CONTRIBUIÇÃO DA REAÇÃO DE MICRO-HEMAGLUTINAÇÃO PASSIVA PARA O *TREPONEMA PALLIDUM* (MHA-TP) NO LÍQUIDO CEFALORRAQUEANO AO DIAGNÓSTICO DE NEUROSSÍFILIS

ALUIZIO DE BARROS BARRETO MACHADO* — GILBERTO EDUARDO BASSI**

SUELI MATILDE DA SILVA*** — SANDRA GUGLIELMO***

RESUMO — Foi avaliado o comportamento da MHA-TP em 25 amostras de líquido cefalorraqueano (LCR) obtidas de pacientes com diagnóstico de neurosífilis (grupo NS) e em 7 amostras de LCR de pacientes com reações sorológicas reagentes para sífilis (grupo RSS+), comparando-o ao de outras reações treponêmicas e não treponêmicas. A MHA-TP foi reagente em todas as amostras do grupo NS, a reação de imunofluorescência (FTA-Abs) e a de fixação de complemento de Wassermann (FCW) em 24 e a reação do V.D.R.L. (VDRL) em apenas 9. Nas 7 amostras do grupo RSS+ o FTA-Abs foi reagente, a MHA-TP em 6 e a FCW e o VDRL foram não reagentes. A análise dos resultados permitiu a conclusão de que o diagnóstico clínico de neurosífilis deve ser complementado pelo exame do LCR através do estudo das células, do perfil proteico e da associação de reações imunológicas treponêmicas e não treponêmicas. A MHA-TP foi tão sensível quanto o FTA-Abs e requereu menor prática técnica e interpretativa, contribuindo, quando associada a reações não treponêmicas, ao diagnóstico de neurosífilis.

Contribution of micro-hemagglutination test for antibodies to *Treponema pallidum* (MHA-TP) in cerebrospinal fluid to neurosyphilis diagnosis.

SUMMARY — A quantitative micro-hemagglutination test for antibodies to *Treponema pallidum* (MHA-TP) was evaluated in 25 cerebrospinal fluid (CSF) samples obtained from patients with neurosyphilis (NS group) and in 7 CSF samples of patients with reactive serologic tests for syphilis (STS+). These data were compared to treponemal and nontreponemal tests. The MHA-TP was reactive in all of the 25 NS group samples, the FTA-Abs and the complement fixation of Wassermann (CFW) were in 24 and the VDRL in only 9. In the 7 STS+ samples (STS+ group), the MHA-TP was reactive in 6, the FTA-Abs in all of them and the nontreponemal tests were nonreactive. Results analyses support conclusion the clinical diagnosis of NS must be complemented by cytoproteic dual and immunological treponemal and nontreponemal assays in CSF. The MHA-TP test was as sensitive as FTA-Abs and required less technical and interpretative skills, contributing in association to CFW to NS diagnosis.

As publicações mais recentes concordam em duas afirmações sobre a neurosífilis: o advento da penicilino-terapia promoveu redução marcante na sua incidência e o uso indiscriminado de antibióticos induziu a dificuldades maiores no seu diagnóstico clínico^{3,14,17}. A atipia das formas clínicas atuais da neurosífilis e o número crescente da sua forma assintomática⁶ tornaram imprescindível seu diagnóstico laboratorial pelo exame do líquido cefalorraqueano (LCR)¹⁸ que, segundo as normas do Center

Trabalho da Seção de Líquido Cefalorraqueano da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP):

* Mestre em Neurologia (FMUSP); ** Médico-Chefe; *** Biologista.

Laboratório Central, Hospital das Clínicas — Caixa Postal 8091 - 01051 São Paulo SP - Brasil

for Diseases Control, é obrigatório em pacientes com suspeita clínica da doença e recomendado para pacientes assintomáticos com sífilis que tenha mais de um ano de duração e para casos de diagnóstico e de controle de evolução de sífilis congênita². Na neurosífilis, doença modelo dos processos inflamatórios crônicos do sistema nervoso central, o dano da barreira hêmato — encefálica (BHE) é pequeno e, portanto, os fenômenos neuroimunológicos locais sinalizam melhor o dual citoproteico do LCR¹². Esta sinalização torna-se evidente pelas alterações do exame citológico e do perfil proteico e pela presença de anticorpos não-específicos e de anticorpos específicos. Os não-específicos reagem com a cardiolipina e são detectados por dois tipos de reações não treponêmicas: a fixação de complemento de Wassermann (FCW) e a de flocculação do V.D.R.L. (VDRL). Os anticorpos específicos reagem com o *Treponema pallidum* (TP) e, em nosso meio, são pesquisados no LCR pela reação de imunofluorescência indireta (FTA-Abs), a mais difundida pelos seus altos índices de sensibilidade e especificidade^{1,5}. A reação de hemaglutinação passiva para o TP, descrita por Rathlev em 1967¹⁵ representou importante progresso no diagnóstico de sífilis devido a sua especificidade, a sua sensibilidade e ao seu baixo custo operacional. Estas vantagens foram confirmadas para o estudo de anticorpos treponêmicos no LCR⁷.

O objetivo deste trabalho é avaliar o comportamento da MHA-TP em amostras de LCR obtidas de pacientes com diagnóstico de neurosífilis e de pacientes com reações sorológicas reagentes para sífilis, comparando-a às reações não treponêmicas FCW e à reação treponêmica FTA-Abs.

MATERIAL E MÉTODOS

As 32 amostras de LCR estudadas foram divididas em dois grupos pela procedência: 25 foram obtidas de pacientes com diagnóstico de neurosífilis (grupo NS) e 7 de pacientes com reações sorológicas reagentes para sífilis (grupo RSS+). Em cada amostra foram avaliadas: as características do dual citoproteico quanto ao exame citológico, às proteínas totais, à reação coloidal de Takata-Ara; as reações FCW, VDRL, FTA-Abs e MHA-TP.

Os métodos usados e os resultados dos exames das amostras foram os adotados pela Seção de Líquido Cefalorraqueano da Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP (1,4,9,16). Para a MHA-TP foi usada a técnica de Johnston (*), com os reagentes Sera-Tek (Laboratório Miles do Brasil). Para os exames citológicos e do perfil proteico os resultados foram considerados como normal ou alterado. Para as reações imunológicas, os resultados foram dados como reagente ou não reagente para o FTA-Abs e, para as demais, foi anotado o título quando reagentes.

RESULTADOS

Os resultados do exame citológico e do perfil proteico nos dois grupos de amostras constam das tabelas 1 e 2. As reações imunológicas reagentes do grupo NS e do grupo RSS+ foram distribuídas na tabela 3 e a associação entre as reações treponêmicas e não treponêmicas reagentes do grupo NS encontra-se na tabela 4. O comportamento dos títulos da MHA-TP frente aos dois grupos é apresentado na tabela 5.

Grupo NS		Exame citológico		
		alterado	normal	total
Perfil proteico	alterado	7	8	15
	normal	3	7	10
	total	10	15	25

Tabela 1 — Distribuição das 25 amostras do grupo NS quanto ao exame citológico e ao perfil proteico: grupo NS, grupo de amostras de pacientes com diagnóstico de neurosífilis.

Grupo RSS+		Exame citológico		
		alterado	normal	total
Perfil proteico	alterado	1	1	2
	normal	0	5	5
	total	1	6	7

Tabela 2 — Distribuição das 7 amostras do grupo RSS+ quanto ao exame citológico e ao perfil proteico: grupo RSS+, grupo de amostras de pacientes com RSS+.

Reações imunológicas	FCW	VDRL	FTA-Abs	MHA-TP	total
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n
Grupo NS	24 (96)	9 (36)	24 (96)	25 (100)	25
Grupo RSS+	0	0	7 (100)	6 (86)	7

Tabela 3 — Distribuição das amostras reagentes conforme a reação usada (FCW, fixação de complemento de Wassermann; VDRL, V.D.R.L.; FTA-Abs, imunofluorescência FTA-Abs; MHA-TP, hemaglutinação passiva para o *Treponema pallidum*) no grupo estudado (av. tabelas 1 e 2) em números absolutos (n) e percentuais (%).

Associações concordantes	Reações treponêmicas		
		FTA-Abs	MHA-TP
Reações não treponêmicas	FCW	23	24
	VDRL	9	9

Tabela 4 — Distribuição numérica das associações concordantes das reações treponêmicas e não treponêmicas reagentes nas 25 amostras do grupo NS (v. tabelas 1 e 3).

Títulos da MHA-TP	2	4	8	16	32	64	128	total
	n	n	n	n	n	n	n	n
Grupo NS	4	2	2	5	4	2	6	25
Grupo RSS+	2	4	0	0	0	0	0	6

Tabela 5 — Distribuição das 31 amostras MHA-TP reagentes pelo título da reação nos dois grupos estudados (v. tabelas 1, 2 e 3).

COMENTÁRIOS

A análise dos resultados quanto ao comportamento celular e proteico mostra as suas diferentes sinalizações nos dois grupos estudados. Em 18 das 25 amostras do grupo NS (72%) houve alterações no dual, sendo concomitantes em 7 (28%), res- tritas ao exame citológico em 10 (40%) e ao perfil proteico em 15 (60%). No grupo RSS+ a sinalização foi observada em apenas 2 das 7 amostras, sendo que naquela em

que ambos os componentes do dual estavam alterados o paciente tinha o diagnóstico de mielite esquistossomótica. As informações advindas do estudo das células e das proteínas dão conta do processo inflamatório crônico que o TP produz no sistema nervoso e estão de acordo com a literatura^{12,14}.

Quanto à comparação entre os resultados das reações imunológicas no grupo NS, a reação do VDRL mostrou-se muito pouco sensível, sendo reagente em apenas 36% das amostras, fato que pode ser imputado à técnica adotada⁴. Entretanto, tem sido registrada com frequência a superioridade da FCW sobre o VDRL no LCR^{11,14}, observação que pudemos constatar. Por outro lado, a alta sensibilidade descrita para o FTA-Abs^{1,5} e para a MHA-TP^{7,8} foi evidente no grupo NS, confirmando a contribuição dos testes treponêmicos ao diagnóstico laboratorial da neurosífilis. Nos 7 casos do grupo RSS+ o FTA-Abs foi reagente, enquanto a MHA-TP foi reagente em 6. Tratando-se de reações que detectam anticorpos específicos, estes resultados devem ser atribuídos à passagem pela BHE de anticorpos treponêmicos séricos^{7,13}. As reações FCW e do VDRL não apresentaram resultados falso-reagentes, informação já relatada por Lange¹⁰.

A associação de teste treponêmico de alta sensibilidade a teste não treponêmico é técnica recomendável ao diagnóstico de neurosífilis pelo exame do LCR. A associação MHA-TP e FCW foi a mais concordante para o grupo NS. A avaliação dos títulos da MHA-TP, frente aos dois grupos de amostras, mostrou que no grupo RSS+ eles não ultrapassaram a 4, enquanto no grupo NS os títulos foram superiores a 4 em 76% das amostras. Apesar da amostragem pequena, é possível admitir que os anticorpos séricos não atravessam a BHE em níveis elevados e sugerir que títulos altos da MHA-TP no LCR são compatíveis ao diagnóstico de neurosífilis.

As conclusões deste estudo são que: a MHA-TP no LCR, quando comparada ao FTA-Abs, é igualmente sensível e apresenta como vantagens as simplicidades técnica e interpretativa, além de menor custo operacional; associada à FCW, contribui ao diagnóstico da neurosífilis.

REFERÊNCIAS

1. Camargo ME, Bittencourt JMT — A reação indireta de imunofluorescência para a sífilis no líquido cefalorraqueano. *Rev Paulista Med* 69:15, 1966.
2. Center for Disease Control — Syphilis: recommended treatment schedules. *Ann Intern Med* 85:94, 1976.
3. Colli BO, Martelli N, Araújo LP, Barbieri J Neto — Goma sífilítica intra-raquidea causando compressão medular. *Arq Neuro-Psiquiat (São Paulo)* 37:197, 1979.
4. Duncan WP, Bossak HN, Harris A — VDRL slide spinal fluid test. *Am J Clin Pathol* 35:93, 1961.
5. Harris A, Bossak HM, Deacon WE, Bunch WL Jr — Comparison of the fluorescent treponemal antibody test with other tests for syphilis on cerebrospinal fluids. *Br J Vener Dis* 36:178, 1960.
6. Hooshmand H, Escobar MR, Kopf SW — Neurosyphilis: a study of 241 patients. *J Am Med Assoc* 219:726, 1972.
7. Jaffe HW, Larsen SA, Peters M, Jove DF, Lopez B, Schroeter AL — Tests for treponemal antibody in CSF. *Arch Intern Med* 138:252, 1978.
8. Johnston NA — Treponema pallidum hemagglutination test for syphilis: evaluation of a modified micro-method. *Br J Vener Dis* 48:474, 1972.
9. Kolmer JA, Spaulding EM, Robinson HW — Approved Laboratory Technic. Ed 5. Appleton-Century Crofts, New York, 1951, pg 797-855.
10. Lange O — Sífilis nervosa pré-clínica: contribuição à profilaxia da sífilis nervosa pelo exame do líquido céfalo-raquidiano. Tese. São Paulo, 1938.
11. Livramento JA — Contribuição de reações de imunofluorescência no líquido cefalorraqueano ao estudo da neurocisticercose. Tese. São Paulo, 1980.

12. Livramento JA, Machado LR, Spina-França A — Sinalização do líquido cefalorraqueano em doenças inflamatórias crônicas do sistema nervoso central. *Arq Neuro-Psiquiat* (São Paulo) 44:351, 1986.
13. Müller F, Kruska M, Hippius H — Über Beziehungen zwischen immobilisierenden Antikörpern im Serum und Liquor cerebrospinalis. *Z Neurol* 198:237, 1970.
14. Nitrini R — Neurosífilis: análise de alguns aspectos clínicos e laboratoriais. Tese. São Paulo, 1981.
15. Rathlev T — Hemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for sero-diagnosis of syphilis. *Br J Vener Dis* 43:181, 1967.
16. Spina-França A — Líquido cefalorraqueano. In Tolosa A, Canelas HM (eds): *Prope-dêutica Neurológica*. Ed 2. Prociencx, São Paulo, 1971, pg 443-465.
17. Zukerman E, Cardoso W, Di Migueli H, Reis-Filho I, Schwartzman JS, Bei A, Moreira MH, Giorgi DR, Rotberg A, Reis JB — Incidência de neurosífilis e de suas formas clínicas em São Paulo. *Rev Paulista Med* 70:270, 1967.
18. Zukerman E, Novo NF, Morgulis R, Reis-Filho JB, Barberini CH, Bertolucci PH — Incidência da neurosífilis e frequência de suas formas clínicas no período 1962-1981. *Arq Neuro-Psiquiat* (São Paulo) 41:337, 1983.