



**Proyecto de investigación: Evaluación de la respuesta clínica y serológica al tratamiento de sífilis en los pacientes VIH**

**Autor: Aránzazu Sobrao López**

**Tutor: Enrique Bernal Morell**

## **RESUMEN**

En los últimos años se está produciendo un resurgir de la sífilis, debido probablemente a cambios sociodemográficos. Este cambio de tendencias ha coincidido con la mejoría en el pronóstico de los pacientes con infección por VIH tras la introducción del tratamiento antirretroviral de gran actividad, que parece haber llevado a una cierta relajación en las medidas de prevención en los colectivos de riesgo. La tasa de coinfección de sífilis y VIH en EE.UU está en torno al 15,7% siendo superior en usuarios a drogas por vía parenteral (22,5-70,6%) y homosexuales (68-90%). En España no existen grandes estudios y se estima que está en el 13% aproximadamente. Aunque la sífilis es una enfermedad conocida y muy estudiada desde hace muchos años, todavía en la actualidad presenta importantes lagunas. En concreto, en los pacientes con infección por VIH el diagnóstico de sífilis se cree que está infraestimado, y existen formas de presentación atípicas y más frecuencia de manifestaciones neurológicas, con un tiempo de respuesta serológica más prolongado y mayor frecuencia de fracaso terapéutico comparado con los pacientes no infectados por VIH. Sin embargo actualmente no existen estudios que avalen estas diferencias, las cuales podrían tener una relevancia tanto en el manejo clínico de este grupo de pacientes, como en salud pública. El objetivo de nuestro estudio sería establecer posible efecto de infección VIH y el tratamiento TARV en la evolución clínica y serológica de los pacientes coinfectados

## **ABSTRACT**

In the recent years a resurgence of the syphilis infection is observed, probably connected to sociodemographical changes. This trend is probably related to the improvement of prognosis in HIV patients after the introduction of high effective ART, as well as the consequent increase of risky sexual behaviors because of a false sense of security. The rate of syphilis and HIV coinfection in the US is around 15.7%, with higher case rates in intravenous drug users (22.5-70.6%) and homosexuals (68-90%). In Spain there are no major studies about coinfection and it is estimated around 13% of HIV population. Although syphilis is a well-known and well-studied disease, there are currently some new targets, especially in HIV population, in which syphilis is underestimated. Coinfected patients present certain peculiarities in the clinical features, serological diagnosis, and therapeutic management. However, recent studies do not

support these differences, which could have relevance in the clinical management of this group of patients, as well as in public health. The aim of our study is to establish the possible effect of HIV infection and ART in the clinical and serological evolution of Syphilis in coinfecting patients.

***Keywords:*** *syphilis, HIV infection, neurosyphilis*

1. Resumen/Abstract
2. Introducción y estado actual del tema
3. Objetivos
  - a. Objetivo principal
  - b. Objetivos secundarios
4. Hipótesis de trabajo
5. Metodología
  - 5.1 Diseño
  - 5.2 Población a estudio
    - Criterios de inclusión
    - Criterios de exclusión
    - Número de sujetos previsto
  - 5.3 Variables
    - Variable principal
    - Variables secundarias
  - 5.4 Marcadores de actividad inmune
  - 5.5 Parámetros a monitorizar
  - 5.6 Recogida de datos
  - 5.7 Análisis de datos
  - 5.8 Dificultades y limitaciones
6. Plan de trabajo
  - a. Cronograma
  - b. Esquema de seguimiento

### c. Visitas de seguimiento

7. Aspectos éticos-legales

8. Aplicabilidad y utilidad práctica de los resultados obtenidos o previsibles

9. Bibliografía

10. Anexos

## **2. INTRODUCCIÓN Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA**

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual conocida desde hace más de quinientos años de distribución universal y una incidencia variable a lo largo de las décadas según la distribución geográfica y el entorno socioeconómico, con un gran impacto en salud pública, y una importante repercusión sanitaria, social y económica.

Está producida por el microorganismo *Treponema Pallidum* subespecie *pallidum*, perteneciente al Orden *Spirochaetales*, familia *Spirochaetaceae* (1). La enfermedad puede ser adquirida por contacto sexual, de forma congénita a través de la placenta, por transfusión de sangre humana contaminada y por inoculación accidental directa. La forma más frecuente es por transmisión sexual. Actualmente supone un reto tanto diagnóstico como terapéutico.

El *T. Pallidum* es capaz de penetrar en el organismo a través de las membranas mucosas intactas o a través de heridas de la piel; aproximadamente un 30% de los compañeros sexuales de los pacientes infectados desarrollarán la sífilis. A partir de aquí, el microorganismo se disemina por el cuerpo humano a través de los vasos linfáticos o sanguíneos. En la práctica, cualquier órgano del cuerpo humano puede ser invadido incluyendo el sistema nervioso central (SNC). Clínicamente la sífilis se divide en una serie de etapas: fase de incubación (periodo medio es de tres semanas, pero varía de 3 semanas a 90 días), sífilis primaria, secundaria, sífilis latente y sífilis tardía.

La fase primaria consiste en el desarrollo de la primera lesión en la piel o las mucosas, conocida como chancro y que aparece en el lugar de inoculación, pudiendo ser única o múltiple. Se acompaña a veces de la aparición de una adenopatía regional. Las espiroquetas son fácilmente demostrables en dichas lesiones y el chancro cura espontáneamente entre dos y ocho semanas. La fase secundaria o estadio diseminado comienza al cabo de dos a 12 semanas después del contacto. Se caracteriza por manifestaciones parenquimatosas, constitucionales y mucocutáneas. Es posible demostrar la presencia de treponemas en la sangre y otros tejidos, como la piel y los ganglios linfáticos.

Tras la sífilis secundaria, el paciente entra en un periodo latente durante el cual el diagnóstico sólo se puede hacer mediante pruebas serológicas. Este periodo se divide, a su vez, en latente precoz y latente tardío. La recaída de una sífilis secundaria es más probable en esta fase precoz y se produce como consecuencia de una disfunción inmunológica. La sífilis tardía se refiere a la aparición de manifestaciones clínicas, aparentes o inaparentes, que se desarrollan en más de un tercio de los pacientes no tratados, y cuyo sustrato anatomopatológico son las alteraciones en los *vasa vasorum* que dan lugar a las características lesiones llamadas gomas.

Las manifestaciones clínicas de la sífilis son distintas según la fase en que nos encontremos. (1). Cabe destacar la afectación del sistema nervioso central o neurosífilis, cuyo diagnóstico en ocasiones es más complejo ya que se puede manifestar de forma asintomática, presentando tan solo anormalidades en el líquido cefalorraquídeo. La neurosífilis en muchas ocasiones supone un reto diagnóstico, precisando ampliar el diagnóstico diferencial con otras patologías tales como la tuberculosis con afectación del sistema nervioso central, infecciones fúngicas, tumores, hematoma subdural, alcoholismo crónico,.. así como un reto terapéutico, precisando esquemas de tratamiento distintos al resto de formas clínicas

## **Diagnóstico microbiológico:**

El diagnóstico de sífilis microbiológico se realiza a través de pruebas directas (la identificación *del T. Pallidum* mediante examen directo del exudado de la lesión) e indirectas o serológicas. Estas últimas se clasifican en pruebas treponémicas y no treponémicas:

- Pruebas treponémicas
  - (V.D.R.L. (Venereal Research Disease Laboratory).
  - R.P.R. (Rapid Plasma Reagin).
  - U.S.R. (Unheated Serum Reagin).
  - E.L.I.S.A.
  
- Pruebas no treponémicas:
  - FTA-ABS 200 DS. (Inmunofluorescencia indirecta con absorción y doble tinción).
  - TPHA. (Microhemaglutinación).
  - CaptiaSyphilis M. (ELISA de captura anti cadena pesada
  - ELISA IgG.
  - FTA-ABS 19S IgM.
  - FTA-ABS LCR.
  - Western blot.

En cuanto al estudio microbiológico en LCR, es esencial en los pacientes con signos y síntomas neurológicos y se recomienda también en aquéllos con sífilis no tratada de duración desconocida o mayor de un año. Los parámetros biológicos de actividad son(1): pleocitosis de >5 células/ $\mu$ l, proteinorraquia superior a 45 mg/dl y VDRL positivo

La demostración de anticuerpos específicos treponémicos en el LCR ayuda al diagnóstico:

- el diagnóstico de neurosífilis no puede ser hecho sin una prueba treponémica específica, excepto si existe una inmunodepresión grave
- una prueba VDRL positiva en LCR indica una neurosífilis activa
- la amplificación mediante una técnica de PCR positiva también establece el diagnóstico
- cualquier anormalidad en el LCR con manifestaciones clínicas compatibles sugiere una neurosífilis activa
- la presencia de anticuerpos anti-treponémicos en el LCR es muy sugestiva de este diagnóstico.

Las pruebas serológicas para la neurosífilis han evolucionado a lo largo del tiempo. El VDRL tiene alta especificidad, pero es poco sensible. La sensibilidad es elevada en la sífilis meningovascular y en la parálisis general progresiva, pero baja en la neurosífilis asintomática y en los cuadros de tabes dorsal. Es la única prueba normalizada para ser utilizada en LCR.

Un resultado negativo de la prueba de FTA-Abs u otra prueba treponémica en suero descarta una neurosífilis.

La PCR y el *immunoblot* de IgM son específicas y sensibles, pero la mayor experiencia ha sido con el índice de anticuerpos intratecales frente a *T. pallidum* (ITPA):

$$\text{ITPA} = \frac{\text{TPHA LCR} \times \text{IgG en suero}}{\text{TPHA en suero} \times \text{IgG en LCR}}$$

Cuando la barrera hematoencefálica está intacta (relación de seroalbúmina/LCR >144), un índice mayor o igual a 3 denota la producción de anticuerpos locales. Si el paciente es tratado en fases tempranas este índice retorna a la normalidad pero, si se administra el tratamiento tardíamente, se mantiene alterado incluso después de dos años.

## Tratamiento

Durante muchos años se ha tenido a la penicilina benzatina como tratamiento de elección, excepto en el caso de una invasión del LCR (se han aislado treponemas en

LCR de pacientes conchancro primario, lo que refleja la espiroquetorraquia). Por lo tanto, el tratamiento actual de la sífilis con una combinación antibiótica o un régimen prolongado asegura que esta secuela, la más importante de la sífilis, no ocurra (1,14,15). Esto es especialmente importante en los pacientes inmunodeprimidos, como es el caso de los pacientes a los que va dirigido el estudio)

#### Sífilis temprana (primaria, secundaria)

- Penicilina G benzatina 2.400.000 UI intramuscular por semana en 3 dosis.
- Doxiciclina, 100 mg oral, 21 d.
- Otros: amoxicilina + probenecid, ceftriaxona, penicilina G procaína + probenecid.
- En los alérgicos a la penicilina: doxiciclina o eritromicina.

#### Sífilis tardía y neurosífilis

- Penicilina G sódica .
- Otros: amoxicilina + probenecid, doxiciclina, ceftriaxona y penicilina G procaína + probenecid.
- En los alérgicos a la penicilina se recomienda la desensibilización y el tratamiento con penicilina y, como alternativa el cloranfenicol.

#### **Situación actual y relación con VIH:**

En 1937 el cirujano estadounidense Thomas Parran estimó que aproximadamente un 10% de los americanos se infectarían de sífilis a lo largo de sus vidas. Las tasas de sífilis primaria y secundaria han ido disminuyendo con el desarrollo de controles de Salud Pública y el descubrimiento de la penicilina (18). Desde la segunda mitad del Siglo XX existe un incremento de casos de sífilis en distintas ciudades europeas y norteamericanas, este aumento se debe especialmente a la población de hombres que tienen sexo con hombres (HSH) (16). Poco a poco, tras el auge inicial del SIDA, con la adquisición de prácticas sexuales más seguras, se aprecia un discreto descenso en esta tendencia, apareciendo paralelamente un incremento en los heterosexuales, reflejado en

la frecuencia de infección en mujeres y neonatos. Así, en 1995 la OMS estimaba que la incidencia mundial de la sífilis venérea era del 0,4% (12 millones de casos) y la prevalencia del 1%<sup>(1)</sup>.

Sin embargo en los últimos quince años se ha documentado un repunte de la sífilis en Europa y Norte América, especialmente en HSH<sup>(17, 20, 21, 22, 23, 24)</sup>. En 2005 la tasa de sífilis primaria y secundaria aumentó a 3 casos por cada 100.000 habitantes, representando un aumento significativo en el número de casos reportados, de 5.976 a 8.724, de los cuales el 86% fueron en hombres. Este aumento de la proporción de hombres respecto a mujeres es un reflejo del resurgimiento de esta enfermedad en HSH (que representaban hasta el 65% de los casos registrados de sífilis primaria y secundaria) <sup>(3, 18, 27, 30)</sup>. En España Según los datos de la notificación numérica del Centro Nacional de Epidemiología Carlos III en 2014 se declararon en total 3.568 casos de sífilis, lo que supone una incidencia de 7,68 casos por 100.000 habitantes. La incidencia anual de sífilis ha experimentado un ascenso entre 2008 y 2014 <sup>(33)</sup>. Las razones de este cambio de tendencia parecen complejas, y en ellas tendrían especial importancia factores como el exceso de confianza o la falsa seguridad proporcionada por la toma de antiretrovirales, pero incluirían movimientos migratorios, contactos entre distintos grupos poblacionales, cambios de comportamientos de riesgo, uso de drogas diversas (como el cristal de metanfetamina y otras drogas para el tratamiento de la disfunción eréctil) y disminución de las prácticas sexuales seguras en HSH coincidiendo con la introducción del tratamiento antirretroviral (TAR) <sup>(16)</sup>.

Resulta preocupante que una proporción elevada de ellos presente también infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH). Teniendo en cuenta que la principal forma de transmisión tanto de la sífilis como del VIH es la sexual, no es de extrañar que una cierta proporción de personas, que variará según la prevalencia de ambas infecciones, esté coinfectada. Además existen estudios que avalan que la frecuencia de sífilis en pacientes VIH está infraestimada y que este grupo debería seguir un algoritmo de screening diagnóstico diferente <sup>(2, 27)</sup>.

Las interacciones entre la sífilis y la infección VIH no está totalmente documentada. Se sabe que las lesiones genitales de la sífilis primaria (chancro) facilitan el riesgo de transmisión del VIH, y que la existencia de coinfección podría interferir en el curso natural de la sífilis y la respuesta al tratamiento <sup>(29, 31)</sup>. Algunos estudios previos han

encontrado gran cantidad de fallos serológicos tras el tratamiento, y un aumento de las complicaciones entre pacientes HSH VIH positivo (3, 4, 5, 32). Se han descrito algunas particularidades en las manifestaciones clínicas de la sífilis en los pacientes VIH, como por ejemplo una menor frecuencia de síntomas en la sífilis primaria, mayor agresividad de las formas secundarias, mayor incidencia de neurosífilis, mayor frecuencia de serologías falsamente negativas y de persistencia de resultados positivos, o de fallos de tratamiento (20, 28) .

Múltiples estudios han examinado el efecto de la infección sifilítica en la carga viral y el recuento de CD4 en la era post TARV (6, 7, 8, 9, 10, 11, 12) pero existen resultados contradictorios respecto al mismo, probablemente debido a que muchos de estos estudios no tenían un tamaño muestral suficiente, existían deficiencias en el seguimiento de los pacientes o no tenían en cuenta el efecto de la TARV. Es importante por lo tanto realizar nuevos estudios que relacionen la posible interacción entre la infección VIH, TARV y coinfección sifilítica en la evolución clínica, serológica y terapéutica de estos pacientes que permitan crear algoritmos de screening y tratamiento de la sífilis para esta población (coinfectados).(16, 18, 20).

En el año 2003, el Instituto de Salud Carlos III, organismo antes dependiente del Ministerio de Sanidad y en la actualidad del Ministerio de Ciencia e Innovación, creó una serie de Redes de Investigación de Excelencia en materia de sanidad con la cofinanciación del Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). En este contexto, se creó la Red Española de Investigación en Sida (RIS). RIS es una estructura coordinada y organizada para la investigación en VIH/sida cuyo objetivo es garantizar una investigación multidisciplinar en materia de VIH/sida de gran calidad así como incentivar la mejora continua en los resultados del Sistema Nacional de Salud a través de la cooperación entre los distintos grupos de calidad ya existentes y los emergentes, dentro de las instituciones de las diferentes comunidades autónomas del país. En el marco de RIS, se creó una cohorte prospectiva multicéntrica de pacientes VIH-positivos sin tratamiento antirretroviral previo, asociada a un repositorio de muestras biológicas (Biobanco) (35). La existencia de esta plataforma nos permite ampliar el tamaño de la población de estudio, y nos permite contestar nuevas preguntas de investigación de

grupos de investigación epidemiológica, clínica y básica como en nuestro proyecto, que busca analizar el efecto de la TAR en la evolución clínica y serológica de la sífilis.

### **3. OBJETIVOS**

#### **a. OBJETIVO PRINCIPAL**

Evaluar la respuesta al tratamiento en pacientes con infección por VIH que presentan sífilis con diagnóstico de sífilis primaria, secundaria y latente durante el año 2018.

#### **b. OBJETIVOS SECUNDARIOS**

1. Evaluar la tasa de incidencia y la seroprevalencia de la sífilis en los pacientes con infección por VIH.
  
2. Describir la frecuencia de las diferentes manifestaciones clínicas de la sífilis en los pacientes VIH.
  - a. Estudiar la frecuencia de aparición de neurosífilis, manifestaciones clínicas, evolución de estos pacientes y factores asociados.
  
  - b. Estudiar la frecuencia de punciones lumbares realizadas, evaluar sus indicaciones y calcular la proporción de líquidos positivos.

### **4. HIPOTESIS DEL ESTUDIO:**

Existe una elevada tasa de incidencia de sífilis entre los pacientes con infección por VIH, y en este grupo de pacientes el diagnóstico clínico y serológico, así como la respuesta al tratamiento puede ser diferente a la población no VIH. La mayoría de los pacientes con infección por VIH y sífilis primaria/secundaria/latente tienen una tasa de respuesta elevada al tratamiento pero se desconoce la evolución tanto clínica como serológica de los pacientes que no responden al tratamiento y cuáles son los factores asociados a esta falta de respuesta.

### **3. METODOLOGÍA**

#### **5.1 DISEÑO**

Para la realización de nuestro estudio contaremos con los datos recogidos por la Cohorte de la Red de Investigación del SIDA (CoRIS). CoRIS es una cohorte abierta, prospectiva, y multicéntrica de pacientes adultos con infección por el VIH confirmada, naïves al inicio del estudio a tratamiento antirretroviral, y que son reclutados en Unidades de Atención del VIH de centros públicos desde el año 2003. El centro en el que desarrollamos nuestra actividad clínica e investigadora, en Hospital General Reina Sofía de Murcia forma parte de esta Red de Investigación desde el año 2003.

Esta cohorte está asociada a un repositorio de muestras biológicas (Biobanco). Integran la cohorte todos los centros que manifestaron su interés en participar, en su gran mayoría forman parte de la RIS, que contaban con una unidad centralizada de atención de pacientes VIH y que tenían la capacidad necesaria para el manejo de muestras biológicas y de información clínica.

Actualmente participan 43 centros hospitalarios públicos y una clínica de VIH/ITS - de 13 de las 17 comunidades autónomas de España, abarcando la mayor parte de España y sin duda las áreas con mayor prevalencia de VIH/sida según el Sistema de Vigilancia Nacional. La inclusión de nuevos pacientes permanece abierta. Cada centro participante incluye en la cohorte todos los pacientes atendidos por primera vez en el centro, después de la inclusión del centro en el estudio, y que cumplen los siguientes criterios: mayor de 13 años de edad, con un diagnóstico de VIH confirmado, y naïve al tratamiento antirretroviral. Es obligatorio que firmen un consentimiento (35).

#### **5.2 POBLACIÓN A ESTUDIO**

##### **a. Criterios de inclusión:**

Se incluirán consecutivamente a pacientes con nuevo diagnóstico de Sífilis primaria, secundaria o latente, o con serología lués positiva incluidos en la cohorte CoRIS desde

el 1 de Enero de 2018 al 31 de Diciembre de 2018, que acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento informado.

**b. Criterios de exclusión:**

Todos aquellos pacientes que no cumplan los criterios de inclusión.

**c. Numero de sujetos previsto**

Para el cálculo del tamaño muestral, se ha tenido en cuenta el objetivo principal del estudio, es decir el tiempo hasta la curación de los pacientes. Por estudios previos, la proporción que se espera de curación es aproximadamente del 70-85%, por lo que para un nivel confianza del 95%, una precisión del 5%, se precisan reclutar 164 pacientes

### **5.3 VARIABLES**

- a. **Variable principal: Respuesta al tratamiento:** Curación, tiempo hasta fracaso serológico y recidiva. El tiempo depende de que se trate una sífilis primaria o secundaria, o latente (35).
  - i. Curación serológica: disminución del título del RPR de 2 diluciones (4 veces) en los casos de serología no treponémica positiva en los 12 meses posteriores tras el diagnóstico de sífilis primaria o secundaria, o 24 meses en el caso de sífilis latente.
  - ii. Recidiva: recurrencia de los síntomas/signos de sífilis o aumento de 2 diluciones (4 veces) los títulos serológicos desde el inicio del tratamiento tras una respuesta serológica previa correcta en los meses posteriores tras el diagnóstico de sífilis primaria o secundaria, o 24 meses en el caso de sífilis latente.
  - iii. Fallo de tratamiento: cuando a los 12 meses posteriores al diagnóstico de sífilis primaria/secundaria o latente persisten los

síntomas de sífilis primaria/secundaria o no ha habido un descenso de al menos dos diluciones (4 títulos) tras el diagnóstico inicial.

**b. Variables secundarias**

**a. Variables de confusión o modificadoras de efecto:**

- i. Sexo
- ii. Edad
- iii. Categoría de transmisión: sexual, congénita, otros.
- iv. Coinfección otras ETS
- v. Hábitos sexuales: Heterosexual, HSH, bisexual
- vi. Prácticas de riesgo:
  1. Usuarios de drogas (vasodilatadoras,...)
  2. Ejercicio o usuario de prostitución
  3. Relaciones sexuales sin protección
  4. Número parejas sexuales último año
- vii. Lugar de procedencia
- viii. Valores de CD4 y carga viral al inicio de TAR
- ix. Cociente CD4/CD8 y Nadir CD4
- x. Diagnóstico de SIDA
- xi. Año de inicio de TAR
- xii.** Tipo de pauta TAR : Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos/nucleótidos (ITIAN), inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de nucleósidos (ITINN), inhibidores de la

proteasa (IP), inhibidores de la integrasa y antagonistas del receptor CCR5 (ICCR5).

**b. Realización de punción lumbar.**

**c. Incidencia y prevalencia sífilis**

#### **5.4 VARIABLES SEROLÓGICAS A MONITORIZAR:**

- **Pruebas no treponémicas:**

Todas ellas se basan en antígenos compuestos de soluciones alcohólicas con cantidades predeterminadas de cardiolipinas, colesterol y lecitinas. Miden simultáneamente inmunoglobulinas IgG e IgM frente a estas sustancias que son producidas en los tejidos dañados por el treponema o por otras enfermedades. Puesto que no miden anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* su positividad no asegura la enfermedad sífilítica (36).

Falsos negativos: Todas las pruebas no treponémicas pueden presentar fenómenos de prozona - falsos negativos - cuando las muestras son fuertemente reactivas, por lo que es conveniente titularlas siempre. Esto es especialmente cierto cuando la prueba se realiza con muestra no diluida y con un procedimiento incorrecto. La temperatura de los reactivos es igualmente importantísima en relación con la sensibilidad. También puede obtenerse un resultado negativo en las fases muy tempranas del período primario, incluso cuando la visualización de los treponemas es positiva.

Falsos positivos: no superan por lo general los títulos de 1/4 y pueden ser transitorios o permanentes según persistan o no más de seis meses. Las muestras hemolizadas o lipémicas pueden producir también este tipo de resultados.

La prueba RPR tiende a dar títulos más elevados que la prueba VDRL. Cuando se emplean para estudiar poblaciones todos los sueros reactivos deberán confirmarse con una prueba treponémica. La sensibilidad de estas pruebas para los periodos primario, secundario, latente y tardío varían.

Las pruebas reagínicas son fundamentales para evaluar la eficacia de los tratamientos. Si es eficaz los títulos deberán disminuir significativamente (hasta 8 veces) durante los 6-12 meses siguientes a su inicio. Suele persistir reactividad a títulos muy bajos o en suero no diluida.

Si el tratamiento se inicia en estadios latentes o tardíos lo habitual es conseguir una disminución de los títulos, de forma muy lenta, y sólo en un 25-40 % de los pacientes. En el resto, la persistencia de la seropositividad no indica ni fallo del tratamiento ni reinfección.

- V.D.R.L. (*Venereal Research Disease Laboratory*). Únicamente puede emplearse con suero; es un antígeno no particulado. La reacción que se obtiene con la muestra positiva es de floculación. Lectura microscópica. Es la única prueba útil para diagnóstico de la neurosífilis ya que está validada para la detección de anticuerpos no treponémicos en LCR.
- R.P.R. (*Rapid Plasma Reagin*). Puede emplearse con suero y plasma. Es un antígeno con partículas de carbón.
- TRUST. (*Toluidine Red Unheated Serum Test*). Puede realizarse con suero o plasma. Es el mismo antígeno del VDRL con partículas coloreadas con rojo de toluidina.
- U.S.R. (*Unheated Serum Reagin*). Puede emplearse con suero. El antígeno no es particulado y la reacción es de floculación. Lectura microscópica.

- E.L.I.S.A. Se emplea con suero. Utiliza en la fase sólida antígenos del tipo VDRL.

- **Pruebas treponémicas:**

Estas pruebas se utilizaron principalmente para confirmar los resultados positivos obtenidos con las pruebas reagínicas. Producen escasos falsos positivos, un 1% FTA-ABS y muy pocos TPHA. Este hecho puede presentarse especialmente en la mononucleosis, lepra, enfermedades del colágeno, borreliosis y otras treponematoses patógenas, así como en los adictos a drogas por vía parenteral. No son útiles para seguir los tratamientos, ya que suelen permanecer positivas en el 85-90% de los pacientes tratados y curados(36).

- FTA-ABS 200 DS. (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción y doble tinción*). Utiliza el mismo antígeno y absorbente que en la prueba anterior y puede llevarse a cabo sobre el mismo tipo de muestras. Emplea como antisuero una IgG marcada con isotiocianato de tetrametil rodamina y como contraste un suero antitreponema marcado con isotiocianato de fluoresceína. Para el diagnóstico de la neurosífilis se acepta que una prueba FTA-ABS negativa en muestra de LCR, probablemente más sensible que VDRL en este periodo, descarta la enfermedad
- TPHA. (*Microhemaglutinación*). Solo homologada para suero. Utiliza eritrocitos sensibilizados con antígenos de Treponema cepa Nichols y absorbente de cepa Reiter.
- CaptiaSyphilis M. (*ELISA de captura anti cadena pesada*). Se realiza en suero. Su mayor utilidad se centra en el diagnóstico de la sífilis congénita, sobretodo la sintomática. Parece ser la prueba con mayor sensibilidad para la detección de esta clase de inmunoglobulina.
- ELISA IgG. Para utilizar con suero. Existen muchos estudios que demuestran su alta sensibilidad y especificidad.

- FTA-ABS 19S IgM. Para suero. Poca sensibilidad.
- FTA-ABS LCR. Utilizar LCR diluido a 1/5
- Western blot. Debe utilizarse como prueba de confirmación.

### **5.5 RECOGIDA DE DATOS:**

Una vez diagnosticado de sífilis, se hará un seguimiento evolutivo en consulta cada tres meses durante un año. La actualización de los datos recogidos en el CoRIS se realiza anualmente.

Se diseñó una aplicación informática para recoger la información de la cohorte, pero dado que en nueve de los centros esta información estaba registrada en otros formatos electrónicos, se habilitaron procedimientos informáticos de conversión entre ambos formatos.

Los centros que integran la cohorte envían al centro coordinador toda la información de los pacientes incluidos desde la primera a la última visita de seguimiento. El centro coordinador realiza un exhaustivo control de calidad interno, envía a los centros un informe con los resultados y estos reenvían la información después de la depuración y/o confirmación de los datos consultados. Cuando el centro coordinador dispone de la información depurada de todos los centros, genera una base de datos única y posteriormente comprueba y liga los registros duplicados.

Esta base de datos se utiliza para los análisis estadísticos y se envía a las colaboraciones internacionales en el formato solicitado. Una agencia especializada realiza una auditoría externa de la cohorte, verificando que la información que consta en la base de datos es concordante con la historia clínica del paciente. Esta auditoría se realiza cada dos años en el 10% de los sujetos (35).

En el CoRIS el seguimiento de cada paciente finaliza cuando se produce el fallecimiento o el cambio definitivo de centro asistencial a otro que no es CoRIS y que

no puede proporcionar el seguimiento. En nuestro estudio, el seguimiento finalizaría al año de seguimiento tras el diagnóstico de sífilis.

## **5.6 ANÁLISIS DE DATOS**

A cada paciente se le asigna un identificador unívoco formado por las iniciales de su nombre y apellidos, la fecha de nacimiento y el sexo.

La información de los sujetos se recoge mediante dos cuestionarios estructurados, uno a la entrada en la cohorte y el otro para las visitas de seguimiento. Aparte de la recogida de información a través de los cuestionarios descritos, se están implementando nuevas estrategias de recogida de información, como entrevistas telefónicas asistidas, para recopilar datos sobre el alcohol, el tabaquismo y el uso de otras drogas(35).

Dentro del CoRIS existen módulos sobre áreas concretas, como sobre los eventos no Sida, en el que se incluye información sobre episodios de cáncer e infecciones no definitorias de Sida, enfermedades cardiovasculares, metabólicas, renales, hepáticas eventos óseos y eventos psiquiátricos. En este módulo se recoge el tipo de evento dentro de un grupo (es decir, infarto agudo de miocardio, accidentes cerebro-vasculares, etc.), la frecuencia de eventos y algunas características clave de cada uno de ellos. Dentro de este módulo (eventos no Sida), nuestro estudio se centraría en las infecciones de transmisión sexual, concretamente en la sífilis manifestaciones clínicas y resultados serológicos de las pruebas treponémicas y no treponémicas así como respuesta al tratamiento (35).

En nuestro estudio se incluirían tanto variables generales (incluidas al diagnóstico inicial de VIH y en las visitas posteriores rutinarias) como variables específicas para el estudio de la infección de sífilis (variables clínicas y serológicas y de respuesta al tratamiento una vez confirmado el diagnóstico de sífilis).

## VARIABLES GENERALES

### VARIABLES SOCIODEMOGRÁFICAS

	INGRESO	SEGUIMIENTO
Sexo	X	
Fecha de nacimiento	X	
Lugar de origen	X	
Nivel de estudios	X	

### VARIABLES EPIDEMIOLÓGICAS

Mecanismo probable infección	X	
Fecha del primer resultado VIH positivo referido por el paciente	X	
Fecha del primer resultado VIH documentado por el centro sanitario	X	
Fecha del primer resultado VIH positivo en centro de reclutamiento	X	
Fecha del último resultado VIH negativo documentado	X	

### VARIABLES CLÍNICAS

Estadío clínico (CDC 1993)	X	X
Enfermedad definitoria de SIDA	X	X

### VARIABLES ANALÍTICAS

Recuento CD4 (número y porcentaje)	X	X
Carga viral	X	X
Serología de hepatitis B y C	X	X
Sífilis	X	X
TBC	X	X

### VARIABLES TERAPÉUTICAS

Pauta de tratamiento antirretroviral	X	X
Causa de cambio en pauta de tratamiento	X	X
Profilaxis Tuberculosis	X	X
Vacuna de la Hepatitis B y Neumococo	X	X

### VARIABLES FIN DE SEGUIMIENTO

Fecha y motivo	X	X
Causa de muerte	X	X

#### VARIABLES MUESTRA DE SANGRE

X	X
---	---

#### VARIABLES COINFECCIÓN

Manifestaciones clínicas de sífilis primaria, secundaria o latente.		X
Hábitos sexuales		X
Prácticas de riesgo		X
Aparición de otras ETS		X
evolución serológica		X
Punción lumbar		X
Respuesta al tratamiento		X

#### **Biobanco**

Se recogen muestras de sangre de todos los sujetos que han firmado el formulario específico de consentimiento informado, y estas se almacenan de forma centralizada en el Biobanco.

Se recoge una muestra basal antes del inicio del tratamiento antirretroviral y una muestra anual o cada dos años a partir de entonces. El Biobanco se encuentra en el Hospital Gregorio Marañón de Madrid y ha obtenido la certificación de calidad UNEEN- ISO 9001.

Las muestras de sangre son procesadas para obtener los distintos componentes (suero, plasma, tejidos sólidos o líquidos, ADN, ARN, pellets celular, CMSP para estudios fisiológicos) y son criopreservadas.

#### **Cruce con el registro de muerte**

En 2008, se estableció un acuerdo institucional con el Instituto Nacional de Estadística para obtener las causas de muerte de los sujetos fallecidos en CoRIS, codificadas según la décima Clasificación Internacional de Enfermedades (35).

### **5.7 DIFICULTADES Y LIMITACIONES:**

La principal limitación de este estudio sería el tamaño muestral, que abarca la población VIH en seguimiento por el CoRIs. En total sumarían 43 centros hospitalarios y para el correcto desarrollo del estudio es imprescindible la coordinación de todos estos centros. Además, aunque existen datos clínicos y serológicos sobre los pacientes VIH infectados por sífilis desde el inicio de la cohorte (2003), nuestro estudio sería prospectivo e incluiría una serie de variables no establecidas previamente en las variables generales (*ver variables coinfección* en apartado análisis de datos). La amplitud del tamaño muestral podría interferir en el seguimiento, ya que todos los pacientes incluidos en la cohorte con el diagnóstico de sífilis durante el año 2018, deberán realizar revisiones cada tres meses, y esto depende del investigador/clínico del centro colaborador asociado. Además, el proyecto de investigación tendría una duración total de dos años (se incluirían los pacientes diagnosticados durante el año 2018, y el seguimiento en consulta durante los doce meses posteriores).

En el diagnóstico de sífilis es crucial tener una alta sospecha clínica e incluirla en el diagnóstico diferencial de estos pacientes, ya que no es raro que los pacientes se diagnostiquen en fases evolucionadas. Por lo tanto una correcta anamnesis, el examen clínico minucioso y el uso de pruebas serológicas resultan clave para el diagnóstico. La elaboración de una batería clínica y analítica para el seguimiento de estos pacientes, facilitaría el diagnóstico, que en muchos casos, es complicado.

Respecto a la salud pública, debe replantearse el resurgimiento de las ITS y reforzar, entre otros dispositivos, los centros de ITS, a la vez que se realicen intervenciones dirigidas a grupos de riesgo (20). La creación y ampliación de estos centros facilitaría el estudio de la coinfección de estas enfermedades de transmisión sexual, y la elaboración de nuevos algoritmos de screening y de diagnóstico y tratamiento individuales y poblacionales para este grupo de pacientes. El desarrollo de un módulo dentro de la cohorte CoRIS dedicada al estudio de las ITS, al igual que existen módulos dedicados a otros áreas de igual relevancia en el estudio del VIH, podría suponer un gran avance en la investigación del resurgimiento de las ITS, con importantes repercusiones tanto clínicas como epidemiológicas.

## **6. PLAN DE TRABAJO:**

Para la realización de dicho proyecto es necesario obtener los datos procedentes del CoRIS, previa realización del documento de solicitud de los mismos, tras la aceptación del Comité de la cohorte y los centros que forman parte del mismo.

Se trataría de un estudio observacional prospectivo con componentes analíticos, que incluiría todos los pacientes VIH que desarrollan infección de sífilis durante el año 2018, y su seguimiento durante los 12 meses posteriores. A estos pacientes, una vez confirmada la infección treponémica se les hará un seguimiento clínico y serológico en los meses posteriores, cada tres meses (cuatro revisiones en total a lo largo del año que dura el estudio), en el que se incluirían tanto variables generales como variables específicas para el estudio de la sífilis.

Los resultados obtenidos se incluirían en los datos recogidos en la cohorte del CoRIS y a través del análisis estadístico, podremos analizar la evolución clínica y serológica y la tasa de respuesta al tratamiento de los pacientes infectados, y comparar estos resultados obtenidos con estudios similares sobre población no VIH.

## **8. ANALÍISIS ESTADÍSTICO**

Las variables cualitativas se expresarán como número (porcentaje) y las cuantitativas se expresarán como media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartílico). Para evaluar el tiempo hasta fracaso terapéutico, recidiva o pérdida de seguimiento se realizará un análisis de supervivencia (método de Kaplan Meier) y para determinar los factores asociados con este fracaso se realizará una regresión de Cox. Para evaluar si existen diferencias entre variables cualitativas se usará la prueba de la Chi cuadrado o Exacta de Fisher según procediera. Para evaluar las diferencias entre grupos y variables cuantitativas se usará la prueba T de Student o U de Mann-Whitney dependiendo de si la variable cuantitativa tiene o no tiene una distribución normal. Se considerará significativo si la  $p < 0.05$ . Para realizar el análisis estadístico se utilizará el paquete estadístico SPSS versión 24

## **9. ASPECTOS LEGALES**

Todos los comités éticos de investigación de cada centro asistencial han autorizado su participación en CoRIS.

Todos los sujetos incluidos deben de firmar un formulario de consentimiento informado para participar en el estudio, bajo lapremisa de que los datos son anónimos y que las personas pueden revocar el consentimiento en cualquier momento, de conformidad con la Ley Española de Protección de Datos.

En el caso de los pacientes que cumplen criterios de inclusión pero que fallecen antes de poderles solicitar su consentimiento, se recoge un conjunto mínimo de datos.

Existen dos consentimientos, uno para proporcionar datos a la cohorte, y otro para proporcionar datos genéticos. Los consentimientos han sido traducidos al inglés y francés para fomentar la participación de las personas que no hablan español (35).

## **10. APLICABILIDAD Y UTILIDAD PRÁCTICA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS O PREVISIBLES**

Teniendo en cuenta el auge epidemiológico de las enfermedades de transmisión sexual, especialmente en HSH, parece importante estudiar el efecto de la coinfección sífilis y VIH, ya que tanto las manifestaciones clínicas, como la evolución serológica y respuesta al tratamiento en este grupo de pacientes podrían ser distintas a las descritas en población no VIH, por lo que sería conveniente realizar programas de cribado y esquemas diagnósticos y terapéuticos diferentes a los de la población general.

## **11. BIBLIOGRAFÍA**

1. López-Hontangas JL, y Frasset Artes J. Servicio de Microbiología. Hospital La Fe. Valencia. Sífilis: una revisión actual. Control de Calidad de SEIMF.
2. Chen B, Peng X, Xie T, Jin C, Liu F, Wu N. The traditional algorithm approach underestimates the prevalence of serodiagnosis of syphilis in HIV-infected individuals. *PLoS Negl Trop Dis*. 2017 Jul 20;11(7):e0005758. doi: 0.1371/journal.pntd.0005758. eCollection 2017 Jul.
3. Zetola NM, Klausner JD. Syphilis and HIV infection: an update. *Clin Infect Dis*. 2007;44(9):1222-1228.
4. Marra CM, Maxwell CL, Smith SL, et al. Cerebrospinal fluid abnormalities in patients with syphilis: association with clinical and laboratory features, *J Infect Dis*, 2004, vol. 189 (pg. 369-76)
5. Schofer H, Imhof M, Thoma-Greber E, et al. Active syphilis in HIV infection: a multicentre retrospective survey. The German AIDS Study Group (GASG), *Genitourin Med*, 1996, vol. 72 (pg. 176-81)
6. Palacios R, Jimenez-Onate F, Aguilar M, et al. Impact of syphilis infection on HIV viral load and CD4 cell counts in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2007;44(3):356-359
7. González-López JJ, Guerrero ML, Luján R, Tostado SF, de Górgolas M, Requena L. Factors determining serologic response to treatment in patients with syphilis. *Clin Infect Dis*. 2009 Nov 15;49(10):1505-11.
8. Ganesan A, Fieberg A, Agan BK, Lalani T, Landrum ML, Wortmann G, Crum-Cianflone NF, Lifson AR, Macalino G; Infectious Disease Clinical Research Program HIV Working Group. Results of a 25-year longitudinal analysis of the serologic incidence of syphilis in a cohort of HIV-infected patients with unrestricted access to care. *Sex Transm Dis*. 2012 Jun;39(6):440-8.
9. Jarzebowski W, Caumes E, Dupin N, Farhi D, Lascaux AS, Piketty C, de Truchis P, Bouldouyre MA, Derradji O, Pacanowski J, Costagliola D, Grabar S; for the FHDH-ANRS CO4 Study Team. Effect of Early Syphilis Infection on Plasma Viral Load and CD4 Cell Count in Human Immunodeficiency Virus-Infected Men: Results From the FHDH-ANRS CO4 Cohort. *Arch Intern Med*. 2012 Jul 23;172(14):1071-7. *PLoS One*. 2011;6(8):e22768. Epub 2011 Aug 15.

10. Sadiq ST, McSorley J, Copas AJ, et al. The effects of early syphilis on CD4 counts and HIV-1 RNA viral loads in blood and semen. *Sex Transm Infect.* 2005;81(5):380-385.
11. Buchacz K, Patel P, Taylor M, et al. Syphilis increases HIV viral load and decreases CD4 cell counts in HIV-infected patients with new syphilis infections. *AIDS.* 2004;18(15):2075-2079.
12. Kofoed K, Gerstoft J, Mathiesen LR, Benfield T. Syphilis and human immunodeficiency virus (HIV)-1 coinfection: influence on CD4 T-cell count, HIV-1 viral load, and treatment response. *Sex Transm Dis.* 2006;33(3):143-148.
13. Palacios Munoz R, de la Fuente Aguado J, MurillasAngoiti J, Nogueira Coito JM, Santos González J. Syphilis and HIV infection. *EnfermInfeccMicrobiolClin.* 2006;24Suppl 2: 34---9.
14. Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potocnik M, et al. 2014 European Guideline on the Management of Syphilis. *European Academy of Dermatology and Venereology*; 2014.
15. Ghanem KG, Workowski KA. Management of Adult Syphilis. *CID.* 2011; 53(S3):S110-28
16. Gállego-Lezáun C, Arrizabalaga Asenjo M, González-Moreno J, Ferullo I, Teslev A, Fernández-Vaca V y Payeras Cifre A. Sífilis en hombres que tienen sexo con hombres: una alarma para la detección de infección por VIH. *Actas Dermosifiliogr.* 2015;106(9):740---745
17. Marcus U, Kollan C, Bremer V, Hamouda O (2005) Relation between the HIV and the re-emerging syphilis epidemic among MSM in Germany: an analysis based on anonymous surveillance data. *Sex Transm Infect* 81: 456–457.
18. Golden MR, Marra CM, Holmes KK. Update on syphilis: resurgence of an old problem, *JAMA*, 2003, vol. 290 (pg. 1510 - 4)
19. Scythes JB, Jones CM (2013) Syphilis in the AIDS era: diagnostic dilemma and therapeutic challenge. *Acta MicrobiolImmunolHung* 60: 93–116. pmid:23827743
20. Vall-Mayans M, Casals M, Vives A, Loureiro E, Armengol P, Sanz B. Reemergence of infectious syphilis among homosexual men and HIV coinfection in Barcelona, 2002-2003. *Med Clin (Barc).* 2006;126:94---6.
21. Menéndez B, Ballesteros J, Clavo P, del Romero J. Increase in syphilis and gonorrhoea among men who have sex with men in Madrid. *Med Clin (Barc).* 2005;125:756.

22. Vilar J, Dehesa L, Gómez-Duaso AJ, Bastida J, Rivero P, Domínguez-Silva J, et al. Epidemiological study of an epidemic outbreak of syphilis in Palmas de Gran Canaria. *Actas Dermosifiliogr*. 2007;98:466---9.
23. Ibarra V, Oteo JA. ¿Otra vez la sífilis? *MedClin (Barc)*. 2003;120:295-6
24. Syphilis: old problem, new strategy. *BMJ*. 2002;325:153-6.
25. Blank LJ, Rompalo AM, Erbeding EJ, Zenilman JM, Ghanem KG. Treatment of syphilis in HIV-infected subjects: a systematic review of the literature. *Sex Transm Infect*. 2011 Feb;87(1):9-16. Epub 2010 Oct 5.
26. Diaz A, Junquera ML, Esteban V, Martinez B, Pueyo I, Suarez J et al. HIV/STI co-infection among men who have sex with men in Spain. *Euro surveillance :bulletin Europeen sur les maladies transmissibles. EurCommunDis Bull*. 2009;14(48):19426.
27. Pialoux G, Vimont S, Moulignier A, Buteux M, Abraham B, Bonnard P. Effect of HIV infection on the course of syphilis. *AIDS Rev*. 2008;10:85---92.
28. Zetola NM, Bernstein KT, Wong E, Louie B, Klausner JD. Exploring the relationship between sexually transmitted diseases and HIV acquisition by using different study designs. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2009;50(5):546-551
29. Chow EP, Wilson DP, Zhang L. HIV and syphilis co-infection increasing among men who have sex with men in China: a systematic review and meta-analysis.
30. Reynolds SJ, Risbud AR, Shepherd ME, et al. High rates of syphilis among STI patients are contributing to the spread of HIV-1 in India. *Sex TransmInfect*. 2006; 82(2):121-126
31. Carlson JA, Dabiri G, Cribier B, Sell S (2011) Theimmunopathobiology of syphilis: the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *The American Journal of dermatopathology* 33: 433–460. pmid:21694502
32. Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III. Resultados de la vigilancia epidemiológica de las enfermedades transmisibles. Informe anual 2014. Madrid, 2016
33. Janier M, Hegyi V, Dupin N, Unemo M, Tiplica GS, Potocnik M, et al. 2014 European Guideline on the Management of Syphilis. *European Academy of Dermatology and Venereology*; 2014.
34. Sobrino-Vegas P, Gutiérrez F, Berenguer J, Labarga P, Federico García F, Belén Alejos-Ferreras B, Muñoz MA, Moreno S, del Amo J, CoRIS. The cohort of the Spanish hiv research network (coris) and its associated biobank; organizational

issues, main findings and losses to follow-up. *EnfermInfeccMicrobiolClin* 2011;29:645-53

35. Fuertes A. Diagnóstico serológico de la sífilis. *Control de Calidad de SEIMC*
36. Cherneskin T. Revisión y actualización del diagnóstico y tratamiento de la infección por sífilis. NYCPTC@health.nyc.gov

## ANEXO 1: CONSENTIMIENTO INFORMADO CORIS/BIOBANCO