

COMPARACIÓN DE CALIDAD DEL PAPEL DE FILTRO HAHNEMUEHLE 2992 CON EL SCHLEICHER & SCHUELL 903 EN LA CONSERVACIÓN DE LA SANGRE SECA PARA EL ESTUDIO POBLACIONAL DE ANTICUERPOS IGM E IGG DE LA SÍFILIS

COMPARISON OF QUALITY BETWEEN HAHNEMUEHLE 2992 AND SCHLEICHER & SCHUELL 903 FILTER PAPER, IN THE PRESERVATION OF DRIED BLOOD FOR THE POPULATION STUDY OF IGM AND IGG ANTIBODIES TO SYPHILIS

Juan F Bencomo Gómez¹, Antonio J W de Castro², Jordi Martí³, Sydney Prates⁴,
Marco Antonio O Appolinário⁵, Áquila Oliveira⁶

RESUMEN

Introducción: la alternativa para la colecta de las muestras de sangre en el papel de filtro (PF) muestra cada día mayor interés en los investigadores y asistentes de salud que buscan mejorar los programas de pesquiasaje masivo de la población. Muchos autores desde la apertura esta posibilidad en el siglo pasado iniciaron sus proyectos con la conservación de la muestra de sangre seca para estudios masivos neonatales. Desde los inicios desde siglo se han acrecentando los estudios y posibilidades para el uso de esta alternativa en busca de ampliar los estudios epidemiológicos de apoyo a la atención primaria de salud. **Objetivo:** valorar la calidad del papel de filtro (Hahnemuehle, 2992) para la colecta de muestras de sangre para el tamisaje de sífilis, como alternativa en la conservación de sangre seca en los laboratorios que usan esta alternativa y estrategia en los estudios de terreno. **Métodos:** fue realizado un diseño para el estudio comparativo de calidad entre el PF Schleicher & Schuell 903 que sirvió como patrón de oro y el PF Hahnemuehle 2992, para a coleta e almacenamiento de muestras de sangre para el estudio de anticuerpos totales (IgM e IgG) contra el *Treponema pallidum* con una técnica ELISA tipo Sándwich. Se compararon 140 señales de absorbancia del mismo número de muestras de mujeres embarazadas, previo consentimiento escrito, para registrar su semejanza estadísticamente según los procedimientos estadísticos del Test de Fisher y Student (Test T) con un valor de seguridad de $P > 0,05$. También se compararon los valores de absorbancia de los casos que resultaron positivos según el cutt off acertado para cada placa realizada y se calcularon los criterios de sensibilidad, especificidad y valor predictivo del universo total de 604 embarazadas incluidas en el estudio. **Resultados:** se encontró correspondencia entre los valores de especificidad, sensibilidad y valor predictivo positivo entre el procedimiento usando con los dos PF en el universo estudiado, así como los valores de $T = 0,344331$ para el análisis de comparación de medias entre la absorbancia obtenida con los dos PF para de $P < 0,001$. **Conclusión:** se concluye que la comparación del PF Hahnemuehle 2992 con el Schleicher & Schuell 903 para el estudio de muestras de sangre seca para la detección de anticuerpos totales del *Treponema pallidum* por ensayo ELISA es significativamente semejante y cuentan con la misma calidad.

Palabras claves: sífilis, papel de filtro, placas ELISA, DST

ABSTRACT

Introduction: the filter paper (dried blood spot DBS) as an alternative of blood sample collection shows an increased interest of scientific investigators and health assistants that search to improve massive research programs of the population. Since the opening of this possibility in the last century, many authors started their projects using dried blood spots for massive neonatal studies. Since the beginning of this century, studies and possibilities are being increased using this alternative, enlarging the epidemiologic studies that support basic care on health. **Objective:** to assess the filter paper quality (Hahnemuehle, 2992) for collecting blood samples for sifilis screening as an alternative to the conservation of dry blood in the laboratory using this alternative strategy and in camp studies. **Methods:** a design for a comparative study of quality between Schleicher and Schuell 903 paper used as golden standard- and Hahnemuehle 2992 paper was realized, for the collection and storage of dried blood for the totals antibodies (IgM and IgG) against the *Treponema pallidum* study, using ELISA assay (sandwich type). A hundred and forty (140) signals of absorbance of the same number of pregnant samples, with previous written consent, to register their similarity, using statistic procedures of the Test of Fisher and Student (test T) with a security value of $P > 0,05$. It was also compared the absorbance values of the positive cases (according a settled cut off for each plate) and sensitivity, specificity and predictive value criteria were calculated on a total of 604 pregnant of the study. **Results:** it was detected correspondence of sensitivity, specificity and positive predictive values, in the procedures using the two types of filter papers, as well as the value of $T = 0,344331$ for the analysis of the average comparison between the obtained absorbance with the two types to $P < 0,001$. **Conclusion:** it was concluded that Hahnemuehle 2992 filter paper compared with Schleicher and Schuell 903 shows significantly similar and have the same quality for the detection of totals antibodies *Treponema pallidum* of using ELISA test.

Keywords: syphilis, filter paper, ELISA plates, STD

INTRODUCCIÓN

El papel de filtro (PF) como alternativa para la colecta de las muestras de sangre, muestra cada día mayor interés en los investigadores y asistentes de salud que buscan mejorar los programas de pesquiasaje masivo de la población. Muchos autores desde el

siglo pasado, encontraron en esta oportunidad una fórmula para sus proyectos con la conservación de la muestra de sangre seca para estudios masivos neonatales¹⁻⁷. Desde los inicios desde siglo, fueron consolidados internacionalmente estos programas neonatales y se inició la expansión de esta opción pre-analítica para colecta para muestras biológicas, buscando ampliar los estudios epidemiológicos que apoyan la atención primaria de salud⁸⁻¹⁸.

Las enfermedades infecciosas han ocupado en estos últimos años en todo el mundo, un lugar preferencial debido a que muchas de ellas, han sido incluidas en el grupo de enfermedades emergentes¹⁹⁻²¹. En la lucha por minimizar la incidencia y prevalencia de estas enfermedades, especialmente aquellas que están ligadas a la

¹ Doctor en Ciencias Médicas. Coordinador de BioMarc Instituto Vital Brazil. Rio de Janeiro.

² Médico, Master em Ciências Médicas. Director Presidente del Instituto Vital Brazil.

³ Ingeniero Químico, IQS. Parc Científic de Barcelona. Barcelona. España.

⁴ Biólogo. BioMarc Instituto Vital Brazil. Rio de Janeiro.

⁵ Médico, Master em DST-UFF, BioMarc, Instituto Vital Brazil. Niterói, RJ.

⁶ Técnica de Laboratório. BioMarc Instituto Vital Brazil. Rio de Janeiro.

transmisión sexual, se han buscado nuevos marcadores biológicos para la estrategia que la vigilancia epidemiológica aborda en los grupos de riesgo²²⁻²⁴.

Los pesquisajes de estos grupos de riesgo, seleccionándose desde etapas tempranas de la infección, e inclusive, antes de detectarse signo clínico alguno, forman parte de los estudios poblacionales donde cada día, la participación del laboratorio toma una dimensión insustituible. El control de personas supuestamente sanas, como son las embarazadas, los donantes de sangre y las personas que se incluyen dentro de la vigilancia epidemiológica poblacional, constituyen universos meta para la aplicación de tecnologías que seleccionan y diagnostican aquellas enfermedades que son más susceptibles a grupos de personas definidas²⁵.

Una de las enfermedades infecciosas más conocidas desde el siglo XV fue la sífilis, sin embargo, su agente transmisor el *Treponema pallidum* solo fue descrito en el siglo XX y sus modos de estudio para pesquisajes y diagnóstico no fueron ampliamente usados hasta finales del siglo XX y en el siglo XXI²⁶⁻³⁰. A pesar de ser una enfermedad que puede ser controlada con la aplicación de la penicilina, su prevalencia en el mundo es aún un problema de salud³¹⁻³².

Por ser una enfermedad infecciosa sistémica, la sífilis cursa hacia una evolución crónica sujeta a crisis de agudización y latencia; a veces, no detectable clínicamente, permitiendo la transmisión del *Treponema* por vía eminentemente sexual, transfusiones de sangre y materno-fetal, proporcionando las formas adquiridas y congénitas de la enfermedad³³⁻³⁶. Tecnologías tradicionales y modernas han permitido durante las últimas décadas el estudio masivo de poblaciones para evitar la transmisión del *Treponema*, evitando el incremento de la epidemia en algunas partes del mundo³⁷⁻⁴⁵.

La calidad de los pesquisajes, ha sido una limitante presentada en estos estudios de terreno ha sido la aplicación logística de la colecta de las muestras, su transportación y los métodos prácticos automáticos o semi-automáticos que garanticen la confiabilidad del sistema, fundamentalmente en lo relacionado con el flujo y reflujo de muestras y las informaciones de los resultados. El PF se ha convertido en una alternativa valiosa en la solución de estas dificultades.

Por esta razón se introducen surtidos de calidad en los proveedores internacionales del PF con variedades de cambios tecnológicos, sin embargo, la experiencia demuestra que solo su valoración técnica con patrones establecidos, con personal especializado es que pueden certificar su inclusión dentro del material a seleccionar cuando se quieren patronizar técnicas con este soporte.

OBJETIVO

En este estudio se trata de valorar la calidad de un nuevo papel de filtro (Hahnemuehle 2992) que por su sencillez y precio competitivo puede aportar dividendos favorables en el mercado de consumo de los laboratorios que usan esta alternativa y estrategia en los estudios de terreno.

MÉTODOS

Se confeccionó un diseño de investigación para medir la calidad del PF Hahnemuehle 2992⁴⁵ partiendo de la calidad reconocida del Schleicher & Schuell 903⁴⁶ en la coleta e almacenamiento de muestras de sangre para el estudio de anticuerpos de anticuerpos IgG e IgM contra el *Treponema pallidum* con un ELISA Sándwich. El universo seleccionado para el estudio comparativo fueron 604 embarazadas en las que se tomaron muestras de PF y se calculó comparativamente la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, eficiencia e incidencia.

Se seleccionaron 130 mediciones de absorbancia procedentes de los resultados de los dos PF para calcular sus valores centrales y calcular su semejanza mediante la aplicación de Test T de comparación de medianas (series apareadas). Se seleccionaron los valores de absorbancia obtenidos en las muestras de los casos que resultaron estar por encima del cut off para ambos PF y se compararon con el coeficiente de correlación simple para obtener la semejanza en exactitud.

Se calculó la estabilidad en ambos casos, así como se realizaron las pruebas de comprobación de estabilidad de los valores cuando las variaciones del volumen corpuscular es afectado, usando para ello la medición del hematocrito en tres niveles de valores: menos de 30 volúmenes, entre 30-39 volúmenes y mayor de 40 volúmenes.

RESULTADOS

Los resultados que comparan la participación de las muestras colectadas con los dos PF demuestran que existe semejanza en todos los casos de acuerdo con los valores expresados en la **Tabla 1**. Se destaca como se identificó en el grupo de 604 embarazadas estudiadas existe un total de 17 casos reactivos con una incidencia de 2,8% en ambas muestras de PF.

Los falsos positivos (n = 3) encontrados en la muestra en los dos PF estudiados (Hahnemuehle 2992 (n = 3) y Schleicher & Schuell 903 (n = 2) así como no haber existido ningún caso falso negativo contribuye a que los valores de VPP, VPN, Eficiencia y Incidencia, sean semejantes, demostrando la calidad operacional.

Tabla 1 – Son mostrados los resultados obtenidos en el análisis epidemiológico para el anticuerpos IgG–IgM contra el *T. pallidum* con los dos PF estudiados

604 Exámenes Anticuerpos IgG–IgM contra el <i>T. pallidum</i> en el PF Hahnemuehle 2992					
Especificidad	Sensibilidad	Valor Predictivo + (VPP)	Valor Predictivo – (PVN)	Eficiencia	Incidencia
99,33%	100%	99,82%	99,00%	99,00%	2,80%
604 Exámenes Anticuerpos IgG–IgM contra el <i>T. pallidum</i> en el PF Schleicher & Schuell 903					
99,50%	100%	99,66%	99,66%	99,00%	2,80%

En la comparación estadística de los valores de absorbancia en entre la técnica ELISA usada para los dos PF (Hahnemuehle 2992 y Schleicher & Schuell 903) se muestran en la **Tabla 2**. Se encontraron criterios numéricos semejantes ($X \pm S = 0,025688 \pm 0,0068$ y $0,024534 \pm 0,005979$, para Schleicher & Schuell 903 y Hahnemuehle 2992, respectivamente). Debe destacarse que de los resultados analíticos encontrados en las 604 embarazadas, fueron seleccionados solo los valores de 128 muestras porque independientemente de tener valores semejantes, este grupo expresa la tendencia de los mismos cuando se estudian grupos poblacionales. Estos resultados, además de tener criterios de alta precisión en los indicadores de la señal de la técnica ELISA para la detección de anticuerpos IgG-IgM contra el *T. pallidum*, demuestran tener un criterio de semejanza en la especificidad ($P < 0,001$) entre el proceso completo de cada metodología usada (diferenciada por el PF).

Dentro de los valores de absorbancia encontrados dentro de toda las muestras que fueron reactivas la primera vez ($n = 17$) se procedió a confirmar la exactitud con el coeficiente de correlación simple. La **Gráfica 1** muestra como el valor de $R^2 = 0,9253$ y su línea de tendencia expresan un alto valor de correlación entre las absorbancias encontradas en este grupo de altos valores de señal para Schleicher & Schuell 903 y Hahnemuehle 2992.

El estudio de estabilidad fue medido usando los dos PF : Schleicher & Schuell 903 y Hahnemuehle 2992, encontrándose que existe también similitud en el tiempo para la calidad del almacenaje de la sangre seca en cada PF. La **Gráfica 2** muestra una curva obtenida

Gráfica 1 – Expresión gráfica de los valores de absorbancia en los dos grupos de muestras almacenados a 8 °C desde el inicio del estudio de estabilidad hasta las 15 semanas del inicio del estudio.

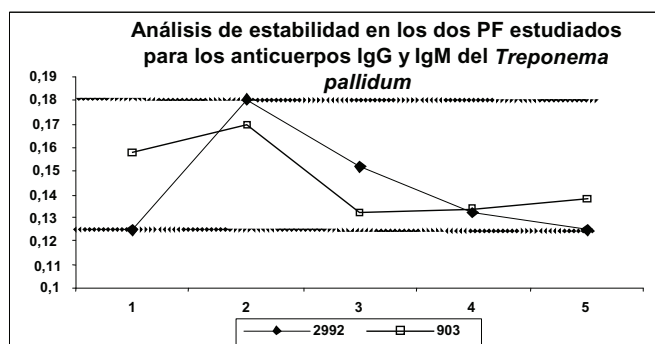


Tabla 2 – Se muestran los resultados obtenidos en el análisis de comparación de valores centrales de absorbancia en una muestra de 128 resultados para confirmar la semejanza en la especificidad.

Estadístico	Schleicher & Schuell 903	Hahnemuehle 2992
N	128	128
X	0,025688	0,024534
DS	0,006586	0,005979
Test Student	T = 0,344331 P < 0,001	

N = Número de muestras estudiadas.
X = Media aritmética de los valores.
DS = Desviación Standard.
T = Valor del Test de Student.

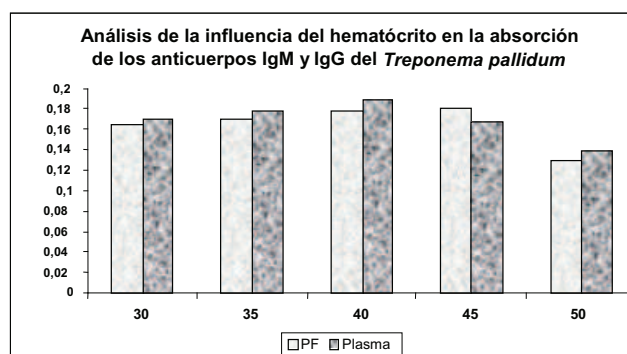
entre las absorbancia de un grupo de muestras no reactivas ($N = 25$), donde se expresan en el eje de las abscisas los valores modulares del 1-5 los cuales representan entre su espacio 3 semanas de almacenamiento como variable independiente (5 = 12 semanas de almacenamiento a 8 °C) y la absorbancia en el eje de las ordenadas.

El estudio para definir si los valores de hematocrito (volumen corpuscular) interfiere en los resultados de la medición de la absorbancia para anticuerpos IgG-IgM contra el *T. pallidum* (ELISA) de realizó separando 5 grupos de 10 embarazadas con diferentes valores de hematocrito (30, 35, 40, 45 y 50 volúmenes %) donde fue realizada la medición de la señal (Absorbancia) con la técnica tradicional de plasma y con el PF presentado (Hahnemuehle 2992).

En la **Gráfica 2** se comprobó como las variaciones del volumen celular de la sangre no varía el valor de la absorbancia en las muestras cuando es usado el PF para el estudio de variables biológicas, como es el caso del los anticuerpos IgG e IgM contra el *Treponema pallidum*. Estos resultados le proporcionan al procedimiento en PF una alta confiabilidad para los estudios epidemiológicos poblacionales.

Se concluye que el uso del PF es un procedimiento ventajoso para la colecta e las muestras biológicas por ventajas que van desde el factor humano de obención de la muestra, hasta completar de la cadena metodológica del tamisaje. Se confirma que el PF Hahnemuehle 2992 tiene las mismas atribuciones de calidad que el Schleicher & Schuell 903, tradicionalmente usado en los tamisajes de enfermedades heredo metabólicas y en estudios epidemiológicos con reconocida calificación de calidad por la CDC⁴⁷.

Gráfica 2 – Representación de los valores de absorbancia para plasma por la presencia de anticuerpos IgG e IgM contra el *Treponema pallidum* y el PF con diferentes valores de hematocrito.



BIBLIOGRAFIA

- Guthrie R. Blood screening for phenylketonuria. JAMA 1961; 178:863.
- La Du BN, Michael PJ. An enzymatic spectrophotometric method for the determination of phenylalanine in the blood. J Lab Clin Med 1960; 55:491.
- Howell RR, La Du BN. Diagnosis of phenylketonuria: detection and interpretation of elevated serum phenylalanine levels in 343 newborn infants. Proceedings of the Society for Pediatric Research, 32nd meeting; 1962.
- Hsia DY, Litwack M, O'Flynn M, Jakovic S. Serum phenylalanine and tyrosine levels in the newborn infant. N Engl J Med. 1962 Nov 22; 267:1067-1070.
- Scheel C, Berry HB. Comparison of serum phenylalanine levels with growth in Guthrie's inhibition assay in newborn infants. J Pediat 1962; 61:610.

6. Armstrong MD et al. The development of biochemical abnormalities in phenylketonuric infants. *Chemical Pathology of the Nervous System*, New York: Pergamon Press; 1961; pp. 38-50.
7. MacCready. Experience with Testing for Phenylketonuria in Massachusetts, *Pediatrics* 1963; 32:308-309.
8. Guthrie R, Tieckehmann H. The inhibition assay: its use in screening urinary specimens for metabolic differences associated with mental retardation. *Proceedings of the London Conference on the Scientific Study of Mental Deficiency*. May & Baker; 1982; 72-677.
9. Pires de Albuquerque VE, Da Costa TZ, Yassuito O. Transmissão vertical do vírus da imunodeficiência humana. Mother-to-child transmission of HIV-1. *Pediatria* 1997; 19:57-64.
10. Bryson YJ, Luzuriaga K, Sullivan JL, Wara DW. Proposed definitions for in utero versus intrapartum transmission of HIV-1. *N Engl J Med* 1992; 327:1246-7.
11. Pinhata M, Diniz E. Síndrome da Imunodeficiência Adquirida, in Revinter (ed): *Manual de Neonatologia* (1ª edição). Revinter; 1994; 153-59.
12. Peckham C, Gibb D. Mother to child transmission of the human immunodeficiency virus. *N Engl Méd* 1995; 333:298-302.
13. Chu SY, Buehler JW, Oxtoby MJ, Kilbourne BW. Impact of the immunodeficiency virus epidemic on mortality in children, United States. *Pediatrics* 1991; 87:806-10.
14. Nicoll A, Timaeus I, Kigadae RM, Walraven G, Killewo J. The impact of HIV-1 infection on mortality in children 5 years of age in sub-Saharan Africa: a demographic and epidemiologic analysis. *AIDS* 1994; 8:995-1005.
15. Connor E, Mofenson L. Zidovudine for the reduction of perinatal human immunodeficiency virus transmission: *Pediatric AIDS Clinical Trials Infect Dis J* 1995; 14:536-41.
16. Connor EM, Sperling RS, Gelber R, Kiselev F, Scott G, O'Sullivan MJ et al. Reduction of maternal infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine therapy. *N Engl J Med* 1994; 331:1173-80.
17. Barbacci M, Repke JT, Chaisson RE. Routine prenatal screening for HIV infection. *Lancet* 1991; 337:709-11.
18. Frometa A, Lechuga MF, Perez PL, Marrero N, Solis RL, Robaina R et al. Development of an UMELISA TSH Neonatal for the quantification of thyroid stimulating hormone (TSH) in blood spot collected on filter paper. In: Levy HL, Hermos RJ, Grady GF, editors. *Proceedings of third meeting of the inter-national society for neonatal screening* 1996; october 20-23 Boston. New England regional newborn screening program; 1996. 238-9.
19. Perez PL, Fanego N et al. Umtest Gal: Ensayo enzimático y fluorimétrico para la cuantificación de galactosa total en sangre seca sobre papel de filtro. *Libro de resúmenes III Congreso Latinoamericano y pesquisa neonatal* 2001; 21-24 de octubre; Cartagena, Colombia. Pontificia Universidad Javeriana; 2001. p 64.
20. Addinson GM. How should screening programs choose the optimum collection filter paper. The UK experience (version on CD-ROM). EG & G Wallac producers. ISNS Quality assurance and standardization meeting. June, 1999; 11-12.
21. Dezateaux C. Evaluating newborn screening programs based on dried blood spots: future challenges. *Br Med Bull* 1998; 5:77-90.
22. Bradbury WH, Hury AR, Forrest W. Screening for Hypercholesterolemia by Use of Blood Spotted on Filter Paper 648 *Clinical Chemistry* 1985; 31: 4.
23. Hannon WH, Aziz KJ, Collier FC, Fisher DA, Farafara CE, Knight WS et al. Blood collection on filter paper for neonatal screening programs. NCCLS document LA4-A2. 2th ed. Pennsylvania: NCCLS; 1992; 12(13).
24. Levy HL, Simmons JR, McCready RA. Stability of aminoacids and galactose in the newborn screening filter paper blood specimen. *J Pediatr* 1985; 107:757-60.
25. Dazteaux C. Evaluating newborn screening programmes based on dried blood spots: future challenges. *Br Med Bull* 1998; 54(4):877-90.
26. Lalitha P, Ravichandram M, Suba S, Kaliraj P, Narayanan RB, Jayaraman K. Quantitative assessment of circulating antigens in human lymphatic filariasis: a field evaluation of monoclonal antibodybased ELISA using blood collected on filter strips. *Tropical Medicine & International Health* 1998; 3(1):41-5.
27. Ingall D, Sanchez PJ, Musher DM. Syphilis In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus & newborn*. 5th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2001:643-681.
28. Ingall D, Sanchez PJ, Musher DM. Syphilis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious diseases of the fetus & newborn*. 4th ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 1995: 529-564.
29. Saunder WB, Ingraham NR. The value of penicillin alone in the prevention and treatment of congenital syphilis. *Acta Derm Venereol Suppl* 1951; 24:60-88.
30. Lewis LL. Congenital syphilis: serologic diagnosis in the young infant. *Infect Dis Clin North Am* 1992; 6(1):31-39.
31. Lichtyemberg FV. Doenças Infecciosas. In: Robbins SL, Cotran RS, Kumar V. *Patologia estrutural e funcional*. 3 rd. Rio de Janeiro: Guanabara, 1986; 267-385.
32. Ministério da Saúde (Brasil). Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis. Testes de Sensibilidade à Penicilina – Manual – Brasília: Ministério da Saúde; 1999.
33. Ministério da Saúde (Brasil). Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis - Brasília: Ministério da Saúde; 1999.
34. Lewis LL. Congenital syphilis: serologic diagnosis in the young infant. *Infect Dis Clin North Am* 1992; 6(1): 31-39.
35. Mehmet G, Willian L. Syphilis in pregnancy. *Sex Transm Infect* 2000; 76(2): 73-79.
36. Ministério da Saúde (Brasil). Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. Bases técnicas para eliminação da sífilis congênita Brasília: Ministério da Saúde; 1993.
37. Paryani SG, Vaughn AJ, Crosby M, Lawrence S. Treatment of asymptomatic congenital syphilis: Benzathine versus procaine penicillin G therapy. *J Pediatr* 1994; 125(3): 471-5.
38. Peeling RW, Ye H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. *Bull World Health Organization* 2004, 82(6): 439-446.
39. Philipson A, Sabath LD, Charles D. Transplacental passage of erythromycin and clindamycin. *N Engl J Med* 1973; 288(23):1219-21.
40. Rawatron SA, Jenkins S, Blanchard S et al. Maternal and congenital syphilis in Brooklyn, NY. *Am J Dis Child* 1993; 147:727-731.
41. Sánchez PJ, McCracken GH, Wendel GD, Olsen K, Threlkeld N, Norgard MV. Molecular analysis of the fetal IgM response to *Treponema pallidum* antigens: implications for improve serodiagnosis of congenital syphilis. *J Infect Dis* 1989; 159(3):508-517.
42. Sánchez PJ. Laboratory tests for congenital syphilis. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17(1):70-71.
43. Sánchez PJ, Wendel GD. Syphilis in pregnancy. *Clin Perinatol* 1997; 24(1):71-90.
44. Zswarcwald CL, Barbosa Jr A, Miranda AE, Paz LC. Resultados do estudo sentinela-parturiente, 2006: Desafios para o controle da sífilis congênita no Brasil. *J bras Doenças Sex Transm* 2007; 19:128-133.
45. Tayra A, Matilda LH, Saraceni V, Paz LC, Ramos JR AN. Duas décadas de vigilância epidemiológica da sífilis congênita no Brasil: A propósito das definições de caso. *J bras Doenças Sex Transm* 2007; 19(3-4):111-119.
46. Schleicher & Schuell Bioscience, Inc. Profile, Disponível em: www.bioscieregister.com/Schleicher_Schuell_BioScience_Inc/Supplier/sid1276.htm - 55k. Acessado em: 10/05/2009.
47. CDC (Centers for Disease Control and Prevention), 1990. Guideline for investigating clusters of health events. *MMWR*, 39:1-23.

Endereço para correspondência:
JUAN FIDEL BENCOMO GÓMEZ
 Instituto Vital Brazil
 Rua Vital Brazil Filho, 64 – Niterói RJ
 CEP 24.230.340
 Tels. (21) 711-00112 Ramal 157/185
 E-mail: jfbg440114@yahoo.com

Recebido em: 04.04.2009

Aprovado em: 11.06.2009