

EL LABORATORIO EN EL DIAGNOSTICO DE LA SIFILIS

GILBERTO BREÑA-VILLASEÑOR¹

EL CONTROL y la observación epidemiológica de cualquier enfermedad infecciosa requiere pruebas de laboratorio seguras, reproducibles y específicas. Las pruebas de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis se han refinado y perfeccionado más que cualquier otro conjunto de recursos aplicados a cualquier enfermedad en la historia; la experiencia acumulada se cuenta en millones de casos y en su estado actual son tan eficientes que el problema diagnóstico de la sífilis es más que clínico, un problema de laboratorio. La infección por los treponemas patógenas *Treponema pallidum*, *T. pertenue* y *T. carateum* produce en el sujeto infectado lesiones y cuadros clínicos diferentes; pero en lo que al laboratorio se refiere no hay forma alguna de distinguir una de otra, ni indicio que en un futuro cercano esto sea posible. Debe aceptarse pues, que las pruebas de laboratorio son las mismas y sus resultados tienen el mismo valor para el diagnóstico y secuela de tratamiento en todas las treponematosis humanas, sífilis, pian, pinto o bejel.

Los comentarios que siguen no están dirigidos al especialista, sino al médico que ocasionalmente diagnostica o trata a un enfermo infectado por treponemas. La correlación clínica, por razones obvias, se planteará en relación con la sífilis.

I. MÉTODOS DE LABORATORIO PARA EL DIAGNÓSTICO DE LA SÍFILIS

Para el diagnóstico de laboratorio de las treponematosis se emplean dos métodos:

- 1º La observación e identificación del treponema en las lesiones accesibles tempranas.
- 2º La investigación de anticuerpos en el suero sanguíneo. Los pacientes sin excepción forman anticuerpos a partir de la segunda semana después del chancro.
- 1º *Observación e identificación de treponemas.*

La observación e identificación de *T. pallidum* en exudados de lesiones accesibles de sífilis temprana sintomática es una de las pruebas más impor-

¹ Secretaría de Salubridad y Asistencia.

tantes para el diagnóstico de la sífilis y la única aplicable en la primera semana de evolución del chancro en que las reacciones serológicas son todas negativas. El treponema es un microorganismo que se tiñe mal (*pallidum*) y se deforma en extremo con la desecación y la fijación por lo que la técnica aconsejable es la observación en fresco en campo oscuro. La morfología y la motilidad característica del microorganismo permiten identificarlo con seguridad si el técnico tiene experiencia y práctica el procedimiento con suficiente frecuencia para dominarlo. Las lesiones, mientras más recientes mejor, sin tratamiento tópico o eliminando los restos del mismo por lavados con suero fisiológico; exprimiendo la serosidad de la profundidad por presión sostenida entre los dedos enguantados, y secando las partes que aparezcan con demasiada sangre, muestran el treponema abundante y característico en cualquier equipo de campo oscuro a seco fuerte (420 X). Cuando no se cuenta con el equipo o la experiencia indispensable, puede recogerse la serosidad en un tubo capilar de vidrio que se obtura en ambos extremos con vaselina sólida simple y se envía al laboratorio para su observación que puede hacerse dentro de las 72 a 96 horas después de su recolección.

Aun cuando el treponema abunda también en las lesiones mucocutáneas del secundarismo, el examen serológico es positivo prácticamente en el cien por ciento de los casos y es preferido a la investigación en campo oscuro.

Un resultado positivo obtenido por técnica correcta y persona calificada es

definitivo. Un resultado negativo no excluye el diagnóstico de sífilis, que debe ser eliminado por reacciones serológicas mensuales, cuando menos por tres meses después de la lesión genital sospechosa.

Recientemente se han desarrollado técnicas en campo oscuro en preparaciones secas fijadas y teñidas con anticuerpos fluorescentes, que reaccionan selectivamente con *T. pallidum* y *T. pertenue* (pian) y *T. carateum* y permiten encontrar microorganismos aún muy escasos en los frotis tomados de la lesión sospechosa que pueden enviarse por correo a laboratorios centrales para observarlos en equipo de microscopía fluorescente.

Las limitaciones del método directo se refieren principalmente a las lesiones en la cavidad oral por la existencia allí de numerosas formas de espiroquetas saprofitas; y en los chancros profundos en cavidad vaginal, rectal o cervical en los que es técnicamente difícil hacer la expresión y la recolección de la serosidad exudativa de la lesión.

En la sífilis no tratada aparecen lesiones destructivas mucocutáneas o viscerales, óseas, cardiovasculares o nerviosas; muchas son inaccesibles y los treponemas si existen, son muy escasos y por tanto difícilmente demostrables en campo oscuro.

En el estudio sobre sífilis no tratada, de Tuskegee, U.S.A. que se encuentra en su 34o. año de observación, el grupo sifilítico continúa teniendo una mortalidad y morbilidad más alta que el grupo testigo. El 12% de los sifilíticos sobrevivientes tiene manifestaciones de sífilis tardía, el 64% de ellos con lesión

nes cardiovasculares, siguiendo en frecuencia la neurosífilis y por último las lesiones gomosas o la sífilis benigna tardía, que en casos coexiste con formas más graves, circulatorias o nerviosas.

2o. *Reacciones serológicas para la sífilis.*

A partir de la primitiva reacción de Wassermann, de fijación del complemento para diagnosticar la sífilis, las técnicas serológicas se multiplicaron hasta alcanzar numerosas modificaciones registradas en la literatura mundial y muchas otras más que no alcanzaron difusión fuera de la localidad. Todas las pruebas serológicas descritas hasta la fecha pueden clasificarse en dos grupos:

a) Las que emplean como "antígeno" lipoides obtenidos de tejidos animales o vegetales, y

b) Las que utilizan como antígeno treponemas o sustancias derivadas de los treponemas.

a) *Reacciones con "antígenos" lipoides no treponémicos.*

Las reacciones para descubrir y titular "reagina" por medio de "antígenos" no treponémicos constituyen la mayoría de las pruebas de selección y descubrimiento de casos que se realizan en hospitales, bancos de sangre, laboratorios de salud pública y privados en el mundo entero. Los "antígenos" primitivos eran extractos crudos, generalmente de corazón de res, de composición empíricamente normalizada, dependiente en gran parte de las manipulaciones extractivas y de la fuente utilizada. Las sustancias reactivas de los antígenos li-

poídicos están muy difundidas en la naturaleza y se pueden emplear como fuentes de extracción variados tejidos animales y vegetales. En los últimos veinticinco años se aislaron y purificaron las sustancias serológicas activas de los antígenos crudos identificándose como cardioplipina y lecitina; la sensibilidad y especificidad de los antígenos no treponémicos dependen del equilibrio adecuado de estos dos componentes "antigénicos" asociados con el colesterol.

Las reacciones con antígenos no treponémicos se basan en un fenómeno empírico no específico, entre un "anticuerpo" que es una seroglobulina llamada "reagina" y los lipoides "antigénicos". La reagina o sustancias con reactividad semejantes pueden producirse en personas sanas o en el curso de enfermedades generales, infecciosas, parasitarias, nutricionales agudas o crónicas y entonces se producen las "reacciones falsas positivas biológicas" nombre convencional que señala su falta de asociación con las treponematosi.

Aunque las reacciones "falsas positivas biológicas" son una realidad no debe menospreciarse la especificidad de la reacción "reagina vs lipoides" en relación con la treponematosi, pues muy pocas, si es que alguna, pruebas de laboratorio alcanzan la especificidad tan alta en relación con la enfermedad en que se utilizan. Son positivas en el ciento por ciento de enfermos de treponematosi temprana no tratada, con excepción de la lesión primaria seronegativa en la primera semana de evolución; son negativas en el 99.85% (1:600) de las personas sanas. Los enfermos de padecimientos distintos de las treponema-

tosis que desarrollan temporalmente reacciones "falsas positivas biológicas" lo hacen solo durante el período de estado sintomático o corto tiempo después, lo que puede eliminarse por el estudio clínico, la anamnesis y las pruebas cuantitativas a intervalos de un mes que se negativizan espontáneamente. Es bueno insistir con claridad, las reacciones "falsas positivas biológicas" son escasas, en su mayor parte fáciles de reconocer por el estudio clínico cuando se observan manifestaciones del estado patológico que las origina (infecciones generales, trastornos nutricionales) o por observación serológica cuantitativa a intervalos que muestra títulos descendentes hasta negativización espontánea.

No hay duda que las reacciones con "antígenos" lipídicos modernas, por su utilidad diagnóstica y para valorar el tratamiento, van a permanecer por mucho tiempo aún, (no hay indicios experimentales en contra) como el recurso de laboratorio más exacto y útil para el diagnóstico y valoración del tratamiento de las treponematosis. Las reacciones con antígenos no treponémicos de cardioplipina se utilizan ampliamente para practicar exámenes serológicos y en el líquido cefalorraquídeo; en este producto biológico no se reportan "falsas positivas biológicas"; probablemente no existan. Se prefieren las técnicas en portaobjetos, v.gr. VDRL, sobre las de tubo por ser más sencillas, menos costosas y ofrecer una gran seguridad en sus resultados porque pueden normalizarse, uniformarse y alcanzar un grado técnico correcto y los controles de calidad y especificidad pueden es-

tablecerse fácilmente en el trabajo diario.

Conviene usar una sola reacción con antígeno no treponémico, pues los resultados de una segunda o tercera prueba en un suero positivo no sirven para nada al clínico y pueden desconcertarlo en caso de discrepancia. Es preferible que los laboratorios efectúen una sola reacción bien hecha que procedimientos diferentes mal practicados.

Su utilidad es especialmente valiosa:

- a) Cuando se aplican en grandes grupos humanos para descubrir casos latentes.
- b) Cuando se relacionan con antecedentes de exposición a un contagio.
- c) Cuando se observan títulos altos o rápidamente ascendentes.
- d) En el líquido cefalorraquídeo para el diagnóstico o la exclusión de neurosífilis.
- e) En las investigaciones epidemiológicas de contactos.
- f) La respuesta del título serológico al tratamiento es un parámetro excelente para determinar la utilidad del mismo.

Las reacciones serológicas sólo deben aceptarse cuando se practican con técnicas regurosamente normalizadas, con antígenos certificados de la mejor calidad y en presencia de testigos cuantitativos adecuados.

El control de calidad y la normalización de las reacciones serológicas constituyen una necesidad absoluta. Las reacciones fidedignas son de gran valor para el diagnóstico y la valoración del tratamiento. Para mantener las normas

de calidad es indispensable la actuación de un laboratorio serológico de referencia que compare el trabajo de los laboratorios con los patrones aceptados internacionalmente por la Organización Mundial de la Salud. Por medio del intercambio de muestras se valoran constantemente los reactivos y la eficiencia del equipo y personal técnico para alcanzar niveles de ejecución serológica aceptables.

b) *Reacciones serológicas con antígenos treponémicos.*

Los esfuerzos para desarrollar una prueba serológica con antígeno específico de treponema que pueda realizarse en el laboratorio ordinario han sido tan antiguas como la misma reacción de Wassermann. Los intentos para cultivar *T. pallidum* en medios artificiales han sido vanos; en uno de ellos se aisló por vez primera una cepa de treponemas no patógena, el *T. reiter* que de tiempo en tiempo ha sido objeto de revaloración en cuanto a sus propiedades antigénicas relacionadas con el diagnóstico de la sífilis. El máximo adelanto alcanzado por este camino fue la elaboración de un antígeno proteico de *T. reiter* que tiene especificidad de grupo, pero es muy poco sensible, resolviendo una proporción baja de dudas diagnósticas.

En 1949 R.A. Nelson introdujo la prueba de inmovilización del *T. pallidum* en el diagnóstico de la sífilis, y desde entonces, utilizando como antígeno suspensiones de treponemas vivos o *T. pallidum* muerto liofilizado que se cosecha del sífiloma testicular del co-

nejo en medios adecuados para asegurar su supervivencia o conservación de cualidades antigénicas.

La reacción de inmovilización del treponema es sencilla en teoría, pero difícil en la práctica. Los treponemas vivos se mezclan con el suero del paciente, y complemento de cobayo y se incuban en atmósfera libre de oxígeno (95% nitrógeno y 5% CO₂) para observar después de 15 a 18 horas en campo oscuro comparando el porcentaje de treponemas inmovilizados por el suero problema frente a un complejo sistema de testigos. No obstante los problemas técnicos, la reacción de inmovilización de *T. pallidum* constituye una prueba serológica excelente para el diagnóstico de la sífilis con especificidad máxima y sensibilidad alta. Debido a sus cualidades todavía se le considera como patrón para comparar las pruebas treponémicas subsiguientes.

En 1955 Deacon y su grupo describieron la primera reacción específica con *T. pallidum* aplicando la técnica de inmunofluorescencia de Coons (FTA). Esta prueba ha sido mejorada por la absorción de los anticuerpos de grupo no específicos con un lisado (sorbente) de *T. reiter*. La reacción FTA-ABS en los estudios de evaluación todavía en progreso, se ha mostrado como una técnica serológica de especificidad igual a la prueba de inmovilización (100%) y con una sensibilidad mucho más alta que se aproxima al 100%. Su principal limitación para sustituir las pruebas con reaginas consisten en que su positividad no se altera por el tratamiento y no se han desarrollado técnicas cuanti-

tativas reproducibles que permitan la valoración de ella. El equipo instrumental es caro y la destreza en su manejo y lectura de resultados no es fácil de lograr como para las pruebas con reagina.

Las reacciones con antígenos treponémicos no deben usarse habitualmente sino que constituyen un procedimiento de verificación aplicable a petición especial de clínico cuando surjan problemas de diagnóstico. Sirven para distinguir las "falsas positivas biológicas" o para confirmar un diagnóstico clínico de sífilis en enfermos con manifestaciones tardías que con alguna frecuencia son seronegativos (tabes, atrofia óptica) a las pruebas para la reagina y continúan siendo positivos a la reacción FTA-ABS.

REFERENCIAS

- Wasserman, A.; Neisser, A. y Bruck, C.: *Eine serodiagnostische Reaktion bei Syphilis*. Deutsch. med. Wschr. 32: 745, 1906.
- Michaelis, L.: *Precipitinreaktion bei Syphilis*. Berl. Klin. Woch. 44: 1477, 1907.
- Kahn, R. L.: *A simple quantitative precipitation reaction for syphilis; preliminary communication*. Arch. Derm. Syph. 5: 570, 1922.
- Kolmer, J. A.: *Studies in the standarization of the Wasserman reaction. XXX. A new complement-fixation test for syphilis based upon the result of studies in the standarization of technic*. Am. J. Syph. 6: 82, 1922.
- Mazzini, L. Y.: *Reliable, sensitive, simple, and rapid slide flocculation test for syphilis*. Am. J. Clin. Path. 9: 163, 1939.
- Harris, A.; Rosenberg, A. A. y Reidel, L. M.: *A microfloculation test for syphilis using cardiolipin antigen. Preliminary report*. J. Ven. Dis. Inform. 27: 169, 1946.
- Nelson, R. A. y Mayer, M. M.: *Immobilization of Treponema pallidum in vitro by antibody produced in syphilitic infection*. J. Exper. Med. 89: 369, 1949.
- Pangborn, M. C.: *Acid cardiolipin and an improved method for the preparation of cardiolipin from beef heart*. J. Biol. Chem. 153: 343, 1944.
- Deacon, W. E.; Falcone, V. H. y Harris, A.: *A fluorescent test for treponemal antibodies*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 96: 477, 1957.
- Bossak, H. N.; Falcone, V. H.; Duncan, W. P. y Harris, A.: *Kolmer test with Reiter protein antigen. Venereal Disease Research Laboratory modification*. Pub. Health Lab. 16: 39, 1958.
- Portnoy, J. y Magnuson, H. J.: *Treponema pallidum complement fixation (TPCF) test for syphilis*. Am. J. Clin. Path. 26: 313, 1956.
- Manual of Tests for Syphilis*. PHS publication No. 411, 1969.
- Dark Field Microscopy for the Detection and Identification, Treponema pallidum*. PHS Pub. No. 990, 1962.
- Hunter, E. F.; Deacon, W. E. y Meyer, P. E.: *An improved FTA test for syphilis; the absorption procedure (FTA-ABS) test for syphilis*. JAMA 198: 624, 1966.
- Serology Evaluation Research Assembly*. PHS publication No. 650, 1957.
- Syphilis. A synopsis*. PHS publication No. 1660, 1965.