



# ACTAS Dermo-Sifiliográficas

Full English text available at  
[www.actasdermo.org](http://www.actasdermo.org)



## REVISIÓN

# Actualización en el diagnóstico de las infecciones de transmisión sexual



J. Rodríguez-Granger<sup>a,\*</sup>, B. Espadafor López<sup>b</sup>, F. Cobo<sup>a</sup>, G. Blasco Morente<sup>b</sup>,  
A. Sampedro Martínez<sup>a</sup>, J. Tercedor Sánchez<sup>b</sup>, L. Aliaga-Martínez<sup>a,c</sup>,  
A. Padilla-Malo de Molina<sup>d</sup> y J.M. Navarro-Mari<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Servicio de Microbiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>b</sup> Servicio de Dermatología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>c</sup> Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, Universidad de Granada, Granada, España

<sup>d</sup> Distrito Granada Nordeste, C. S. Purullena, Granada, España

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

Disponible en Internet el 11 de julio de 2020

### 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](mailto:javierm.rodriguez.sspa@juntadeandalucia.es) (J. Rodríguez-Granger).

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

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 recursos<sup>1</sup>. 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 género<sup>2</sup>. 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<sup>3,4</sup>.

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<sup>4,5</sup>. 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)<sup>4,6</sup>. 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<sup>4,7</sup>. 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<sup>4,8</sup>.

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<sup>4,9</sup>. 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 ocular<sup>10</sup>. 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<sup>11,12</sup>. 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<sup>13,14</sup>.

## 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<sup>15,16</sup>. 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<sup>17,18</sup>. 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 sexos<sup>19</sup>. Se puede incrementar la sensibilidad diagnóstica utilizando esferas de partículas magnéticas recubiertas, con lo que los ácidos nucleicos se aislarán en mayor cantidad y calidad<sup>20</sup>. 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 especificidad<sup>20</sup>. 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 ADN [2 copias/genoma])<sup>21</sup>.

En aquellos estudios donde se ha buscado comparar ambos métodos, los NAAT han detectado entre un 10 y un 30% más de muestras positivas de *C. trachomatis* que en los estudios que comparan los dos métodos<sup>22,23</sup>. En otros estudios, los resultados obtenidos a partir de diferentes NAAT mostraron ser altamente concordantes<sup>24,25</sup>. 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 pruebas<sup>26</sup>. 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 diana<sup>27</sup>. 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 venéreo<sup>21</sup>.

### 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 sintomáticos<sup>28</sup>. 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 amplificación isotérmica, como la amplificación isotérmica mediada por bucle (LAMP) o por la amplificación mediante recombinasa polimerasa (RPA)<sup>29</sup>.

### Serología

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

La prueba de microinmunofluorescencia (MIF) se consideraba el método de referencia para el estudio de los anticuerpos contra clamidia durante mucho tiempo, pero los inmunoensayos enzimáticos (EIA) y los inmunoblots o inmunoensayos en línea se usan actualmente con mayor frecuencia en la detección de infecciones por clamidia<sup>30,31</sup>. La tecnología de los EIA se basa en la detección del antígeno mediante la medición de una señal coloreada generada por los lipopolisacáridos de reacción antigénica (LPS) con el anticuerpo. Tradicionalmente han gozado de gran popularidad por ser técnicas simples, objetivas y automatizadas. La especificidad del EIA es baja, pudiendo dar falsos positivos debido a la presencia de lipopolisacáridos bacterianos (LPS). Otras técnicas se basarán en la tinción directa de muestras con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína (DFA). Esta última técnica utiliza anticuerpos específicos de la especie dirigidos principalmente contra la proteína principal de la membrana externa (MOMP) del antígeno y, en menor medida, contra el LPS. Las principales ventajas de las técnicas de DFA son su velocidad (30 min) y su especificidad cercana al 100%, la sensibilidad es del 85-90%, y en comparación con el cultivo no requieren medios de transporte específicos. Entre sus inconvenientes están la interpretación subjetiva, el requerir personal experimentado, el presentar una baja reproducibilidad y, por último, el volumen de muestras no debe ser elevado.

### Cultivo celular

Hasta finales del siglo XX, el cultivo celular fue el estándar de referencia con el que se han comparado todas las demás pruebas diagnósticas. Sin embargo, principalmente debido a la aparición de nuevos métodos de diagnóstico, que son más fáciles de implementar, así como rápidos y sensibles, el cultivo celular ha sido relegado sobre todo a los laboratorios de referencia. Las líneas celulares establecidas para el aislamiento de *C. trachomatis* incluyen la McCoy, Hela 29<sup>21</sup>. Las muestras para el cultivo deben recogerse utilizando dispositivos y medios de transporte especiales. La sensibilidad del cultivo puede verse afectada por la recolección, el almacenamiento y el transporte inadecuados de las muestras, las sustancias tóxicas en las muestras clínicas y el crecimiento excesivo de cultivos celulares por bacterias y hongos comensales. El cultivo celular es una técnica muy específica, sin embargo, la sensibilidad no es muy buena (75-80%)<sup>21,32</sup>.

### Infecciones por *Neisseria gonorrhoeae* (NG)

La gonorrea es la segunda ITS bacteriana más frecuente en todo el mundo<sup>33</sup>, a pesar de que su prevalencia variará entre

las distintas poblaciones<sup>34</sup>. A partir de una lesión localizada, el microorganismo puede ascender al tracto genital superior y causar enfermedad inflamatoria pélvica, epididimoorquitis 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 infección<sup>35</sup>.

### Diagnóstico de infecciones por NG

#### Microscopia

La NG se puede visualizar microscópicamente mediante la tinción de un frotis obtenido del tracto genital de los pacientes sintomáticos. En hombres con secreción uretral, se puede usar la microscopia ( $\times 1.000$ ) de la tinción de Gram para identificar diplococos dentro de los leucocitos polimorfonucleares, con una buena sensibilidad ( $\geq 95\%$ ) y especificidad ( $\geq 99\%$ ), como prueba diagnóstica rápida<sup>36</sup>. Sin embargo, en hombres asintomáticos esta técnica tiene poca sensibilidad ( $\leq 55\%$ ), así como en la identificación de la infección endocervical o rectal ( $\leq 55\%$  y  $\leq 40\%$ , respectivamente), por lo que, en estas circunstancias, no se puede recomendar el uso de la microscopia como prueba para descartar una infección. Además, las tinciones de Gram de muestras endocervicales, rectales o faríngeas no se recomiendan para la detección de infecciones debido a la poca especificidad y a la baja sensibilidad.

#### Cultivo

El cultivo es el único método diagnóstico que permite realizar pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, por lo que sigue siendo importante para detectar y controlar la resistencia a estos. Las muestras deben obtenerse utilizando hisopos que no contengan compuestos como la madera y el algodón, ya que estos pueden ser inhibidores o tóxicos para la NG. Algunos sistemas de transporte pueden mantener la viabilidad del gonococo hasta 48 h a temperatura ambiente<sup>37</sup>. Los hisopos se deben insertar 2-3 cm en la uretra masculina o 1-2 cm en el canal endocervical, y luego se realizarán 2-3 rotaciones.

Las muestras obtenidas de localizaciones estériles se pueden cultivar en un medio no selectivo (p. ej., Agar chocolate), mientras que las de localizaciones no estériles se cultivarán en un medio selectivo (p. ej., Martin-Lewis, Thayer-Martin)<sup>38</sup>, el cual contiene agentes antimicrobianos que inhibirán el crecimiento de otras bacterias y hongos. Estos medios se incuban a 35 °C en un ambiente suplementado con el 5% de CO<sub>2</sub> y se valorarán al menos durante 48-72 h. Los diplococos gramnegativos y las colonias oxidasa positivas presumiblemente se pueden identificar como NG. Sin embargo, se necesitarán pruebas bioquímicas adicionales para poder confirmar el diagnóstico.

Se deberá realizar un cultivo para el estudio de la sensibilidad antimicrobiana en aquellos pacientes con una infección persistente o si se sospecha un fracaso del tratamiento. Además, la caracterización de estos mediante una tipificación molecular puede ser una herramienta útil para predecir la resistencia a los antimicrobianos, ya que algunos

tipos estarán asociados a una menor susceptibilidad a diversos antibióticos<sup>39</sup>. 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 nucleicos (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 estrictos<sup>40-43</sup>. Los NAAT son la prueba de elección para valorar pacientes que estén asintomáticos<sup>40</sup>. Estas técnicas tendrán una sensibilidad similar en las muestras de orina y en las de la uretra de los hombres<sup>43</sup>, así como una sensibilidad similar en las muestras endocervicales tomadas por médicos y en aquellas tomadas por los mismos pacientes<sup>44</sup>. Sin embargo, en las mujeres, las muestras de orina tendrán una menor sensibilidad que las muestras obtenidas con hisopos genitales<sup>45</sup>. Además, los NAAT serán significativamente más sensibles que el cultivo para la detección de la NG en las muestras faríngeas y rectales<sup>46,47</sup>, 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 Unidos<sup>32</sup>.

### Infecciones por *Treponema pallidum* (sífilis)

La sífilis se desarrolla en varias fases, y los síntomas variarán 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 internacionalmente<sup>48</sup>. Sin embargo, las pruebas de PCR se pueden realizar para el diagnóstico de neurosífilis, particularmente entre las personas

infectadas con VIH<sup>49,50</sup>. 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 tratamiento<sup>51</sup>. 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<sup>48,52</sup>. 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<sup>53,54</sup>. 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%<sup>55</sup>. 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 dispositivo<sup>56-58</sup>, 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%)<sup>56-58</sup>.

### 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 LCR<sup>48</sup>.

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 neurosífilis<sup>48</sup>.

#### 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 diagnóstico<sup>52</sup>. 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 congénita<sup>52</sup>.

### 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 prematuro<sup>59</sup>. 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 positivas<sup>17</sup>.

### Diagnóstico de infecciones por *Trichomonas vaginalis* (TV)

#### Métodos convencionales: microscopía y cultivo

El diagnóstico de tricomoniasis se basa comúnmente en un 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 infección<sup>60</sup>. 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  $24 \pm 6$  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 comercialmente<sup>61</sup>.

### 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 sensibilidad<sup>62</sup>. Comercialmente está disponible una prueba de flujo capilar inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de TV en hisopos vaginales<sup>63,64</sup>. 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 diagnóstico<sup>65</sup>. 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 NAAT<sup>66</sup>.

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 color<sup>67</sup>.

El ensayo AmpliVue utiliza la amplificación isotérmica dependiente de la helicasa (HDA) y tiene como diana una secuencia repetida de ADN conservada de la TV<sup>68</sup>. 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 Solana<sup>69</sup>. 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 aceptables<sup>70</sup>. 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 fresco<sup>71</sup>.

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)<sup>72</sup> y el estudio ProbeTec Qx en el sistema BD Viper (Becton Dickinson)<sup>72</sup>.

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)<sup>73</sup>. 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  $\geq 98,6\%$ <sup>74</sup>.

## 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 asociados<sup>75</sup>. 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<sup>76,77</sup>. Este tipo de cáncer afecta a casi 500.000 mujeres en todo el mundo cada año, con una mortalidad de más de 270.000 personas<sup>78</sup>.

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 recursos<sup>79</sup>. 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 líquido<sup>80</sup>. 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 1941<sup>81</sup> y se ha asociado a una disminución mantenida de la incidencia del cáncer de cuello uterino y de las tasas de mortalidad<sup>82</sup>. 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 pre-neoplásicas significativas de manera más efectiva que la citología convencional<sup>83,84</sup>.

## 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)<sup>85</sup>. 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



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

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

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

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

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

Fue el primer método aprobado por la FDA (marzo de 2003) para la detección de genotipos oncogénicos de VPH. Es un método de amplificación de señal de fase líquida/sólida basado en la hibridación en solución de sondas de ARN sintéticas largas complementarias a la secuencia genómica de 13 tipos de VPH de alto riesgo (16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 y 68) y 5 de bajo riesgo (6, 11, 42, 43 y 44). Los híbridos son detectados por algunas reacciones que generan una señal luminiscente que puede ser detectada por quimioluminiscencia. La principal limitación de este ensayo es que no discrimina el genotipo y la reactividad cruzada que puede conducir a resultados falsos positivos<sup>86</sup>.

### Cervista HPV HR (Hologic)

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

### Prueba de VPH Cobas (Roche Diagnostics)

El sistema Cobas 4800 es un método automatizado que utiliza la muestra primaria obtenida para la citología en base líquida. Los resultados aparecen diferenciados en 4 canales: VPH 16, VPH 18, VPH de alto riesgo no 16/18 (31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 y 68) y  $\beta$ -globina (control interno). Las principales ventajas son la alta sensibilidad, la reproducibilidad y el alto grado de automatización.

### Ensayo Aptima de VPH (Hologic)

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

amplificación por sistema TMA y detección por hibridación<sup>87</sup>. Sin embargo, el principal problema con esta técnica es que el ARN es mucho más lábil que el ADN y está menos disponible en la mayoría de las muestras biológicas.

### Microarrays (chips de ADN)

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

### Estudios serológicos

La mayoría de los estudios emplearon EIA, pero el principal problema con el uso de la serología es la estandarización y el establecimiento de un estándar internacional que asigne una unidad de medida o unidad internacional. Los estudios han demostrado que aproximadamente la mitad de las personas expuestas al VPH nunca desarrollarán títulos medibles de anticuerpos<sup>88</sup>.

### Utilidad del P16<sup>INK4a</sup>

La sobreexpresión de esta proteína se ha propuesto como marcador tisular para la infección por VPH de alto riesgo. La positividad de esta proteína aumenta con la gravedad de la lesión, y un alto porcentaje de muestras de citología HSIL son positivas. La sensibilidad de los ensayos de P16<sup>INK4a</sup> para detectar CIN3 es similar a los estudios de ADN del VPH, pero la especificidad necesita ser mejorada. Su papel como factor pronóstico molecular sigue siendo un tema pendiente de valoración<sup>89</sup>.

## Infección genital por virus de herpes simples

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

El diagnóstico de laboratorio del herpes genital se recomienda para la confirmación del herpes genital clínicamente sospechoso o el diagnóstico diferencial con otras ITS ulcerativas o dermatosis con úlceras genitales, y en complicaciones extragenitales del herpes genital.

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

### Aislamiento viral

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

en una amplia variedad de líneas celulares, pero las líneas celulares más utilizadas en el cultivo del VHS son los fibroblastos, las células MRC-5 y las células Vero. Si bien esta prueba tiene una especificidad del 100% para VHS-1 o VHS-2, la sensibilidad dependerá de la fase en la cual se encuentra la lesión en el momento de la recolección de la muestra. La sensibilidad también variará entre el 75% para los episodios iniciales hasta un 50% en las recurrencias<sup>90,91</sup>. El cultivo en el «vial-Shell» puede disminuir los tiempos del aislamiento viral de uno a 7 días hasta 16 a 48 h. Sin embargo, aunque estos métodos son rápidos y específicos, son ligeramente menos sensibles que los cultivos en tubos tradicionales y más caros<sup>92</sup>.

### Detección de antígenos

El antígeno viral se puede detectar mediante una prueba de inmunofluorescencia directa (DFA) o un EIA. La prueba de IF es un método satisfactorio y rápido (< 4 h) para el diagnóstico (sensibilidad del 80% y especificidad del 90%), pero requiere muestras provenientes de vesículas frescas<sup>93</sup>.

### Detección viral mediante biología molecular

Los estudios de PCR u otros NAAT, actualmente, son las pruebas más sensibles disponibles para la detección de VHS en muestras clínicas. La PCR en tiempo real es más rápida, requiere menos mano de obra que la PCR tradicional y, en presencia de lesiones activas, la PCR es la prueba ideal, con una sensibilidad y especificidad superiores al 95%<sup>94,95</sup>.

### Diagnóstico serológico

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

Las pruebas de IgM contra el VHS tienen una disponibilidad limitada en los entornos de diagnóstico de rutina y no se pueden recomendar en la práctica clínica habitual. Los anticuerpos IgG específicos para el VHS son negativos en las primeras etapas de la infección por herpes, y se volverán detectables entre 2 semanas y 3 meses después del inicio de los síntomas y persistirán detectables de manera indefinida. Se recomiendan pruebas de ELISA basadas en glucoproteína G del VHS específicos para el diagnóstico serológico. Las infecciones primarias por VHS pueden objetivarse por seroconversión con sueros apareados. Las sensibilidades de estas pruebas de IgG para la detección del anticuerpo VHS-2 varían de entre el 80 al 98%, y las especificidades de estos estudios serán  $\geq 96\%$ <sup>93</sup>. Resultados falsos negativos pueden ocurrir en un período de ventana de entre 2 semanas a 3 meses después de la exposición al VHS.

## Infección por *Mycoplasma genitalium*

Desde que se dispone de estudios moleculares, el *Mycoplasma genitalium* se ha asociado con muchas complicaciones, como son la uretritis no gonocócica en hombres y muchas secuelas reproductivas adversas en mujeres, como la cervicitis, la endometritis, el parto prematuro, el aborto espontáneo y la enfermedad inflamatoria pélvica<sup>96,97</sup>. Otros estudios han reportado un ascenso en el diagnóstico y la propagación del VIH entre los pacientes con antecedente de infección por *M. genitalium*<sup>98</sup>. Sin embargo, el *Mycoplasma hominis*, el *Ureaplasma urealyticum* (anteriormente *U. urealyticum* biovar 2) y el *U. parvum* (anteriormente el *U. urealyticum* biovar 1) se encuentran con frecuencia en el tracto urogenital humano tanto en individuos sanos como en pacientes sintomáticos<sup>99</sup>.

Se han descrito diversas modalidades de amplificación de ADN de *M. genitalium* que se producen de manera comercial. Cebadores oligonucleotídicos específicos de *M. genitalium* han sido incorporados en métodos de PCR simple o multiplex para 6 ITS (p. ej., Seeplex STD6, Seegene) en muestras urogenitales o muestras vaginales y de orina mediante microarray de PCR (chip STDetect, Lab Genomics). Otros intentos de detectar el ADN de *M. genitalium* vienen en el contexto de pruebas diseñadas para detectar *M. genitalium*, *M. hominis*, *U. urealyticum* y *U. urealyticum* de la primera muestra de orina de por la mañana en pacientes varones junto con otros patógenos (p. ej., el panel FilmArray STI, Diagnóstico BioFire)<sup>99</sup>.

Así mismo, existen otras pruebas que tienen marcado CE (Bio-rad DX CT/NG/MG, Biorad) (prueba Hyplex STD Mycoplasma, Amplex Bioystems); este último ha mostrado una sensibilidad y especificidad del 87% y 96% para la detección de *M. genitalium*<sup>100</sup>.

Se han publicado varios estudios acerca de la resistencia a macrólidos en muestras positivas para *M. genitalium*, utilizando la detección de mutaciones en el gen de ARN 23s asociado a resistencias, para lo cual se utilizó la PCR y el análisis de la curva de fusión<sup>101</sup>. PlexZyme y PlexPrime recientemente desarrollaron un estudio con el 23S en el qPCR multiplex para la detección de *M. genitalium* y las 5 mutaciones asociadas a la resistencia a macrólidos. En este estudio se evaluaron 400 muestras provenientes de 254 participantes incluidos de manera consecutiva; el 56% presentó una mutación relacionada con la resistencia a macrólidos y su sensibilidad y especificidad fueron del 99,1% y del 98,5% para la detección de *M. genitalium* y del 97,4% y del 100% para la resistencia a los macrólidos<sup>99</sup>.

## Infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)

En la actualidad, en nuestro país, los datos de vigilancia sugieren una estabilización o disminución de la incidencia del VIH ante el aparente incremento del número de personas evaluadas entre los grupos de riesgo. Las razones por las que se observa esta tendencia de mejora aún no están claras, pero para que se mantengan, se debe continuar refinando los sistemas de diagnóstico del VIH, así como continuar acercando a la población a los métodos de atención y prevención, según corresponda<sup>102</sup>.

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 tiempo<sup>103-105</sup>.

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<sup>106,107</sup>.

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 infección<sup>103</sup>.

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<sup>108,109</sup>.

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.

## 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.
  15. Watson EJ, Templeton A, Russell I, Paavoneen J, Mardh PA, Stary A, 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.
  17. Workowski KA. Centers for Disease Control and Prevention Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines. *Clin Infect Dis.* 2015;61 Suppl 8:S759–62.
  18. Schachter J, Chow JM, Howard H, Bolan G, Moncada J. 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.
  19. Van der Helm JJ, Hoebe CJ, van Rooijen MS, Brouwers EE, Fennema HS, Thiesbrummel HF, 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.*
  22. Quinn TC, Gaydos C, Shepherd M, Bobo L, Hook EW 3<sup>rd</sup>, Viscidi R, et al. Epidemiologic and microbiologic correlates of *Chlamydia trachomatis* infection in sexual partnerships. *JAMA.* 1996;276:1737–42.
  23. Puolakkainen M, Hiltunen-Back E, Reunala T, Suhonen S, Lähteenmäki P, Lehtinen M, 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. Hurlly 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 *Chlamydia* 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, de Vries HJC, Francis SC, Mabey D, et al. Sexually transmitted infections: challenges ahead. *Lancet Infect Dis.* 2017;17:e235–79.
  34. Hill SA, Masters TL, Wachter J. *Gonorrhoea - 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, Lum G, Smith DW, Tabrizi SN, 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, Carrington D, Williams OM, Fernandes A, 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, Ferrero D, Gaydos C, Quinn TC, 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, Willis D, Jordan J, Wang S, 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, Fine PM, Martin DH, Fuller D, et al. Vaginal swabs are the specimens of choice when screening for *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: results from a multicenter evaluation of the APTIMA assays for both infections. *Sex Transm Dis.* 2005;32:725–8.

45. Cook RL, Hutchison SL, Ostergaard L, Braithwaite RS, Ness RB. Systematic review: non-invasive testing for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae. *Ann Intern Med.* 2005;142:914–25.
46. Schachter J, Moncada J, Liska S, Shayevich C, Klausner JD. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections in the oropharynx and rectum in men who have sex with men. *Sex Transm Dis.* 2008;35:637–42.
47. Ota KV, Tamari IE, Smieja M, Jamieson F, Jones KE, Towns L., et al. Detection of Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis in pharyngeal and rectal specimens using the BD Probetec ET system, the Gen-Probe Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect.* 2009;85:182–6.
48. Hook EW. Syphilis. *Lancet.* 2017;389:1550–7.
49. Castro R, Águas MJ, Batista T, Araújo C, Mansinho K, Pereira L. Detection of Treponema pallidum sp. pallidum DNA in cerebrospinal fluid (CSF) by two PCR techniques. *J Clin Lab Anal.* 2016;30:628–32.
50. Fraga D, Muller AL, Czykiel MS, de Armas Y, Wissmann G, Goldani LZ. Detection of Treponema pallidum by semi-nested PCR in the cerebrospinal fluid of asymptomatic HIV-infected patients with latent syphilis. *Clin Lab.* 2014;60:2051–4.
51. Larsen SA, Pope V, Johnson RE, Kennedy EJ. A manual of tests for syphilis. Washington, DC: American Public Health Association; 1998. p. 1–47.
52. Peeling RW, Mabey D, Kamb ML, Chen XS, Radolf JD, Benzaken AS. Syphilis. *Nat Rev Dis Primers.* 2017;3:17073.
53. Hutchinson CM, Hook EW 3rd, Shepherd M, Verley J, Rompalo AM. Altered clinical presentations and manifestations of early syphilis in patients with human immunodeficiency virus infection. *Ann Intern Med.* 1994;121:94–9.
54. Seña AC, Wolff M, Martin DH, Behets F, van Damme K, Leone P, et al. Predictors of serological cure and the serofast state after treatment in HIV-negative persons with early syphilis. *Clin Infect Dis.* 2011;53:1092–9.
55. Tucker JD1, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS. Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a systematic review. *Lancet Infect Dis.* 2013;10:381–6.
56. Castro AR, Esfandiari J, Kumar S, Ashton M, Kikkert SE, Park MM, et al. Novel point-of-care test for simultaneous detection of nontreponemal and treponemal antibodies in patients with syphilis. *J Clin Microbiol.* 2010;48:4615–9.
57. Yin YP, Chen XS, Wei WH, Gong KL, Cao WL, Yong G, et al. A dual point-of-care test shows good performance in simultaneously detecting nontreponemal and treponemal antibodies in patients with syphilis: a multisite evaluation study in China. *Clin Infect Dis.* 2012;56:659–65.
58. Causser LM, Kaldor JM, Conway DP, Leslie DE, Denham I, Karapanagiotidis T, et al. An evaluation of a novel dual treponemal/nontreponemal point-of-care test for syphilis as a tool to distinguish active from past treated infection. *Clin Infect Dis.* 2015;61:184–91.
59. Silver BJ, Guy RJ, Kaldor JM, Jamil MS, Rumbold AR. Trichomonas vaginalis as a cause of perinatal morbidity: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Dis.* 2014;41:369–76.
60. Nye MB, Schwebke JR, Body BA. Comparison of APTIMA Trichomonas vaginalis transcription-mediated amplification to wet 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.
61. Draper D, Parker R, Patterson E, Jones W, Beutz M, French J, et al. Detection of Trichomonas vaginalis in pregnant women with the In-Pouch TV culture system. *J Clin Microbiol.* 1993;31:1016–8.
62. Adu-Sarkodie Y, Opoku BK, Danso KA, Weiss HA, Mabey D. Comparison of latex agglutination, wet preparation, and culture for the detection of Trichomonas vaginalis. *Sex Transm Infect.* 2004;80:201–3.
63. Huppert JS, Batteiger BE, Braslins P, Feldman JA, Hobbs MM, Sankey HZ, et al. Use of an immunochromatographic assay for rapid detection of Trichomonas vaginalis in vaginal specimens. *J Clin Microbiol.* 2005;43:684–7.
64. Kurth A, Whittington WLH, Golden MR, Thomas KK, Holmes KK, Schwebke JR. Performance of a new, rapid assay for Trichomonas vaginalis. *J Clin Microbiol.* 2004;42:2940–3.
65. Campbell L, Woods V, Lloyd T, Elsayed S, Church DL. Evaluation 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.
66. Pearce DM, Styles DN, Hardick JP, Gaydos CA. A new rapid molecular point-of-care assay for Trichomonas vaginalis: preliminary performance data. *Sex Transm Infect.* 2013;89:495–7.
67. Briselden AM, Hillier SL. Evaluation of affirm VP microbial identification test for Gardnerella vaginalis and Trichomonas vaginalis. *J Clin Microbiol.* 1994;32:148–52.
68. Gaydos CA, Hobbs M, Marrazzo J, Schwebke J, Coleman JS, Masek B, et al. Rapid diagnosis of Trichomonas vaginalis by testing vaginal swabs in an isothermal Helicase-dependent AmpliVue assay. *Sex Transm Dis.* 2016;43:369–73.
69. Gaydos CA, Schwebke J, Dombrowski J, Marrazzo J, Coleman J, Silver B, et al. Clinical performance 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.
70. Schwebke J, Hobbs MM, Taylor SN, Sena AC, Catania MG, Weinbaum BS, et al. Molecular testing for Trichomonas vaginalis in women: results from a prospective US clinical trial. *J Clin Microbiol.* 2011;49:4106–11.
71. Schwebke JR, Burgess D. Trichomoniasis. *Clin Microbiol Rev.* 2004;17:794–803.
72. Van der Pol B, Williams JA, Eddleman L, Fuller D, Taylor S, Schwebke J, 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.
73. Lee SJ, Park DC, Lee DS, Choe HS, Cho YH. Evaluation of Seeplex® STD6 ACE detection kit for the diagnosis of six bacterial sexually transmitted infections. *J Infect Chemother.* 2012;18:494–500.
74. Van der Pol B. Profile of the triplex assay for detection of chlamydia, gonorrhoea and trichomonas using the BD MAXTM System. *Expert Rev Mol Diagn.* 2017;17:539–47.
75. Mateos Lindemann ML, Pérez-Castro S, Pérez-Gracia MT, Rodríguez-Iglesias M. Diagnóstico microbiológico de la infección por el virus del papiloma humano. *Procedimientos en Microbiología Clínica. Recomendaciones de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica.* 2016.
76. Walboomers JM, Jacobs MV, Manos MM, Bosch FX, Kummer JA, Shah KV, et al. Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol.* 1999;189:12–9.
77. Bosch FX, Lorincz A, Muñoz N, Meijer CJ, Shah KV. The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol.* 2002;55:244–65.
78. Globocan. Estimated cancer incidence, mortality and prevalence worldwide in 2012 [consultado 3 may 2018]. Disponible en: <http://globocan.iarc.fr>
79. Denny L, Quinn M, Sankaranarayanan R. Chapter 8: screening for cervical cancer in developing countries. *Vaccine.* 2006;24 Suppl. 3:S71–7.
80. Gage JC, Partridge EE, Rausa A, Gravitt PE, Wacholder S, Schiffman M, et al. Comparative performance of human

- papillomavirus DNA testing using novel simple collection methods. *J Clin Microbiol.* 2011;49:4185–9.
81. Papanicolaou GN. A survey of actualities and potentialities of exfoliative cytology in cancer diagnosis. *Ann Intern Med.* 1949;31:661–74.
  82. Kurman RJ, Henson DE, Herbst AL, Noeller KL, Schiffman MH. Interim guidelines for management of abnormal cervical cytology. The 1992 National Cancer Workshop. *JAMA.* 1994;271:1866–9.
  83. Arbyn M, Bergeron C, Klinkhamer P, Martin-Hirsh P, Siebers AG, Bulten J. Liquid compared with conventional cervical cytology: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2008;111:167–77.
  84. Siebers AG, Klinkhamer PJ, Grefte JM, Massuger LF, Vedder JE, Beijers-Broos A, et al. Comparison of liquid-based cytology with conventional cytology for detection of cervical cancer precursors: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2009;302:1757–64.
  85. Meijer CJ, Berkhof J, Castle PE, Hesselink AT, Franco EL, Ronco G, et al. Guidelines for human papillomavirus DNA test requirements for primary cervical cancer screening in women 30 years and older. *Int J Cancer.* 2009;124:516–20.
  86. Lorincz A, Anthony J. Advance in HPV detection by hybrid capture. *Papillomavirus Rep.* 2001;12:145–54.
  87. Dockter J, Schroder A, Hill C, Guzinski L, Monson J, Giachetti C. Clinical performance of the APTIMA HPV assay for the detection of high-risk HPV and high-grade cervical lesions. *J Clin Virol.* 2009;45 Suppl. 1:555–61.
  88. Svare EI, Kjaer SK, Nonnenmacher B, Worm AM, Moi H, Christensen RB, et al. Seroreactivity to human papillomavirus type 16 virus-like particles is lower in high-risk men than in high-risk women. *J Infect Dis.* 1997;176:876–83.
  89. Chaux A, Amin M, Cubilla AL, Young R. Distinctive association of P16INK4a overexpression with penile intraepithelial neoplasia (PeIN) depicting warty and/or basaloid features: a study of 141 cases evaluating a new nomenclature. *Am J Surg Pathol.* 2010;34:385–92.
  90. Safferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. Influence of site of infection and viral type. *N Engl J Med.* 1987;316:1444–9.
  91. Moseley RC, Corey L, Benjamin D, Winter C, Remington ML. Comparison of viral isolation, direct immunofluorescence, and indirect immunoperoxidase techniques for detection of genital herpes simplex virus infection. *J Clin Microbiol.* 1981;13:913–8.
  92. Johnston SL, Siegel CS. Comparison of enzyme immunoassay, shell vial culture, and conventional cell culture for the rapid detection of herpes simplex virus. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1990;13:241–4.
  93. LeGoff J, Péré H, Bélec L. Diagnosis of genital herpes simplex virus infection in the clinical laboratory. *Virol J.* 2014;11:83.
  94. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines: genital HSV infections; 2015 [consultado 1 mar 2018]. Disponible en: <http://www.cdc.gov/std/tg2015/herpes.htm>
  95. Scoular A, Gillespie G, Carman WF. Polymerase chain reaction for diagnosis of genital herpes in a genitourinary medicine clinic. *Sex Transm Infect.* 2002;78:21–5.
  96. Manhart LE. *Mycoplasma genitalium*: an emergent sexually transmitted disease? *Infect Dis Clin North Am.* 2013;27:779–92.
  97. Lis R, Rowhani-Rahbar A, Manhart LE. *Mycoplasma genitalium* infection and female reproductive tract disease: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2015;61:418–26.
  98. Napierala Mavedzenge S, Müller EE, Lewis DA, Chipato T, Morrison CS, Weiss HA. *Mycoplasma genitalium* is associated with increased genital HIV type 1 RNA in Zimbabwean women. *J Infect Dis.* 2015;211:1388–9.
  99. Munson E. Molecular diagnostics update for the emerging (if not already widespread) sexually transmitted infection agent *Mycoplasma genitalium*: Just about ready for prime time. *J Clin Microbiol.* 2017;55:2894–902.
  100. Stellrecht KA, Woron AM, Mishrik NG, Venezia RA. Comparison of multiplex PCR assay with culture for detection of genital mycoplasmas. *J Clin Microbiol.* 2004;42:1528–33.
  101. Wold C, Sorthe J, Hartgill U, Olsen AO, Moghaddam A, Reinton N. Identification of macrolide-resistant *Mycoplasma genitalium* using real-time PCR. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2015;29:1616–20.
  102. Área de Vigilancia de VIH y Conductas de Riesgo. Mortalidad por VIH/sida en España, año 2013. Evolución 1981-2013. Madrid: Centro Nacional de Epidemiología/Subdirección General de Promoción de la Salud y Epidemiología, Plan Nacional sobre el sida; 2015.
  103. Delaney KP, Hanson DL, Masciotra S, Ethridge SF, Wesolowski L, Owen SM. Time until emergence of HIV test reactivity following infection with HIV-1: implications for interpreting test results and retesting after exposure. *Clin Infect Dis.* 2017;64:53–9.
  104. Busch MP, Satten GA. Time course of viremia and antibody seroconversion following human immunodeficiency virus exposure. *Am J Med.* 1997;102(5B):117–24.
  105. Henrard DR, Daar E, Farzadegan H, Clark SJ, Phillips J, Shaw GM, et al. Virologic and immunologic characterization of symptomatic and asymptomatic primary HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1995;9:305–10.
  106. Branson BM. HIV testing updates and challenges: when regulatory caution and public health imperatives collide. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2015;12:117–26.
  107. Branson BM, Owen SM, Wesolowski LG, Bennet B, Werner BG, Wroblewski KE, et al. Laboratory Testing for the Diagnosis of HIV Infection: Updated Recommendations. Centers for Disease Control and Prevention; 2014.
  108. Pavie J, Rachline A, Loze B, Niedbalski L, Delaugerre C, Laforgerie E, et al. Sensitivity of five rapid HIV tests on oral fluid or finger-stick whole blood: a real-time comparison in a health-care setting. *PLoS One.* 2010;5:e11581.
  109. Masciotra S, Luo W, Westheimer E, Cohen SE, Gay CL, Hall L, et al. Performance evaluation of the FDA-approved Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo assay using plasma and whole blood specimens. *J Clin Virol.* 2017;91:95–100.