

Diagnóstico sorológico da sífilis* *Serological diagnosis of syphilis**

Osmar Rotta¹

Há 80 anos, o assistente do Instituto Vital Brasil Arlindo de Assis publicava extenso artigo denominado “O imunodiagnóstico da syphilis na actualidade” em que dissertava e discutia sobre inúmeras técnicas sorológicas que se desenvolviam no mundo no agora longínquo ano de 1925. Por extenso, não pode ser sabiamente resumido, mas apenas ter citados trechos que revelavam suas preocupações.¹

...“A experiencia foi progressivamente ensinando que o sorodiagnóstico da syphilis assenta em reacções anormaes dos liquidos organicos, modificados pela doença, sobre as suspenções colloidaes de certos lipoides. Ha fortes motivos de suspeitar que taes reacções tenham character especifico; o aspecto inesperado do phenomeno e a complexidade singular de sua individuação crearam, todavia, no começo, confusões graves e comprometedoras, que o aperfeiçoamento continuado da technica e das interpretações muito têm corrigido, caminhando aos poucos para sua eliminação.”

...“Nellas, com effeito, o contacto do systema colloidal existente nos liquidos de individuos são ou, em geral, isentos do syphile não se acompanha de nenhuma consequência extraordinaria; a mistura colloidal dos alludidos lipoides com humores normaes continúa indistinctamente como qualquer dos outros systemas congeneres, a sua marcha lenta para flocular.

A syphile, porem, transforma de tal maneira o meio interior, que, dahi em diante, o contacto dos liquidos com os lipoides desencadêa um desequilibrio enorme entre os dois systemas colloidaes presentes, acelerando, assim, com aspecto inteiramente significativo, a floculação.”

...“Na pratica geral, os de mais uso são os extractos de coração de boi, sobretudo quando criteriosamente adicionados de cholesterina, como ensinou Sachs, em 1917; seguem-n’os os de coração humano; depois, os de figado syphilitico (a falada riqueza de treponemas nos organs parece totalmente destituída

de importancia) e os de coração de cobaio.”

...“Não se pretende negar, porem, que a reacção de Wassermann, ou suas variantes podem ser positivas na ausencia de syphile e em algumas doenças outras; mas, estas doenças são em numero muito mais limitado do que affirmam e são de diagnostico relativamente facil: treponemoses (boubá) e alguns casos de lepra tuberosa.”

...“Nas outras doenças infectuosas, (paludismo, tuberculose, gonorrhéa, pneumococcias), em certas affecções constitucionaes (diabete), em estados de intoxicação passageira (alcoolismo, narcose) e até em determinadas condições physiologicas (gravidez, periodo digestivo) se têm assignalado reacções falsas.”

...“II – Reacções de floculação. – Os processos de floculação não podem ainda substituir a reacção de Wassermann; houve, no entanto, muitos casos de syphile em que esta ultima era negativa e elles positivos. É aconselhavel, por isso, associar as duas reacções.”

...“Tudo se inclina a provar, portanto, que, se o mecanismo das modificações humoraes da syphile fez progressos de ordem especulativa e geral, no terreno pratico a demonstração mais fiel dessas modificações é a das provas de hemolyse, descobertas por Wassermann. Melhores seriam ainda estas ultimas se combinassem em boa base, uma technica uniforme. As floculações e as turvações devem entrar na pratica, que é o caminho do aperfeiçoamento; ellas correspondem a factos de observação segura e de interpretação provavelmente certa; mas, no momento, seria mais prudente ter como base do imunodiagnostico da lues a reacção de Wassermann.”

Passados 80 anos, as reacções sorológicas com antígenos lipídicos ainda são úteis e importantes para o diagnóstico e o controle de cura. Ao longo destes anos agregaram-se ao arsenal diagnóstico da sífilis os testes treponêmicos e, na última década, os testes de amplificação de nucleotídeos.

Recebido em 18.04.2005.

Aprovado pelo Conselho Editorial e accito para publicação em 09.05.2005.

* Trabalho realizado na Escola Paulista de Medicina, São Paulo (SP) - Brasil

¹ Professor do Departamento de Dermatologia da Escola Paulista de Medicina da Universidade Federal de São Paulo (SP).

PROVAS LIPÍDICAS OU REAGÍNICAS

Essas provas detectam anticorpos tipo IgG e IgM contra lípidos séricos liberados no soro por dano à membrana das mitocôndrias do hospedeiro e contra lípidos da membrana do *Treponema pallidum*. As reações de floculação – notadamente o VDRL – substituíram as de fixação de complemento, que tiveram como primeiro modelo a descrita por Wassermann, Neisser, Bruck em 1906. Mesmo entre as inúmeras reações de floculação descritas (Hinton, Kline, Khan, Mazzini, Meinicke), o VDRL mantém seu predomínio,² dentre as recomendadas pela Organização Mundial da Saúde. Seu antígeno é uniformizado em todos os laboratórios, desde que Pangborn, em 1941, isolou os princípios ativos do extrato de coração de boi então utilizado. Obstáculo importante é a necessidade do preparo diário da mistura de cardiolipina (0,03%), colesterol (0,9%) e lecitina (0,21%).

A prova do VDRL positiva-se cinco a seis semanas após a infecção, podendo, portanto, estar negativa na presença do cancro duro de curta duração. Apresenta elevada sensibilidade^o na sífilis secundária (100%), que se reduz a 70% nas formas tardias. Os raros casos de falso-negativos decorrem do excesso de anticorpos que induzem à falha técnica conhecida como fenômeno prozona, também mais acentuadamente presente na sífilis com Aids.

Sua especificidade^o é muito elevada (99 a 100%) na população sadia, ocorrendo falso-positivas em inúmeras condições mórbidas (Quadro 1).

Presta-se ao controle de cura, e o acompanhamento sorológico pós-tratamento deverá ser trimestral no primeiro ano e semestral no segundo, quando ocorrerá ou a negatificação ou a persistência de baixos títulos (cicatriz sorológica).³ Considera-se cicatriz sorológica a persistência, após os dois anos, de reações em baixos títulos (de soro puro até 1:4), com provas treponêmicas positivas. Sorologias persistentes em títulos elevados, mesmo com LCR normal, devem ser acompanhadas por maior tempo, devido à possibilidade de existirem outros reservatórios de treponemas; retratamentos nesses casos assintomáticos são ineficazes.

Os testes rápidos de leitura macroscópica assumem papel de relevo para detecção populacional e em clínicas destinadas à população de homo e bissexuais assintomáticos.⁴ O teste de reagina plasmática rápida (RPR) utiliza partículas de carvão como indicador; o teste de screening (RST) utiliza o corante lipossolúvel Sudan Black B; e o teste da toluidina vermelha com soro não aquecido (Trust), esse azopigmento. A tendência futura destes testes rápidos, é a sua substituição por antígenos treponêmicos.

PROVAS TREPONÊMICAS

A grande dificuldade para um melhor desenvolvimento do uso do próprio *Treponema pallidum* como antígeno é a ausência de cultivo *in vitro*. Em 1949, Nelson e Meyer desenvolveram a prova de imobilização (TPI), que se mostrou o padrão-ouro no

QUADRO 1: Principais causas de reações falso-positivas

LIPÍDICAS	infecções/ infestações	malária hanseníase tifo pneumonia viral mononucleose tuberculose hepatite	endocardite bacteriana sarampo varicela filariose tripanossomíase leptospirose
	doenças imunes	lúpus sistêmico poliarterite nodosa artrite reumatóide	
	outras condições	gestação drogas ilícitas senectude	
TREPONÊMICAS		colagenoses sádios com fator reumatóide hansenianos	

* *Grosso modo*, usa-se o termo sensibilidade como a capacidade de detectar casos reais da doença e especificidade de não detectar sádios como doentes.

QUADRO 2: Recursos diagnósticos nas diferentes fases da sífilis

PRIMÁRIA SORONEGATIVA
● pesquisa de T.p em campo escuro
● PCR do esfregaço do cancro duro
PRIMÁRIA SOROPOSITIVA/SECUNDÁRIA
● VDRL mais HA-Tp ou FTA-abs
LATENTE
● VDRL mais HA-Tp ou FTA-abs
● LCR (líquor)
TARDIA
● VDRL mais HA-Tp ou FTA-abs
+ histopatologia
+ PCR tecido
+ LCR

diagnóstico da sífilis. Sua execução dispendiosa e trabalhosa levou-a a permanecer restrita à área acadêmica. Para obtenção dos treponemas vivos, necessárias se fazem diversas inoculações em testículos de coelhos (cepa de Nichols, 1917), cujas orquites demoram de 11 a 28 dias para ocorrer. Os treponemas vivos assim obtidos serão imobilizados pela presença de anticorpos imobilizantes no soro: se 50% ou mais deles são imobilizados, o resultado é positivo⁵ (doença) e se menos de 20%, negativo. Apresenta alta sensibilidade e especificidade (99%), resultando em falso-negativo a presença de antibióticos no soro. As dificuldades práticas levaram ao desenvolvimento da

reação de fixação do complemento com treponemas mortos (Reiter), altamente inespecífica. As reações que a sucederam mostraram-se específicas: hemoaglutinação (Rathlev, 1967)⁶ e FTA-abs. As reações que antecederam o desenvolvimento do FTA-abs eram reagentes a anticorpos anticomensais, problema eliminado inicialmente com a diluição do soro (FTA-200) e posteriormente com absorção com treponema de Reiter. Apresenta sensibilidade de 99,5% e especificidade de 88,7%, falsopositivando-se em doenças autoimunes. Atualmente utilizam-se as reações de hemoaglutinação (MHA-Tp e HA-Tp) como testes confirmatórios, principalmente se o laboratório não estiver equipado com microscopia de fluorescência.

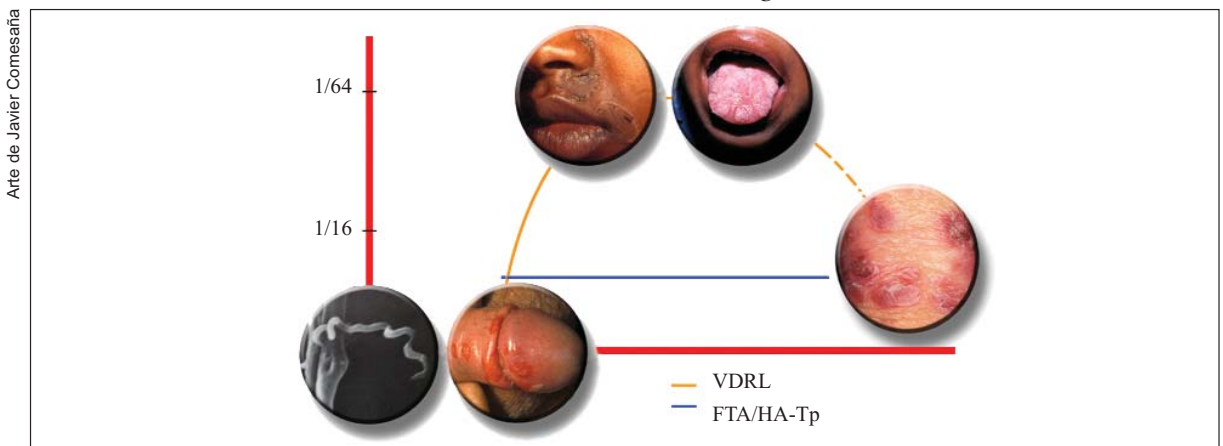
O imunoensaio enzimático treponêmico (EIA) utiliza antígeno treponêmico, antiglobulina humana e substrato enzimático, podendo ser modificado para detectar IgM.

A técnica de Western-blot identifica anticorpos contra imunodeterminantes de massas moleculares: 47 kDa, 17 kDa e 15 kDa. Atualmente utilizam-se técnicas de DNA recombinante para obtenção do antígeno do treponema.⁷ Com sensibilidade de 95,1% e especificidade de 94,7% será opção comercial futura, já que atualmente é objeto de pesquisa.

Os testes rápidos treponêmicos representam auxílio diagnóstico de extrema importância pela possibilidade de leitura imediata, facilitando a detecção do caso. O ensaio imunocromatográfico (Determine[®] Syphilis Tp) apresenta sensibilidade variável de 93,7 a 98,4%, especificidade de 95,2% a 97,3%, e utiliza como antígeno um complexo coloidal treponemase-lênio colorido.^{8,9} Testes de outras marcas não se mostraram tão eficazes, principalmente nas pesquisas com sangue total obtido por punção digital.¹⁰

Visto isso, pode-se afirmar que o diagnóstico sorológico baseia-se em duas reações (como citava

GRÁFICO 1: História natural da sorologia da sífilis



Arte de Javier Comesaña

Assis), uma lipídica e uma treponêmica, mas com complexidades técnicas muito superiores. Capítulo 4 parte são as reações de amplificação molecular.

Já em 1997 Zoechling et al.¹¹ aplicavam a técnica do PCR em lesões de sífilis secundária (quatro em seis positivas) e na goma (uma em sete). Utiliza-se hoje para detecção de antígenos treponêmicos na sífilis primária,¹² com alta sensibilidade (94,7%) e especi-

ficidade (98,6%).¹³ A amplificação do RNA é mais sensível ainda e revela a presença do microorganismo vivo. O quadro 2 resume as condutas mais comuns possíveis para o diagnóstico da sífilis em todas as fases, e o gráfico 1, o comportamento da sífilis não tratada.

Os avanços nestes 80 anos, como se viu, foram enormes, mas há situações em que, na prática diária, nem parecem. □

REFERÊNCIAS

1. Assis A. O imunodiagnóstico da syphilis na actualidade. *Annaes Brasileiros de Dermatologia e Syphilographia*. 1925; 1: 19-31.
2. Brown DL, Frank JE. Diagnosis and management of syphilis. *Am Fam Physician*. 2003; 68: 283-90.
3. Rotta O. Doenças sexualmente transmissíveis. In: Prado FC, Ramos J, Valle, JR. Atualização terapêutica. São Paulo: Artes Médicas; 2003. p.205.
4. Debattista J, Dwyer J, Anderson R, Rowling D, Patten J, Mortlock M. Screening for syphilis among men who have sex with men in various clinical settings. *Sex Trans Infect*. 2004; 80: 505-8.
5. Zielinski S, Borkhardt H. Studies on the lysozyme independence of immune immobilisation of *Treponema pallidum* and the frequency of lysozyme autoantibodies in syphilitic sera. *J Med Microbiol*. 1997; 46: 669-74.
6. Rathlev T. Haemagglutination test utilizing pathogenia *Treponema pallidum* for the sero-diagnosis of syphilis. *Br J Vener Dis*. 1967; 43: 181-5.
7. Sato NS, Suzuki T, Ueda T, Watanabe K, Hirata RD, Hirata MH. Recombinant antigen-based immuno-slot blot method for serodiagnosis of syphilis. *Braz J Med Bio Res*. 2004; 37: 949-55.
8. Sato NS, de Melo CS, Zerbini, LC, Silveira EP, Fagundes IJ, Ueda M. Assessment of the rapid test based on an immunochromatography technique for detecting anti-*Treponema pallidum* antibodies. *Rev Inst Med Trop SP*. 2003; 45: 319-22.
9. Diaz T, Almeida MG, Georg I, Maia SC, De Souza RV, Markowitz LE. Evaluation of Determine Rapid Syphilis TP assay using sera. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004; 11: 98-101.
10. Siedner M, Zapitz V, Ishida M, De La Roca R, Klausner JD. Performance of rapid syphilis tests in venous and fingerstick whole blood specimens. *Sex Trans Dis*. 2004; 31: 557-60.
11. Zoechling N, Schlupe EM, Soyer HP, Kerl H, Volkenandt M. Molecular detection of *Treponema pallidum* in secondary and tertiary syphilis. *Br J Dermatol*. 1997; 136: 683-6.
12. Wheeler HL, Agarwal S, Goh BT. Dark ground microscopy and treponemal serological tests in the diagnosis of early syphilis. *Sex Trans Infect*. 2004; 80: 411-4.
13. Palmer HM, Higgins SP, Herring AJ, Kingston MA. Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. *Sex Trans Infect*. 2003; 79: 479-83.

ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA:

Osmar Rotta

*Rua Maestro Cardim, 377 – 10º andar
01323-000 São Paulo SP*