

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DE LA SÍFILIS*

Antonio Fuertes
Servicio de Microbiología. Hospital Doce de Octubre. Madrid

La sífilis es una enfermedad infecciosa aguda o crónica cuyo agente causal es *Treponema pallidum* perteneciente, junto con otros treponemas, borrelias y leptospiros, a la familia *Treponemataceae*. Es un microorganismo móvil que, dadas sus dimensiones, 5-15 m de largo por 0,2 m de diámetro, se encuentra en el límite de resolución óptica de los microscopios convencionales; por ello no es posible visualizarlo mediante tinciones normales y sí por contraste de fases o tinciones de plata que "engruesan la bacteria". Tampoco es cultivable según el concepto tradicional. Su movilidad se debe a 10 flagelos periplásmicos. Su tiempo de generación en los tejidos humanos es de unas 8 horas, por lo que su multiplicación es lenta.

La enfermedad está clasificada como venérea y de declaración obligatoria, siendo su mecanismo de transmisión el contacto directo con una lesión productiva. Tras un período de incubación de 12 a 90 días (media de 21 d), aparece en el lugar de la inoculación una lesión primaria, rica en treponemas (el chancro), que desaparece espontáneamente a las pocas semanas. Durante este primer estadio, conocido como sífilis primaria, *T. pallidum* se multiplica en los linfáticos regionales distribuyéndose por la sangre a todos los órganos del individuo (infección sistémica). Generalmente las pruebas serológicas se hacen positivas en este período pasadas 3-4 semanas de la infección. En el paciente no tratado, el segundo estadio comienza con la aparición de una de las manifestaciones sistémicas de la enfermedad: una erupción en piel, palmas y plantas, la roseola sifilítica, acompañada de síntomas generales y, frecuentemente, de otros signos localizados (condilomas genitales). Las lesiones abiertas de este período son muy contagiosas. Tras la primera desaparición espontánea de la misma y durante el primer y segundo año, pueden aparecer brotes similares cada vez de menor intensidad (fases de latencia precoz) hasta que desaparecen totalmente todos los signos y síntomas (fase de latencia tardía). El tercer estadio de la enfermedad, que solo se presenta en unos pocos pacientes, se caracteriza por la formación de lesiones granulomatosas destructivas (gummas) que, curiosamente, tienen escasa carga treponémica. En este período pueden aparecer síntomas y signos de focalización de la enfermedad: neurosífilis, sífilis cardiovascular, etc.

El treponema también puede traspasar la barrera placentaria con suma facilidad a partir del tercer o cuarto mes de la gestación y producir enfermedad fetal. Por ello, en la mayoría de los países, se realiza un estudio de anticuerpos frente a este patógeno para instaurar medidas preventivas.

En los estudios de evolución natural de la enfermedad se ha visto que aproximadamente un 33% de los pacientes curan de forma espontánea con negativización de las pruebas reaginicas. Otro 33% no desarrolla síntomas de progresión de la enfermedad aunque las pruebas no treponémicas permanecen positivas y otro 33% desarrolla una enfermedad tardía más o menos grave (17% sífilis tardía benigna, 8% neurosífilis y 8% sífilis cardiovascular).

Tabla 1. Estadios y evolución de la sífilis no tratada

	Estadio				
	Primario	Secundario	Latente precoz	Latente tardío	Terciario
Tiempo	3 semanas a 3 meses Media de 21 días	Seis semanas a seis meses	Uno o dos años	De dos a veinte años	Diez a veinte años
Serología	Variable	Positiva	Variable	Variable	Variable
Síntomas	Chancro único o múltiple. Linfadenopatía regional. Alteraciones del LCR en el 40%	Roseola sifilítica Pápulas Lesiones musculares. Condilomas. Alopecia.	Asintomático. Recaídas en el 25%	Asintomático ¿Curación espontánea?	Gummas Neurosífilis Cardiovasc.

A partir del tercer mes de gestación, posibilidad de afectación fetal

La identificación del *T. pallidum* mediante el examen directo del exudado de la lesión -campo obscuro y/o fluorescencia directa (DFA-TP)- es una prueba definitiva para asegurar el diagnóstico. Las ventajas de este tipo de métodos son la inmediatez y bajo costo. Este diagnóstico puede ser previo a la positivización de las pruebas serológicas y es, probablemente, el de más rendimiento en la fase primaria, secundaria, recaídas y en la sífilis congénita, cuando las lesiones son ricas en treponemas. Un resultado negativo en el examen directo del producto de la lesión **no descarta** la posibilidad de la enfermedad, ya que pueden existir pocos treponemas en la misma, dependiendo de los días de evolución y de la administración de tratamiento previos. Nunca deberá emplearse para el examen directo material procedente de lesiones sospechosas en la boca, ya que las posibilidades de confundir los treponemas con otras espiroquetas saprofitas son muy altas. La sensibilidad de esta prueba es del 75-80%.

DIAGNOSTICO INDIRECTO

La experiencia nos dice que, en la mayoría de las ocasiones, existen dificultades o no es posible realizar el diagnóstico directo, por lo que el diagnóstico indirecto -serológico- de la enfermedad se ha convertido en el procedimiento más frecuente. Estos marcadores necesitan, aproximadamente, de unos 14 a 20 días para hacerse reactivos. En la tabla 2 se resumen las pruebas que existen actualmente para el diagnóstico serológico de la lúes.

Tabla 2. Pruebas serologicas empleadas actualmente para el diagnóstico de la sífilis.

Pruebas	Valor de referencia	Observaciones
No treponémicas		
RPR	No reactivo	
VDRL	No reactivo	
USR	No reactivo	
TRUST	No reactivo	
ELISA	Cut-off	
Treponémicas		
TPHA	No reactivo	Suero, hemaglutinación
FTA-ABS IgG e IgM	No reactivo	Suero y LCR
FTA-ABS-DS		Doble tinción
ELISA anti-IgG	Cut-off	Suero
ELISA anti-IgM	Cut-off	Suero
Western-Blot		Prueba confirmatoria

CARACTERÍSTICAS GENERALES Y PECULIARIDADES DE LAS PRUEBAS SEROLOGICAS

Pruebas no treponémicas:

- 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.
- 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.

Comentarios a las 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.**

Para su realización, el suero del paciente es mezclado con el antígeno en un soporte circular de diámetro estándar. Si existen anticuerpos se combinan formando una floculación que es leída microscópicamente (100 aumentos). El VDRL yUSR (USR tiene el mismo antígeno del VDRL estabilizado con EDTA y colina) necesitan de un microscopio de 100 aumentos para su lectura y deberá realizarse meticulosamente tanto la preparación del antígeno como la lectura de la reacción. El antígeno VDRL debe de prepararse frecuentemente

aunque puede estabilizarse, para su conservación durante unos días, mediante la adición de ácido benzoico al 1%. El reactivo de la pruebaUSR es más estable. Como dato importantísimo diremos que **sólo la prueba VDRL está validada para la detección de anticuerpos no treponémicos en LCR y, en consecuencia, es el único útil para el diagnóstico de la neurosífilis.**

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 (como dispensar el antígeno sobre la muestra no extendida en el círculo de reacción). 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.

Los **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 se muestran en la tabla 3.

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 diluido. 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.

Pruebas treponémicas

- FTA-ABS 200. (*Inmunofluorescencia indirecta con absorción del suero*) Antígeno de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de la cepa Reiter. Puede realizarse sobre con suero y L.C.R.
- 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.
- TPHA. (*Microhemaglutinación*). Solo homologada para suero. Utiliza eritrocitos sensibilizados con antígenos de *Treponema* cepa Nichols y absorbente de cepa Reiter.
- Captia Syphilis 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.

Comentarios a las 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. Todas ellas deben realizarse previa absorción del suero para eliminar la reacción cruzada con otros treponemas. No son útiles para seguir los tratamientos, ya que suelen permanecer positivas en el 85-90% de los pacientes tratados y curados. La FTA-ABS, en sus diferentes variantes, es una prueba compleja y está sometida a múltiples causas de error si no se estandarizan previamente todos los reactivos entre sí. Igualmente la lectura es menos objetiva. Presenta aproximadamente un 1% de falsos positivos. El TPHA es uno de los métodos más sencillos de realizar ensayándose la muestra a una dilución de 1/80. No está demostrada la utilidad de cuantificar el resultado; **tampoco esta homologada para su empleo en LCR**. Produce menos falsos positivos que FTA-ABS existiendo estudios que demuestran su utilidad como prueba de rastreo. La sensibilidad para suero de estas pruebas en los diferentes estadios se resume en la tabla 3.

ELISA Captia sífilis IgM es una prueba que se utiliza para el diagnóstico de sífilis congénita sobre muestras de suero. Existen trabajos que demuestran mayor sensibilidad que la prueba FTA-ABS IgM 19S en el diagnóstico de esta forma clínica en estadios tempranos sintomáticos y algo menor en los estadios tardíos. En las sífilis congénitas asintomáticas la sensibilidad de todas las pruebas para IgM son muy bajas de tal forma **que sólo un resultado positivo confirma el diagnóstico**. En cualquier caso los resultados negativos obtenidos con esta prueba deberán interpretarse junto con los datos que se tengan sobre el periodo de la enfermedad en el que inició el tratamiento en la madre, si este fue correcto o no y los signos y síntomas del recién nacido. Su negatividad no descarta la enfermedad congénita (ver sífilis congénita).

Las pruebas de ELISA IgG pueden emplearse en sustitución de las treponémicas TPHA y FTA-ABS ya que diferentes estudios han demostrado su excelente sensibilidad y especificidad en la detección de este tipo de anticuerpos. Estas pruebas permiten la automatización de grandes cantidades de muestras y lecturas objetivas.

El empleo de FTA-ABS IgM en suero para el diagnóstico de sífilis aguda o congénita está cuestionado. Es un procedimiento que no aconsejamos, ya que carece de sensibilidad y especificidad. Su empleo, en todo caso la modificación FTA-ABS 19S IgM, debería ir precedida de un fraccionamiento del suero aunque esto no modifica su falta de sensibilidad (30-35% de falsos negativos; por ello únicamente **un resultado positivo de esta técnica confirmaría el diagnóstico**. La complejidad técnica requerida para realizar correctamente esta prueba y mejorar su falta de sensibilidad no la hacen rentable en este momento.

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. (Ver neurosífilis)

La prueba *western blot* tiene una gran utilidad en la confirmación de enfermedad congénita cuando empleamos como revelador de la reacción Anti IgM. Su sensibilidad es del 90% y la especificidad del 83%.

Tabla 3. Sensibilidad y especificidad de las pruebas en diferentes estadios

	Primaria	Secundaria	Latente	Tardía	Especificidad
VDRL	78%	100%	95%	71%	98%
RPR	86%	100%	98%	73%	98%
USR	84%	100%	97%		99%
TRUST	85%	100%	95%		93%
FTA-ABS-DS	80%	100%	100%	96%	98%
TPHA	76%	100%	97%	94%	99%
Captia IgM*	90%	?	?	?	90%

*Para sífilis congénita sintomática

USO CLINICO DE LAS PRUEBAS DE SIFILIS

Existe la creencia de que la utilización de las pruebas diagnósticas está predeterminada en el sentido de emplear las "reagínicas" para analizar gran número de muestras y las treponémicas para confirmar los resultados positivos obtenidos con aquellas. Este proceder, que es aceptable para rastrear poblaciones con baja prevalencia de enfermedad (donantes de sangre), no es tan claro en los pacientes de riesgo, con clínica compatible o sospecha de enfermedad. Ante el diagnóstico de la infección debemos tener presente que:

1. Realizar en suero solo pruebas no treponémicas puede conducirnos a obtener falsos negativos en sífilis latentes tardías o en los periodos terciarios de la enfermedad.
2. Ensayar los sueros únicamente con pruebas treponémicas puede llevarnos a falsos negativos en los estadios primarios de la infección.
3. Ambas pruebas, por separado, pueden producir falsos positivos, por lo que el valor predictivo positivo individual (VPP) de cada una de ellas se ve incrementado cuando se realizan conjuntamente.

Por todo ello nosotros recomendamos realizar los dos tipos de pruebas a todos los sueros que nos remitan para realizar un diagnóstico indirecto. En la mayoría de los casos el diagnóstico serológico del estadio de la enfermedad es imposible hacerlo si no se dispone de información clínica.

OBSERVACIONES PARA LA INTERPRETACIÓN DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS DE LA SÍFILIS

Sífilis Primaria

Hay que tener siempre presente que:

- El diagnóstico directo es posible del producto de las lesiones clínicas compatibles con este período.
- Las pruebas serológicas no se hacen positivas hasta pasadas 1-4 semanas de la aparición del chancro.
- La prueba TPHA es menos sensible que FTA-ABS en este período y probablemente, tanto una como otra, menos sensibles que las pruebas VDRL o RPR.
- Patrones posibles: a) visión positiva de treponemas y serología negativa; b) visión positiva de treponemas con TPHA negativa y VDRL o RPR positivas; c) visión negativa de treponemas y serología positiva.

Sífilis secundaria

El diagnóstico es sencillo puesto que:

- El diagnóstico directo es posible en las lesiones secundarias.
- Las pruebas reagínicas y treponémicas son positivas en el 100 % de los casos.

Sífilis latente precoz / de menos de un año de evolución

Como norma encontramos que:

- No es posible el diagnóstico directo.
- Las pruebas reagínicas y treponémicas positivas.

- Se observa una caída lenta pero progresiva de los títulos de las pruebas reagínicas que, con el paso del tiempo, pueden llegar a negativizarse.
- Existe una historia de lesión típica de secundarismo de menos de un año.

Sífilis latente tardía o de más de un año de evolución

El diagnóstico de certeza es más complicado. Podemos observar:

- Pruebas treponémicas positivas.
- Pruebas reagínicas positivas o negativas, según el tiempo de evolución.
- No existen síntomas clínicos (evaluar serológicamente para neurosífilis).

Sífilis terciaria

El diagnóstico serológico es difícil. Es imprescindible conocer la historia y la terapéutica del paciente. Por regla general, los datos clínicos suelen ser confusos.

- Pruebas treponémicas positivas en el 95 % de los casos.
- Pruebas reagínicas negativas, al menos en el 30 % de los pacientes.
- Investigar la presencia de síntomas clínicos de terciarismo: gomas, sífilis cardiovascular, neurosífilis, etc.

Criterios de diagnóstico para la neurosífilis

Para realizar el diagnóstico de neurosífilis es imprescindible que exista:

- Una prueba treponémica positiva en suero.
- VDRL positivo en LCR (75 %)
- Aumento de la celularidad en LCR (>de 5-10 mononucleares/mm³).
- Proteínas en concentración superior a 40-100 mg/dl (sólo en el 30-40%).
- Recordar que tan sólo la prueba VDRL esta homologada para la detección de anticuerpos en LCR.
- En la fase aguda, diseminativa, de la enfermedad, el 40% de las muestras de LCR presentan alteraciones transitorias, sin que ello signifique evolución hacia la neurosífilis.

Con el tratamiento deben descender las células a valores normales, seguido de la normalización de las proteínas. El estudio seriado del título de VDRL no siempre muestra un descenso.

Sífilis en embarazadas y congénita

Dada la trascendencia de la transmisión vertical y la bondad y ausencia de efectos secundarios del tratamiento se recomienda que:

- Ninguna mujer embarazada debería ser excluida del estudio de los marcadores de sífilis, al menos una vez durante el embarazo. Durante la gestación las pruebas treponémicas y no treponémicas pueden producir resultados falsos positivos.
- Durante la gestación es posible una elevación de los títulos de las pruebas reagínicas en una paciente que haya padecido una sífilis. Esto no significa que exista necesariamente una reinfección o una recaída. En estos casos es fundamental una buena reevaluación clínica.
- La **mejor muestra** para el **estudio del riesgo fetal** de enfermedad sifilítica **es el suero materno**. Los resultados obtenidos con él superan a los de la sangre de cordón e incluso a los de sangre del recién nacido. La sangre de cordón no es una buena muestra para el diagnóstico.
- Sólo en el 20% de los **niños infectados intraútero** los títulos de las pruebas no treponémicas son superiores a los de la madre. Por ello los **títulos reagínicos inferiores a los de la madre no descartan la infección congénita**. También se debe tener presente que si la infección ocurrió en el tercer trimestre de la gestación VDRL puede aun ser negativo en el recién nacido.
- Los anticuerpos reagínicos y treponémicos transferidos al neonato, de clase IgG, deben volverse no detectables en el plazo de meses (vida media de 2-3 semanas). El incremento o mantenimiento del título de los anticuerpos reagínicos a lo largo de los primeros 6 meses de vida indican infección congénita y no deberá esperarse más para tratar al niño si no se hizo ya previamente. Igualmente la **detección positiva de IgM mediante Captia ELISA o FTA-ABS 19S confirmaría el diagnóstico**
- La mejor evaluación de sífilis congénita en el niño asintomático se puede realizar con el estudio del LCR en el que detectaremos alteraciones celulares y bioquímicas con positividad del VDRL y, posiblemente, también con prueba FTA-ABS positiva.

BIBLIOGRAFIA RECOMENDADA

CENTERS FOR DISEASE CONTROL. Guidelines for evaluation and acceptance of new syphilis serology test for routine use. Morbid Mortal Week Report, 1977.

MULLER F, LINDENSCHMIDT EG. Demonstration of specific 19S(IgM) antibodies in untreated and treated syphilis. Comparative studies of the 19S(IgM) FTA test, the 19S(IgM) TPHA test, and the solid phase haemadsorption assay. Br J Vener Dis 1982; 58: 12-17.

LARSEN SA, PETIT DE, PERRYMAN MW, HAMBIE EA, MULLALLY R, WHITTINGTON W. EDTA-treated plasma in the rpr card test and the toluidine red unheated serum test for serodiagnosis of syphilis. J Clin Microbiol 1983; 17: 341-345.

LUGER A, SMIDT BL, STEYRER K, WIDER G. Screening for syphilis with the AMHA-TP test. Eur J Sex Trans Dis 1982; 1:25-27.

LARSEN SA, HUNTER EF, MACGREW BE. Syphilis. In: Wentworth BB, Judson FN (eds). Laboratory methods for the diagnosis of sexually transmitted diseases, p 1-42. American Public Health Association, Whashington DC, 1984.

LARSEN SA. A manual of test for syphilis. American Public Health Association. Whashington DC, 1990.

HOOK EW, MARRA CE. Acquired syphilis in adults. N Engl J Med 1992; 326:1060-1069.

LARSEN SA, STEINER BM, RUDOLF AH. Laboratory diagnosis and test for syphilis. Clin Microbiol Rev 1995; 8:1-21.

NOTA IMPORTANTE. El presente manuscrito es una adaptación del original disponible en Internet (<http://www.fei.es>), publicado con autorización expresa del autor.