

Diagnóstico Serológico de Sífilis

Técnicas no treponémicas



**Instituto de
Salud Pública**
Ministerio de Salud

Gobierno de Chile

T.M. Rodrigo Colina Morales
Laboratorio de Infecciones de
Transmisión Sexual
Sección Bacteriología
Mayo 2014

Diagnóstico Serológico de Sífilis



Generalidades:

- ❑ Sífilis, es una enfermedad infecciosa conocida desde el siglo XV. No fue hasta 1905 que *Fritz Shaudin* y *Erich Hoffman* descubrieron un microorganismo espiral en una lesión sifilítica secundaria.
- ❑ Agente causal bacteria *Treponema pallidum*
- ❑ Pertenece junto con otros treponemas, borrelias y leptospiras, a la familia Treponemataceae
- ❑ (Trepo:giro; nema: hebra; hebra que gira)



Diagnóstico Serológico de Sífilis



- Espiroqueta delgada, enroscada, de 6 a 12um de longitud y 0,25um de diámetro.
- Móvil , reproducción por fisión binaria
- No se colorea (pallidum: pálido) ausencia de tinción con colorantes convencionales
- Observable por microscopía de campo oscuro o mediante tinción con Acs específicos antitreponema marcados con colorantes fluorescentes.
- Estas espiroquetas son incapaces de desarrollarse en cultivos acelulares.



Diagnóstico Serológico de Sífilis



Historia Diagnóstica:

- ❑ Test de Wasserman. (1906) Extracción alcohólica de tejidos sifilíticos. Acs. séricos por fijación de complemento.
Inespecífica, se producían también con extractos de otros tejidos.
- ❑ Inoculación de animales
- ❑ Examen directo:
 - ❖ Microscopía de campo oscuro
 - ✓ Exudado de la lesión
 - ✓ Inmediatez y bajo costo
 - ✓ Gran rendimiento en etapas en que hayan lesiones, primaria, secundaria, congénita precoz y recaída infecciosa



Diagnóstico Serológico de Sífilis



- ✓ Requerimientos de personal muy capacitado
- ✓ Inespecificidad ante espiroquetas saprófitos presentes en muestras de mucosa bucal, anal y genital.
- ❖ Fluorescencia Directa (DFA-TP)
 - ✓ Tejidos, secreciones y fluidos de lesiones
 - ✓ Muestra fijada + Ac monoclonal conjugado c/ FITC
- ❑ Cultivo celular: Sólo logrado en células epiteliales de conejo. Método costoso y complejo.
- ❑ Pruebas serológicas:
 - ❖ Pruebas no treponémicas
 - ❖ Pruebas treponémicas



Diagnóstico Serológico de Sífilis



Diagnóstico a través de serología.

- Generalmente las pruebas serológicas se hacen positivas a las 3-4 semanas de la infección.

El huésped produce anticuerpos:

- Contra material lipoidal liberado por las células dañadas (reaginas)
- Contra material lipoproteico y cardiolipina liberada por los treponemas (anticuerpos específicos)



Técnicas no treponémicas



RPR *Rapid Plasma Reagin*

USR *Unheated Serum Reagin*

VDRL *Venereal Disease Research Laboratory*

TRUST *Toluidine red Unheated Serum test*
(no comercializada)

ELISA Se emplea con suero. Utiliza en la fase sólida, antígenos del tipo VDRL



Técnicas no treponémicas



Pruebas no Treponémicas:

- ✓ Pruebas realizadas con antígeno de naturaleza lipoidal (cardiolipina, lecitina y colesterol).
- ✓ Detectan anticuerpos tipo IgG e IgM anti material lipídico liberado por células del huésped dañadas y material lipoproteico de la bacteria.
- ✓ La metodología que usan es la floculación en lámina o tarjeta.
- ✓ Económicas y fáciles de realizar
- ✓ Nivel aceptable de especificidad y sensibilidad alta



Técnicas no treponémicas

RPR Rapid Plasma Reagin



- ✓ Reacción Antígeno-anticuerpo de floculación en tarjeta.
- ✓ Muestras: suero no calentado (no inactivado), plasma.
- ✓ La suspensión de antígeno contiene partículas de carbón.
- ✓ Usado mayormente como técnica de screening.
- ✓ Técnica:
 - Preparación de antígeno: no requiere
- ✓ Calibrar:
 - Rotador: 100 +/- 2 rpm.
 - Aguja calibre 20 (suero)
- ✓ Tarjetas de reacción entregadas en el kit
- ✓ Lectura macroscópica

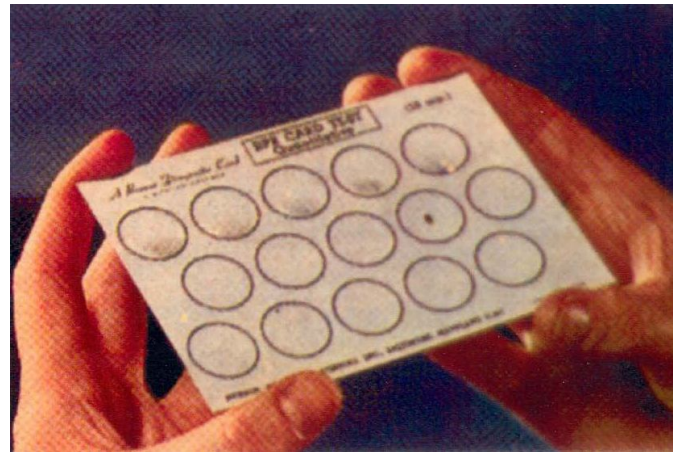


Técnicas no treponémicas

RPR *Rapid Plasma Reagin*



- ✓ No existe correspondencia directa entre títulos de RPR y VDRL
- ✓ Los cambios en los títulos, no han podido ser relacionados con tratamiento o las reinfecciones
- **Se recomienda sólo determinación Cualitativa**



Técnicas no treponémicas

USR Unheated Serum Reagin



- ✓ Reacción antígeno-anticuerpo de floculación en lámina.
- ✓ No requiere inactivación de las muestras de suero
- ✓ La suspensión de antígeno es estabilizada con EDTA
- ✓ Permite análisis cualitativo y cuantitativo.
- ✓ Técnica:
 - Preparación de antígeno: No requiere
- ✓ Calibrar:
 - Rotador: 180+- 2 rpm.
 - Aguja calibre 18 (suero)



Técnicas no treponémicas

USR *Unheated Serum Test*



- ✓ Materiales:
 - Láminas de vidrio 2x3 pulgadas con 12 anillos de parafina o cerámica. De 14 mm de diámetro.
- ✓ De fácil uso, económica
- ✓ Lectura microscópica

- **No requiere inactivación del suero**
- **No estandarizado su uso en LCR**
- **Presenta 1 a 2 títulos de diferencia con VDRL**
- **Marca *Wiener***
- **Control de tratamiento**



Técnicas no treponémicas

VDRL Venereal Disease Research Laboratory



- ✓ Reacción antígeno-anticuerpo de floculación en lámina.
- ✓ Muestras: suero calentado o LCR.
- ✓ El antígeno es una solución alcohólica incolora que contiene cardiolipina, colesterol y lecitina purificada para producir una reactividad estándar.
- ✓ La solución salina amortiguada contiene formaldehído neutro, fosfato disódico, fosfato monopotásico y cloruro de sodio.
- ✓ Permite análisis cualitativo y cuantitativo.



Técnicas no treponémicas

VDRL Venereal Disease Research Laboratory



✓ Técnica:

Preparación de antígeno: Laboratorio

✓ Calibrar:

Rotador: 180+- 2 rpm.

Aguja calibre 18 (suero)

Aguja calibre 21 (LCR)

Baño termorregulado a 56°C

Temperatura ambiente de 23° a 29°C

✓ Materiales:

Láminas de vidrio 2x3 pulgadas con 12 anillos de parafina o cerámica. De 14 mm de diámetro.

Frascos de vidrio fondo plano de 35 mm de diámetro.



Técnicas no treponémicas

VDRL *Venereal Disease Research Laboratory*



- ✓ Económica
 - ✓ Requiere de personal muy capacitado en la preparación del antígeno y lectura de los resultados
 - ✓ Lectura macroscópica
 - ✓ Puede presentar en la cuantificación de las muestras, el fenómeno de **prozona**
-
- **Requiere inactivación del suero**
 - **Estandarizada y de elección para LCR**
 - **Técnica normada para el control de embarazadas**
 - **Control de tratamiento**



Técnicas no treponémicas

VDRL *Venereal Disease Research Laboratory*



| Diluciones del suero | | | | | | Informe |
|----------------------|-----|-----|-----|------|------|------------------------|
| S/diluir(1:1) | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 | 1:32 | |
| R | Rd | - | - | - | - | Reactivo sin diluir |
| R | R | Rd | - | - | - | R. en dilución al 1:2 |
| R | R | R | Rd | - | - | R. en dilución al 1:4 |
| Rd | R | R | R | Rd | - | R. en dilución al 1:8 |
| NR(rugoso) | Rd | R | R | R | - | R. en dilución al 1:16 |
| Rd | - | - | - | - | - | Reactivo débil |
| R | R | - | - | - | - | R. en dilución al 1:2 |

R=Reactivo Rd=Reactivo débil NR=No Reactivo



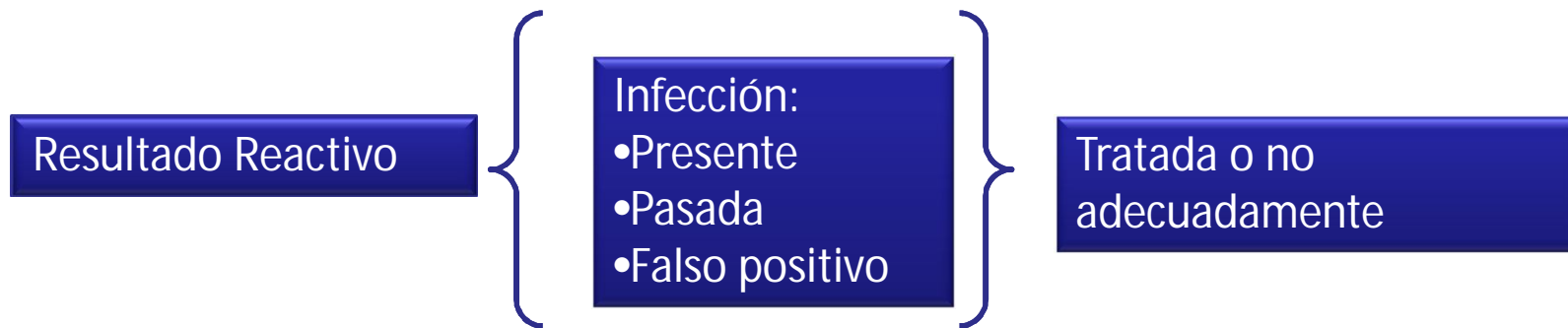
Técnicas no treponémicas



| | RPR | USR | VDRL |
|------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|---------------------------------------|
| APLICACIÓN | Screening | Screening Control de tratamiento | Screening Control de tratamiento |
| REACCION | Floculación | Floculación | Floculación |
| EXAMEN | Cualitativo | Cuali y Cuantitativo | Cuali y Cuantitativo |
| OBSERVACION | Macroscópica | Microscópica | Microscópica |
| MUESTRA | Suero o plasma | Suero | Suero y LCR |
| ANTIGENO | Listo para usar | Listo para usar | Se prepara |
| ESTABILIDAD DEL ANTÍGENO | Fecha de expiración | Fecha de expiración | 12 horas |
| PREPARACION DE LAS MUESTRAS | No requiere | No requiere | Calentar suero a 56° C por 30 minutos |



Técnicas no treponémicas



Técnicas no treponémicas



Table 1:2. Performance of Standard Status Nontreponemal Tests

| Test | Percentage of Sensitivity by Stage of Untreated Syphilis | | | | Specificity |
|----------|--|-----------|------------|-----------|-------------|
| | Primary | Secondary | Latent | Late | Nonsyphilis |
| VDRL | 78(74–87) ^a | 100 | 96(88–100) | 71(34–94) | 98(96–99) |
| RPR card | 86 (77–99) | 100 | 98(95–100) | 73 | 98(93–99) |
| USR | 80(72–88) | 100 | 95(88–100) | | 99 |
| TRUST | 85(77–86) | 100 | 98(95–100) | | 99(98–99) |

^aRange of sensitivity in CDC studies.



Técnicas no treponémicas



CAUSAS DE FALSOS POSITIVOS EN LAS PRUEBAS SEROLÓGICAS NO TREPONEMICAS PARA LA SIFILIS

Agudas

- ✓ Inmunizaciones
- ✓ Neumonía viral
- ✓ Varicela
- ✓ Paludismo
- ✓ Sarampión
- ✓ Embarazo
- ✓ Herpes genital
- ✓ Mononucleosis
- ✓ Consumo de drogas por vía parenteral



Técnicas no treponémicas



- ✓ HIV
- ✓ Leptospirosis
- ✓ Borreliosis

Cronicas

- ✓ Envejecimiento
- ✓ Trastornos autoinmunitarios
- ✓ Lupus eritematoso sistémico
- ✓ Lepra
- ✓ Artritis reumatoide
- ✓ Consumo de drogas por vía parenteral
- ✓ Neoplasias

La manifestación de la falsa reactividad, generalmente no supera el título de 1:4 o 1:8



Técnicas no treponémicas



CONCLUSIONES

- ✓ Puesto que **no** miden anticuerpos específicos frente a *T. pallidum* **su positividad no asegura enfermedad sifilítica.**
- ✓ Una de las grandes ventajas de estas técnicas es que son fundamentales para **monitorear la eficacia de los tratamientos** mediante el descenso de los títulos séricos en el tiempo pudiendo hasta negativizarse.
- ✓ **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 **neurosífilis**, (junto a una treponémica en suero).



Técnicas no treponémicas



- ✓ La evaluación del tratamiento se debe realizar con la misma técnica, dada la diferencia de títulos entre ellas.
- ✓ Las ventajas de estas técnicas están asociadas a la mediana complejidad de su realización y de su bajo costo.
- ✓ Las desventajas van asociadas a la inespecificidad que presenta en algunos casos, otorgando falsos positivos.
- ✓ En el caso del VDRL, la mayor desventaja va asociada a la escasa disposición en el mercado, de material de trabajo (láminas, frascos de antígenos). Lo que se contrapone con las normativa diagnóstica vigente y la importancia de ésta técnica.





Muchas gracias



T.M. Rodrigo Colina M.
Encargado Laboratorio ITS
e-mail: rcolina@ispch.cl
Fono: 25755434 - 255434

