25-30, momento en el cual los anticuerpos anti-VIH tempranos pueden formar complejos con la p24 circulante; en el día 50, el antígeno a menudo se elimina del torrente sanguíneo por completo. Por lo tanto, esta detectabilidad de corta duración de la p24 es útil para determinar la situación actual de la infección, pero también hace que su utilidad en el diagnóstico sea limitada en el tiempo¹⁰⁵⁻¹⁰⁷.

Todas las pruebas de diagnóstico del VIH se guían por un principio común: realizar una prueba inicial con una prueba altamente sensible y confirmar los resultados positivos con una prueba diferente que sea sensible y altamente específica. Esto se puede lograr usando dos pruebas de POC, dos métodos de laboratorio o combinaciones de estos. Todas estas estrategias han sido ampliamente estudiadas. Desde que la FDA aprobó la primera prueba de diagnóstico del VIH en 1985, se han desarrollado 4 «generaciones» adicionales de pruebas de anticuerpos para el VIH; cada una mejora gradualmente a sus predecesoras en términos de rendimiento y acortamiento del período de ventana^{108,109}.

Las pruebas sensibles a IgM/IgG (formalmente de tercera generación) acortan el período de ventana al umbral más temprano de detección de la IgM, una mediana de 23 días tras la infección¹⁰⁵.

Las pruebas de combinación antígeno/anticuerpo (Ag/Ab) (anteriormente cuarta generación) combinan una prueba de anticuerpos sensibles a IgM/IgG con detección simultánea, separada del antígeno p24. Algunas de estas pruebas sensibles a p24/IgM/IgG informan un resultado reactivo si se detecta algún elemento, mientras que otras arrojan resultados separados para p24, anticuerpos anti-VIH-1 y anticuerpos anti-VIH-2. La detección de p24 acorta el período medio de ventana a solo 18 días después de la infección.

A diferencia de las plataformas complejas y automatizadas basadas en pruebas de laboratorio, las pruebas de POC se basan en uno de dos métodos: flujo lateral, en el cual la muestra se extrae a través de una tira impregnada de antígeno por acción capilar; o de flujo continuo, en el que la muestra y los reactivos del paciente se aplican secuencialmente a una membrana incrustada con antígenos del VIH. Los análisis de suero o plasma generalmente ofrecen sensibilidades más altas, pero requieren punción venosa, volúmenes de muestra más grandes, procesamiento y ser realizadas por técnicos calificados. Las pruebas POC son alternativas atractivas para muchas aplicaciones, pero el rendimiento difiere sustancialmente según el tipo de muestra. Las pruebas que usan trasudado oral son significativamente menos sensibles que las que usan sangre completa,

y las pruebas que usan sangre completa son menos sensibles que las que usan suero o plasma^{110,111}.

En resumen, las pruebas de laboratorio son una de las herramientas en el diagnóstico de los pacientes con ITS, por lo que los médicos siempre deben estar informados acerca de las posibles pruebas diagnósticas de las que disponen, así como tener en cuenta que los resultados de cualquier prueba deben interpretarse según el contexto clínico del paciente. Es probable que el POCT basado en la biología molecular se use con mayor frecuencia en el futuro, lo que permitirá un diagnóstico rápido, sin dejar de contar, sin embargo, con el apoyo de otras pruebas de laboratorio.

Autoría

Todos los autores de este artículo han contribuido de forma igualitaria en este trabajo.

Conflicto de intereses

Ninguno.

Referencia no citada

⁷⁶.

Bibliografía

1. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS One*. 2015;10:e0143304.
2. World Health Organization. Report on global sexually transmitted infection surveillance 2015. Geneva 2015.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Sexually transmitted infections in Europe 2013. Stockholm: ECDC; 2015.
4. Centro Nacional de Epidemiología, Instituto de Salud Carlos III. Vigilancia epidemiológica de las enfermedades de transmisión sexual en España. Informe anual. 2016 Disponible en: <http://www.isciii.es>.
5. European Centre for Disease Prevention and Control. Chlamydia. En: ECDC. Annual epidemiological report for 2015. Stockholm: ECDC; 2017.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Gonorrhoea. En: ECDC. Annual epidemiological report for 2015. Stockholm: ECDC; 2017.
7. European Centre for Disease Prevention and Control. Syphilis. En: ECDC. Annual epidemiological report for 2015. Stockholm: ECDC; 2017.
8. European Centre for Disease Prevention and Control. Congenital syphilis. En: ECDC. Annual epidemiological report for 2015. Stockholm: ECDC; 2017.
9. European Centre for Disease Prevention and Control. Lymphogranuloma venereum. En: ECDC. Annual epidemiological report for 2015. Stockholm: ECDC; 2017.
10. Althaus CL, Heijne JC, Low N. Towards more robust estimates of the transmissibility of *Chlamydia trachomatis*. *Sex Trans Dis*. 2012;402-4.
11. Nwokolo NC, Dragovic B, Patel S, Tong CY, Barker G, Radcliffe K. 2015 UK national guideline for the management of infection with *Chlamydia trachomatis*. *Int J STD AIDS*. 2016;27:251-67.

12. Cheng A, Quian Q, Kirby JE. Evaluation of the Abbot Real Time CT/NG assay in comparison to the Roche Cobas Amplicor CT/NG. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1249-300.
13. Dudareva Vizule S, Haar K, Sailer A, Flores JA, Silva-Santisteban A, Galea JT, et al. Prevalence of pharyngeal and rectal Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae infections among men who have sex with men in Germany. *Sex Transm Infect.* 2014;90:46-51.
14. Kent CK, Chaw JK, Wong W, Liska S, Gibson S, Hubbard G, et al. Prevalence of rectal, urethral, and pharyngeal chlamydia and gonorrhea detected in 2 clinical settings among men who have sex with men: San Francisco, California. *Clin Infect Dis.* 2003;41:67-74.
- Q7 15. Watson EJ, Templeton A, Russell I, et al. The accuracy and efficacy of screening tests for Chlamydia trachomatis: a systematic review. *J Med Microbiol.* 2002;51:1021-31.
16. Skidmore S, Horner P, Mallinson H. Testing specimens for Chlamydia trachomatis. *Sex Transm Infect.* 2006;82:272-5.
- Q8 17. Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep.* 2015;64(RR-03):1-137.
- Q9 18. Schachter J, Chow JM, Howard H, et al. Detection of Chlamydia trachomatis by nucleic acid amplification testing: our evaluation suggests that CDC-recommended approaches for confirmatory testing are ill-advised. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2512-7.
- Q10 19. Van der Helm JJ, Hoebe CJ, van Rooijen MS, et al. High performance and acceptability of self-collected rectal swabs for diagnosis of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in men who have sex with men and women. *Sex Transm Dis.* 2009;36:493-7.
20. Chernesky MA, Jang DA, Luinstra K, Chong S, Smieja M, Cai WJ, et al. High analytical sensitivity and low rates of inhibition may contribute to detection of Chlamydia trachomatis in significantly more women by the APTIMA Combo 2 assay. *J Clin Microbiol.* 2006;44:400-5.
21. Alonso R, Galán JC, Gutiérrez Fernández J, Rodríguez-Domínguez M, Salinas J, Sanbonmatsu Gámez S. Diagnóstico microbiológico de las infecciones por Chlamydia spp. y otras especies relacionadas. 44. Galán JC (coordinador). Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica. Cercenado Mansilla E, Cantón Moreno R (editores). Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC); 2012.
- Q11 22. Quinn TC, Gaydos C, Shepherd M, et al. Epidemiologic and microbiologic correlates of Chlamydia trachomatis infection in sexual partnerships. *JAMA.* 1996;276:1737-42.
- Q12 23. Puolakkainen M, Hiltunen-Back E, Reunala T, et al. Comparison of performances of two commercially available tests, a PCR assay and a ligase chain reaction test, in detection of urogenital Chlamydia trachomatis infection. *J Clin Microbiol.* 1998;36:1489-93.
24. Marshall R, Chernesky M, Jang D, Hook EW, Cartwright CP, Howell-Adams B, et al. Characteristics of the m2000 automated sample preparation and multiplex real-time PCR system for detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *J Clin Microbiol.* 2007;45:747-51.
25. Cheng A, Qian Q, Kirby JE. Evaluation of the Abbott Real-Time CT/NG assay in comparison to the Roche Cobas Amplicor CT/NG assay. *J Clin Microbiol.* 2011;49:1294-300.
26. Ripa T, Nilsson PA. A Chlamydia trachomatis strain with a 377-bp deletion in the cryptic plasmid causing false negative nucleic acid amplification tests. *Sex Transm Dis.* 2007;34:255-6.
27. Möller JK, Pedersen LN, Persson K. Comparison of the Abbott RealTime CT new formulation assay with two other commercial assays for detection of wild-type and new variant strains of Chlamydia trachomatis. *J Clin Microbiol.* 2010;48:440-3.
28. Hurly DS, Buhner-Skinner M, Badman SG, Bulu S, Tabrizi SN, Tarivonda L, et al. Field evaluation of the CRT and ACON chlamydia point-of-care tests in a tropical, low-resource setting. *Sex Transm Infect.* 2014;90:179-84.
29. Krölov K, Frolova J, Tudoran O, Suhorutsenko J, Lehto T, Sibul H, et al. Sensitive and rapid detection of Chlamydia trachomatis by recombinase polymerase amplification directly from urine samples. *J Mol Diagn.* 2014;16:127-35.
30. Morre SA, Munk C, Persson K, Krüger-Kjaer S, van Dijk R, Meijer CJ, et al. Comparison of three commercially available peptide-based immunoglobulin G (IgG) and IgA assays to microimmunofluorescence assay for detection of Chlamydia trachomatis antibodies. *J Clin Microbiol.* 2002;40:584-7.
31. Forsbach-Birk V, Simnacher U, Pfrepper KI, Soutschek E, Kiselev AO, Lampe MF, et al. Identification and evaluation of a combination of Chlamydial antigens to support diagnosis of severe and invasive Chlamydia trachomatis infections. *Clin Microbiol Infect.* 2009;16:1237-44.
32. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, van der Pol B. Recommendations for the laboratory-based detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae - 2014. *MMWR Recomm Rep.* 2014;63:1-19.
33. Unemo M, Bradshaw CS, Hocking JS, et al. Sexually transmitted infections: challenges ahead. *Lancet Infect Dis.* 2017;17:e235-79.
34. Hill SA, Masters TL, Wachter J. Gonorrhea - an evolving disease of the new millennium. *Microb Cell.* 2016;3:371-89.
35. Unemo M, del Rio C, Shafer WM. Antimicrobial resistance expressed by Neisseria gonorrhoeae: a major global public health problem in the 21st century. *Microbiol Spectr.* 2016;4, <http://dx.doi.org/10.1128/microbiolspec.EI10-0009-2015>.
36. Taylor SN, DiCarlo RP, Martin DH. Comparison of methylene blue/gentian violet stain to Gram's stain for the rapid diagnosis of the gonococcal urethritis in men. *Sex Transm Dis.* 2011;38:995-6.
37. Drake CJ, Barenfanger J, Lawhorn J, Verhulst S. Comparison of easy-flow Copan liquid Stuart's and Starplex swab transport systems for recovery of fastidious aerobic bacteria. *J Clin Microbiol.* 2005;43:1301-3.
38. Jephcott AE. Microbiological diagnosis of gonorrhoea. *Genitourin Med.* 1997;73:245-52.
39. Cobo F, Cabezas-Fernández MT, Cabeza-Barrera MI. Antimicrobial susceptibility and typing of Neisseria gonorrhoeae strains from Southern Spain, 2012-2014. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2016;34:3-7.
40. Whiley DM, Garland SM, Harnett G, et al. Exploring 'best practice' for nucleic acid detection of Neisseria gonorrhoeae. *Sex Health.* 2008;5:17-23, <http://dx.doi.org/10.1071/SH07050>.
41. Harryman L, Scofield S, Macleod J, et al. Comparative performance of culture using swabs transported in Amies medium and the Aptima Combo 2 nucleic acid amplification test in detection of Neisseria gonorrhoeae from genital and extra-genital sites: a retrospective study. *Sex Transm Infect.* 2012;88:27-31.
42. Moncada J, Schachter J, Hook EW III, et al. The effect of urine testing in evaluations of the sensitivity of the Gen-Probe APTIMA Combo 2 assay on endocervical swabs for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Sex Transm Dis.* 2004;31:273-7.
43. Chernesky MA, Martin DH, Hook EW, et al. Ability of new APTIMA CT and APTIMA GC assays to detect Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in male urine and urethral swabs. *J Clin Microbiol.* 2005;43:127-31.
44. Schachter J, Chernesky MA, Willis DE, et al. Vaginal swabs are the specimens of choice when screening for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae: results from a multicenter

- 1283 evaluation of the APTIMA assays for both infections. *Sex Transm*
1284 *Dis.* 2005;32:725-8.
- 1285 45. Cook RL, Hutchison SL, Ostergaard L, Braithwaite RS, Ness
1286 RB. Systematic review: non-invasive testing for Chlamydia
1287 trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Ann Intern Med.*
1288 2005;142:914-25.
- 1289 46. Schachter J, Moncada J, Liska S, Shayevich C, Klausner JD.
1290 Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial
1291 and gonococcal infections in the oropharynx and rectum in men
1292 who have sex with men. *Sex Transm Dis.* 2008;35:637-42.
- 1293 Q20 47. Ota KV, Tamari IE, Smieja M, et al. Detection of Neisseria
1294 gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis in pharyngeal and
1295 rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Gen-
1296 Probe Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect.*
1297 2009;85:182-6.
- 1298 48. Papp JR, Schachter J, Gaydos CA, van der Pol B. Recom-
1299 mendations for the laboratory-based detection of Chlamydia
1300 trachomatis and Neisseria gonorrhoeae - 2014. *MMWR Recomm*
1301 *Rep.* 2014;63:1-19.
- 1302 49. Hook EW. Syphilis. *Lancet.* 2017;389:1550-7.
- 1303 50. Castro R, Águas MJ, Batista T, Araújo C, Mansinho K, Pereira
1304 L. Detection of Treponema pallidum sp. pallidum DNA in cere-
1305 brospinal fluid (CSF) by two PCR techniques. *J Clin Lab Anal.*
1306 2016;30:628-32.
- 1307 51. Fraga D, Muller AL, Czykiel MS, de Armas Y, Wissmann G,
1308 Goldani LZ. Detection of Treponema pallidum by semi-nested
1309 PCR in the cerebrospinal fluid of asymptomatic HIV-infected
1310 patients with latent syphilis. *Clin Lab.* 2014;60:2051-4.
- 1311 52. Larsen SA, Pope V, Johnson RE, Kennedy EJ. A manual of tests
1312 for syphilis. Washington, DC: American Public Health Associa-
1313 tion; 1998. p. 1-47.
- 1314 53. Peeling RW, Mabey D, Kamb ML, Chen XS, Radolf JD, Benzaken
1315 AS. Syphilis. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17073.
- 1316 54. Hutchinson CM, Hook EW 3rd, Shepherd M, Verley J, Rompalo
1317 AM. Altered clinical presentations and manifestations of early
1318 syphilis in patients with human immunodeficiency virus infec-
1319 tion. *Ann Intern Med.* 1994;121:94-9.
- 1320 55. Seña AC, Wolff M, Martin DH, Behets F, van Damme K, Leone
1321 P, et al. Predictors of serological cure and the serofast state
1322 after treatment in HIV-negative persons with early syphilis.
1323 *Clin Infect Dis.* 2011;53:1092-9.
- 1324 56. Tucker JD1, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS. Ac-
1325 celerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a
1326 systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2013;10:381-6.
- 1327 57. Castro AR, Esfandiari J, Kumar S, Ashton M, Kikkert SE, Park
1328 MM, et al. Novel point-of-care test for simultaneous detection
1329 of nontreponemal and treponemal antibodies in patients with
1330 syphilis. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4615-9.
- 1331 58. Yin YP, Chen XS, Wei WH, Gong KL, Cao WL, Yong G, et al.
1332 A dual point-of-care test shows good performance in simulta-
1333 neously detecting nontreponemal and treponemal antibodies
1334 in patients with syphilis: a multisite evaluation study in China.
1335 *Clin Infect Dis.* 2012;56:659-65.
- 1336 59. Causer LM, Kaldor JM, Conway DP, Leslie DE, Denham I,
1337 Karapanagiotidis T, et al. An evaluation of a novel dual trepo-
1338 nemal/nontreponemal point-of-care test for syphilis as a tool
1339 to distinguish active from past treated infection. *Clin Infect*
1340 *Dis.* 2015;61:184-91.
- 1341 Q21 60. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, et al. Trichomonas vaginalis as a
1342 cause of perinatal morbidity: a systematic review and meta-
1343 analysis. *Sex Transm Dis.* 2014;41:369-76.
- 1344 61. Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease Control and Pre-
1345 vention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines,
1346 2015. *MMWR Recomm Rep.* 2015;64:1-137.
- 1347 62. Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA Tricho-
1348 monas vaginalis transcription-mediated amplification to wet
1349 mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for
diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am J Obstet*
Gynecol. 2009;200:188, e1-188.e7.
63. Draper D, Parker R, Patterson E, et al. Detection of Trichomo-
nas vaginalis in pregnant women with the In-Pouch TV culture
system. *J Clin Microbiol.* 1993;31:1016-8.
64. Adu-Sarkodie Y, Opoku BK, Danso KA, Weiss HA, Mabey D. Com-
parison of latex agglutination, wet preparation, and culture
for the detection of Trichomonas vaginalis. *Sex Transm Infect.*
2004;80:201-3.
65. Huppert JS, Batteiger BE, Braslins P, et al. Use of an
immunochromatographic assay for rapid detection of Tri-
chomonas vaginalis in vaginal specimens. *J Clin Microbiol.*
2005;43:684-7.
66. Kurth A, Whittington WLH, Golden MR, et al. Performance of
a new, rapid assay for Trichomonas vaginalis. *J Clin Microbiol.*
2004;42:2940-3.
67. Campbell L, Woods V, Lloyd T, Elsayed S, Church DL. Evalua-
tion of the OOM Trichomonas rapid test versus wet preparation
examination for detection of Trichomonas vaginalis vaginitis in
specimens from women with a low prevalence of infection. *J*
Clin Microbiol. 2008;46:3467-9.
68. Pearce DM, Styles DN, Hardick JP, Gaydos CA. A new rapid
molecular point-of-care assay for Trichomonas vaginalis: preli-
minary performance data. *Sex Transm Infect.* 2013;89:495-7.
69. Briselden AM, Hillier SL. Evaluation of affirm VP microbial
identification test for Gardnerella vaginalis and Trichomonas
vaginalis. *J Clin Microbiol.* 1994;32:148-52.
70. Gaydos CA, Hobbs M, Marrazzo J, et al. Rapid diagnosis of
Trichomonas vaginalis by testing vaginal swabs in an isot-
hermal Helicase-dependent AmpliVue assay. *Sex Transm Dis.*
2016;43:369-73.
71. Gaydos CA, Schwebke J, Dombrowski J, et al. Clinical perfor-
mance of the Solana® Point-of-care Trichomonas assay from
clinician-collected vaginal swabs and urine specimens from
symptomatic and asymptomatic women. *Expert Rev Mol Diagn.*
2017;17:303-6.
72. Schwebke J, Hobbs MM, Taylor SN, et al. Molecular testing for
Trichomonas vaginalis in women: results from a prospective US
clinical trial. *J Clin Microbiol.* 2011;49:4106-11.
73. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.*
2004;17:794-803.
74. Van der Pol B, Williams JA, Eddleman L, et al. Evaluation of a
new amplified DNA assay on the Becton Dickinson Viper system
in extracted mode for the detection of Trichomonas vaginalis
from vaginal specimens. *Sex Transm Infect.* 2013;89S:A464.
75. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. Evaluation of
Seeplex® STD6 ACE detection kit for the diagnosis of six bac-
terial sexually transmitted infections. *J Infect Chemother.*
2012;18:494-500.
76. Van der Pol B. Profile of the triplex assay for detection of
chlamydia, gonorrhea and trichomonas using the BD MAXTM
System. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17:539-47.
77. Mateos Lindemann ML, Pérez-Castro S, Pérez-Gracia MT,
Rodríguez-Iglesias M. Diagnóstico microbiológico de la infec-
ción por el virus del papiloma humano. Procedimientos
en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad
Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.
2016.
78. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, et al. Human papi-
llomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer
worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12-9.
79. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, et al. The causal relation be-
tween human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.*
2002;55:244-65.
80. Globocan. Estimated cancer incidence, mortality and preva-
lence worldwide in 2012 [consultado 3 may 2018]. Disponible
en: <http://globocan.iarc.fr>

- 1417 81. Denny L, Quinn M, Sankaranarayanan R. Chapter 8: screening
1418 for cervical cancer in developing countries. *Vaccine*. 2006;24
1419 Suppl. 3:S71-7.
- Q31 82. Gage JC, Partridge EE, Rausa A, et al. Comparative perfor-
1421 mance of human papillomavirus DNA testing using novel simple
1422 collection methods. *J Clin Microbiol*. 2011;49:4185-9.
- 1423 83. Papanicolaou GN. A survey of actualities and potentialities
1424 of exfoliative cytology in cancer diagnosis. *Ann Intern Med*.
1425 1949;31:661-74.
- 1426 84. Kurman RJ, Henson DE, Herbst AL, Noeller KL, Schiffman
1427 MH. Interim guidelines for management of abnormal cer-
1428 vical cytology. The 1992 National Cancer Workshop. *JAMA*.
1429 1994;271:1866-9.
- 1430 85. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsh P, Siebers AG,
1431 Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytol-
1432 ogy: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol*.
1433 2008;111:167-77.
- Q32 86. Siebers AG, Klinkhamer PJ, Grefte JM, et al. Comparison of
1435 liquid-based cytology with conventional cytology for detection
1436 of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial.
1437 *JAMA*. 2009;302:1757-64.
- 1438 87. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL,
1439 Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA
1440 test requirements for primary cervical cancer screening
1441 in women 30 years and older. *Int J Cancer*. 2009;124:
1442 516-20.
- 1443 88. Lorincz A, Anthony J. Advance in HPV detection by hybrid cap-
1444 ture. *Papillomavirus Rep*. 2001;12:145-54.
- 1445 89. Dockter J, Schroder A, Hill C, Guzinski L, Monsonego J, Gia-
1446 chetti C. Clinical performance of the APTIMA HPV assay for
1447 the detection of high-risk HPV and high-grade cervical lesions.
1448 *J Clin Virol*. 2009;45 Suppl. 1:S55-61.
- Q33 90. Svare EI, Kjaer SK, Nonnenmacher B, et al. Seroreactivity
1450 to human papillomavirus type 16 virus-like particles is lower
1451 in high-risk men than in high-risk women. *J Infect Dis*.
1452 1997;176:876-83.
- 1453 91. Chaux A, Amin M, Cubilla AL, Young R. Distinctive association of
1454 P16INK4a overexpression with penile intraepithelial neoplasia
1455 (PeIN) depicting warty and/or basaloid features: a study of
1456 141 cases evaluating a new nomenclature. *Am J Surg Pathol*.
1457 2010;34:385-92.
- 1458 92. Safferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L.
1459 Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infec-
1460 tion. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med*.
1461 1987;316:1444-9.
- 1462 93. Moseley RC, Corey L, Benjamin D, Winter C, Remington ML.
1463 Comparison of viral isolation, direct immunofluorescence,
1464 and indirect immunoperoxidase techniques for detection of
1465 genital herpes simplex virus infection. *J Clin Microbiol*.
1466 1981;13:913-8.
- 1467 94. Johnston SL, Siegel CS. Comparison of enzyme immunoassay,
1468 shell vial culture, and conventional cell culture for the rapid
1469 detection of herpes simplex virus. *Diagn Microbiol Infect Dis*.
1470 1990;13:241-4.
- 1471 95. LeGoff J, Péré H, Bélec L. Diagnosis of genital herpes simplex
virus infection in the clinical laboratory. *Virol J*. 2014;11:83.
96. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually
1472 transmitted diseases treatment guidelines: genital HSV
1473 infections; 2015 [consultado 1 mar 2018]. Disponible en:
1474 <http://www.cdc.gov/std/tg2015/herpes.htm>
1475
97. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reac-
1476 tion for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine
1477 clinic. *Sex Transm Infect*. 2002;78:21-5.
- 1478 98. Manhart LE. Mycoplasma genitalium: an emergent sexually
1479 transmitted disease? *Infect Dis Clin North Am*. 2013;27:779-92.
1480
99. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. Mycoplasma genitalium
1481 infection and female reproductive tract disease: a meta-
1482 analysis. *Clin Infect Dis*. 2015;61:418-26.
1483
100. Napierala Mavedzenge S, Müller EE, Lewis DA, Chipato T, Morri-
1484 son CS, Weiss HA. Mycoplasma genitalium is associated with
1485 increased genital HIV type 1 RNA in Zimbabwean women. *J*
1486 *Infect Dis*. 2015;211:1388-98.
1487
101. Munson E. Molecular diagnostics update for the emerging (if
1488 not already widespread) sexually transmitted infection agent
1489 Mycoplasma genitalium: Just about ready for prime time. *J*
1490 *Clin Microbiol*. 2017;55:2894-902.
1491
102. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison
1492 of multiplex PCR assay with culture for detection of genital
1493 mycoplasmas. *J Clin Microbiol*. 2004;42:1528-33.
1494
103. Wold C, Sorthe J, Hartgill U, Olsen AO, Moghaddam A, Reinton
1495 N. Identification of macrolide-resistant Mycoplasma genita-
1496 lium using real-time PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol*.
1497 2015;29:1616-20.
1498
104. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Mortalidad por
1499 VIH/sida en España, año 2013. Evolución 1981-2013. Madrid:
1500 Centro Nacional de Epidemiología/Subdirección General de
1501 Promoción de la Salud y Epidemiología, Plan Nacional sobre
1502 el sida; 2015.
1503
105. Delaney KP, Hanson DL, Masciotra S, Ethridge SF, Wesolowski L,
1504 Owen SM. Time until emergence of HIV test reactivity following
1505 infection with HIV-1: implications for interpreting test results
1506 and retesting after exposure. *Clin Infect Dis*. 2017;64:53-9.
1507
106. Busch MP, Satten GA. Time course of viremia and antibody sero-
1508 conversion following human immunodeficiency virus exposure.
1509 *Am J Med*. 1997;102(5B):117-24.
1510
107. Henrard DR, Daar E, Farzadegan H, et al. Virologic and immu-
1511 nologic characterization of symptomatic and asymptomatic
1512 primary HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum*
1513 *Retrovirol*. 1995;9:305-10.
108. Branson BM. HIV testing updates and challenges: when regu-
1514 latory caution and public health imperatives collide. *Curr*
1515 *HIV/AIDS Rep*. 2015;12:117-26.
1516
109. Branson BM, Owen SM, Wesolowski LG, et al. Laboratory Testing
1517 for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations.
1518 Centers for Disease Control and Prevention; 2014.
1519
110. Pavié J, Rachline A, Loze B, et al. Sensitivity of five rapid
1520 HIV tests on oral fluid or finger-stick whole blood: a real-time
1521 comparison in a healthcare setting. *PLoS One*. 2010;5:e11581.
1522
111. Masciotra S, Luo W, Westheimer E, et al. Performance eval-
1523 uation of the FDA-approved Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo
1524 assay using plasma and whole blood specimens. *J Clin Virol*.
1525 2017;91:95-100.
1526