

# Diagnóstico Serológico de Sífilis

## Técnicas 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

# Técnicas treponémicas



**FTA-ABS** (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption)

**MHA-TP** (Micro Hemagglutination Assay for antibodies to *Treponema pallidum*)

**ELISA** Enzima inmunoensayo (**Quimioluminiscencia**)

**Inmunocromatografía**

**Western blot**



# Técnicas treponémicas



- ✓ Son técnicas que usan antígenos de membrana externa de *Treponema pallidum* y antígenos recombinantes
- ✓ Detectan anticuerpos IgG e IgM anti *Treponema pallidum*
- ✓ Son exámenes confirmatorios (FTA-Abs y MHA-Tp)
- ✓ Son muy sensibles
- ✓ Son muy específicos
- ✓ Permanecen reactivos de por vida
- ✓ Son exámenes cualitativos
- ✓ No sirven para monitoreo de terapia: Acs persisten elevados
- ✓ No sirven para re-infección
- ✓ No estandarizados para diagnóstico de Neurosífilis

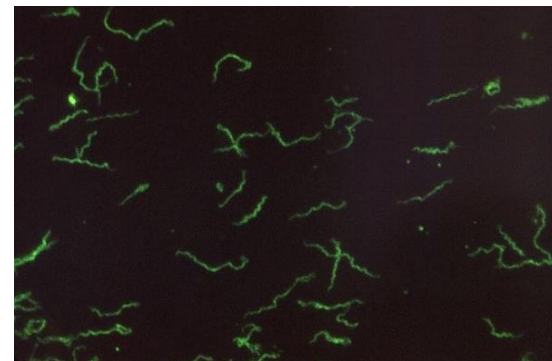


# Técnicas treponémicas

## FTA-Abs



- ✓ Es el método de referencia para la detección de anticuerpos
- ✓ Muestra de suero inactivado a 56°C en baño termorregulado por 30 minutos.
- ✓ Usa fracciones de Treponemas como antígeno.
- ✓ El conjugado consiste en Antiglobulina humana con isotiocianato de fluoresceína
- ✓ Es una técnica compleja y de alto costo, se requiere equipamiento y personal adiestrado.
- ✓ Microscopio Inmunofluorescencia
- ✓ Permanece positiva de por vida.
- **Técnica operador dependiente**



# Técnicas treponémicas

## FTA-Abs



- ✓ Es útil en todas las etapas de la enfermedad
- ✓ Presenta alrededor de un 1% de falsos positivos
- ✓ Está sometida a múltiples causas de error si no se estandarizan previamente todos los reactivos entre si.
- ✓ Utilización de siete controles para estandarización de la técnica.
- ✓ Lectura menos objetiva (fluorescencia inespecífica)
- ✓ Debe realizarse previa absorción del suero para eliminar la reacción cruzada con otros treponemas. (sorbente)
- ✓ La reactividad se declara en cruces por la intensidad de la fluorescencia.

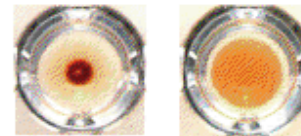
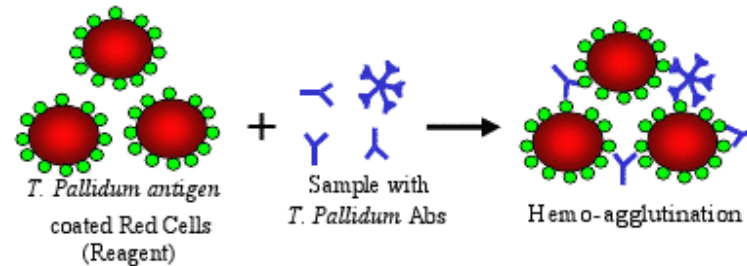


# Técnicas treponémicas

## MHA-Tp



- ✓ Utiliza glóbulos rojos de pollo como fase sólida, sensibilizados con proteínas de *Treponema pallidum*.
- ✓ Método de aglutinación
- ✓ Es una técnica sencilla
- ✓ No requiere de equipamiento complejo. Espejo lector y microplacas con fondo concavo



Negative

Positive



# Técnicas treponémicas

## MHA-Tp



- ✓ La lectura se realiza a través de diluciones sucesivas del suero hasta 1:80
- ✓ El intensidad de la reacción se declara en cruces, de acuerdo a la intensidad de la aglutinación
- ✓ No está demostrada la utilidad de cuantificar el resultado
- ✓ Puede en algunos casos no ser útil en el inicio de la enfermedad.
- ✓ Tampoco esta homologada para su empleo en LCR
- ✓ **Produce menos falsos positivos que FTA-ABS**



# Técnicas treponémicas



	FTA-Abs	MHA-Tp
<b>APLICACION</b>	Confirmación diagnóstica	Confirmación diagnóstica
<b>ANTIGENO</b>	Treponema <i>pallidum</i>	Glóbulos rojos sensibilizados
<b>REACCION</b>	Inmunofluorescencia Ag-Ac	Aglutinación Ag-Ac
<b>EXAMEN</b>	Cualitativo	Cualitativo
<b>LECTURA</b>	Microscópica	Macroscópica
<b>TIEMPO</b>	4 horas	2 horas
<b>MUESTRA</b>	Suero	Suero
<b>TECNICA</b>	Relativamente difícil. Costosa	Relativamente fácil. No muy costosa





# Técnicas treponémicas



Table 1:4. Performance of Standard Status Treponemal Tests

Test	Sensitivity by Stage of Untreated Syphilis				Specificity
	Primary	Secondary	Latent	Late	Nonsyphilis
FTA-ABS	84(70-100) <sup>a</sup>	100	100	96	97(84-100)
FTA-ABS DS	80(70-100)	100	100		98(97-100)
MHA-TP	76(69-90)	100	97(97-100)		99(98-100)

<sup>a</sup>Range of sensitivity in CDC studies.

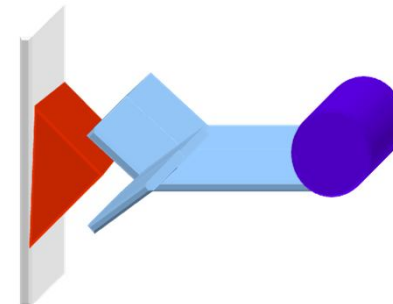


# Técnicas treponémicas

## ELISA



- ✓ Método de cuantificación inmunológica que evalúa la reacción antígeno-anticuerpo mediante una reacción enzimática
- ✓ Usa proteínas recombinantes de *Treponema pallidum*.
- ✓ Es una técnica que es capaz de reconocer memoria inmunológica.
- ✓ Es la técnica de elección para **tamizaje de bancos de sangre**.
- ✓ Es automatizable y los datos son documentados.
- ✓ Detecta anticuerpos IgG o IgM



# Técnicas treponémicas

## ELISA



- ✓ Estas pruebas permiten la automatización de grandes cantidades de muestras y lecturas objetivas.
- Excelente sensibilidad, aunque presentan una menor especificidad que el FTA-Abs y MHA-Tp
- Un test de ELISA positivo para treponema puede significar enfermedad actual o antigua, y la sangre se considera no segura (Tamizaje). En esta situación se indica realizar examen no treponémico (VDRL, RPR o USR)



# Técnicas treponémicas

## Inmunocromatografía



- ✓ El inmunocomplejo se une a las proteínas recombinantes del Treponema y en la línea de prueba se produce una reacción de color
- ✓ Un exceso de conjugado reacciona en la línea de control formando una 2ª línea
- ✓ Test pack rápido como tamizaje
- ✓ Esta prueba generó mucha expectativa
- ✓ Posee excelente sensibilidad, pero menos especificidad que las técnicas confirmatorias.



# Técnicas treponémicas

## Western Blot



- ✓ Es una técnica que detecta anticuerpos para epítopes específicos en antígenos, previamente separados por electroforesis de alta resolución, de acuerdo al peso molecular
- Al tener contacto el anticuerpo con estas proteínas se observan bandas de reacción.
- Esta prueba 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%.



# Técnicas treponémicas

## PCR



- ✓ Detecta ADN bacteriano directo de las lesiones.
- ✓ Sensibilidad descrita para úlceras y en sífilis mucocutánea >95%, para LCR 31 – 65%
- ✓ La prueba de PCR que detecta ADN de *Treponema pallidum*, es de gran utilidad en el diagnóstico de aquellas sífilis cuyo diagnóstico representa dificultad como son sífilis congénita, la sífilis tardía y en detectar infección persistente en individuos que han recibido tratamiento ineficaz
- ✓ La ventaja es que al amplificar ADN específico de *Treponema pallidum*, se elimina la posibilidad de detectar falsos positivos, además que puede realizarse en gestación temprana, mediante el estudio del líquido amniótico
- **PCR ni WB no han mostrado ser mejor que VDRL para el diagnóstico de neurosífilis en LCR.**



# Técnicas treponémicas



## Falsos positivos

- ✓ Mononucleosis
- ✓ Lepra
- ✓ Enfermedad de colágeno
- ✓ Borreliosis
- ✓ Leptospirosis
- ✓ HIV
- ✓ Anemia hemolítica autoinmune
- ✓ Adictos a drogas por vía parenteral



# Técnicas treponémicas



- ✓ 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, 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:
- ✓ 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.





# Técnicas treponémicas



- ✓ Ensayar los sueros únicamente con pruebas treponémicas puede llevarnos a falsos negativos en los estadios primarios de la infección.
- ✓ 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 se recomienda 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.





# Muchas gracias



**T.M. Rodrigo Colina M.**  
**Encargado Laboratorio ITS**  
**e-mail: [rcolina@ispch.cl](mailto:rcolina@ispch.cl)**  
**Fono: 25755434 - 255434**

