

DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO DA SÍFILIS – NOVAS ORIENTAÇÕES

Maria João Cruz^{1,4}, Carmen Lisboa^{2,5}, Filomena Azevedo³

¹Interna do Internato Complementar de Dermatologia e Venereologia / Resident, Dermatology and Venereology

²Assistente Hospitalar Graduada de Dermatologia e Venereologia / Graduated Consultant, Dermatology and Venereology

³Directora do Serviço de Dermatologia e Venereologia / Director of the Dermatology Department
Serviço de Dermatologia e Venereologia do Hospital de São João, EPE Porto, Portugal

⁴Assistente convidada da cadeira de Dermatologia e Venereologia / Invited Assistant Professor of Dermatology and Venereology

⁵Assistente convidada da cadeira de Microbiologia, Doutorada / Invited Assistant Professor of Microbiology
Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal

RESUMO – A sífilis constitui ainda hoje um importante problema de saúde pública que requer diagnóstico e tratamento atempados e adequados. O diagnóstico assenta fundamentalmente nos exames serológicos – treponémicos e não-treponémicos. Nos últimos anos tem-se assistido a um importante avanço tecnológico nesta área com o desenvolvimento de vários novos métodos que utilizam antígenos treponémicos específicos, nomeadamente os testes imunoenzimáticos (EIA), de quimiluminiscência (CA) e imunocromatográficos. Apesar de muitos destes testes ainda não terem obtido a aprovação das organizações competentes, o seu desempenho (elevadas sensibilidade e especificidade) e automatização levou muitos laboratórios a adoptar um algoritmo inverso ao algoritmo clássico no rastreio da sífilis, (teste não-treponémico inicial). No entanto, os dados disponíveis actualmente ainda são insuficientes para afirmar que um algoritmo tem claros benefícios sobre o outro.

Com este trabalho as autoras pretendem resumir as mudanças que o diagnóstico da sífilis sofreu nos últimos anos, nomeadamente a nível do rastreio serológico, dando ênfase às vantagens e desvantagens das novas *guidelines*.

PALAVRAS-CHAVE – Sífilis; Testes Serológicos; Serodiagnóstico da Sífilis; Guidelines.

SYPHILIS SEROLOGIC DIAGNOSIS – NEW GUIDELINES

ABSTRACT – Syphilis is still today a major public health problem that requires prompt and appropriate diagnosis and treatment. The diagnosis is mainly based on serological tests – non-treponemal and treponemal. In recent years there has been a major technological advance in this area with the development of several new methods that use specific treponemal antigens, including enzyme immunoassays (EIA), chemiluminescence (CA) and immunochromatographic. Although many of these tests have not yet obtained approval from relevant organizations, their performance (high sensitivity and specificity) and automation have led many laboratories to adopt an inverse algorithm to the classic algorithm to the screening for syphilis, (non-treponemal first). However, currently available data are insufficient to decide that one has clear advantages over the other.

With this paper the authors intend to summarize the changes that the diagnosis of syphilis suffered in the past few years, particularly with the regard to serological screening, emphasizing the advantages and disadvantages of the new guidelines.

KEY-WORDS – Syphilis; Serologic Tests; Bacteriological Techniques; Syphilis Serodiagnosis; Guidelines.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não possuir conflitos de interesse.
No conflicts of interest.

Educação Médica Contínua

Correspondência:

Dr.ª Maria João Cruz

Serviço de Dermatologia e Venereologia

Hospital de São João, EPE

Alameda Professor Hernâni Monteiro

4300-219 Porto

Tel.: +351 225512193

Fax: +351 225512193

E-mail: mjmc@live.com.pt

INTRODUÇÃO

A sífilis é uma infecção sistémica, de transmissão maioritariamente sexual, causada por uma espiroqueta – *Treponema pallidum* ss. *pallidum*. A enorme variedade de manifestações clínicas desta doença levou Sir William Osler, um conhecido médico do séc. XIX, a apelidá-la de “grande simuladora”. À semiologia muito variada associa-se uma prevalência elevada e que tem sofrido variações ao longo dos tempos. Estas variações reflectem o resultado de um equilíbrio entre uma maior eficácia das campanhas de combate às doenças sexualmente transmitidas, por um lado, e factores que podem potenciar a sua incidência, por outro, nomeadamente a associação ao vírus da imunodeficiência humana (VIH), a prostituição, a toxicoddependência e a mudança de comportamentos sexuais (homens que têm sexo com homens, facilitismo do sexo ocasional)^{1,2}. Na actualidade, a Organização Mundial de Saúde calcula que cerca de 12 milhões de novos casos surjam a cada ano, 90% dos quais nos países em desenvolvimento³. Assim, a sífilis constitui ainda hoje um importante problema de saúde pública que requer diagnóstico e tratamento atempados e adequados.

O diagnóstico da sífilis deve assentar na complementaridade dos dados clínicos e dos resultados laboratoriais. Porém, este raramente é simples devido a períodos assintomáticos e de latência da doença e às dificuldades no processamento laboratorial. Como o *Treponema pallidum* não cresce em cultura, o diagnóstico da sífilis baseia-se em métodos directos de pesquisa da espiroqueta nos tecidos e exsudados (microscopia de fundo escuro, imunofluorescência directa, histopatologia e reacção de polimerase em cadeia), raramente disponíveis, e em métodos indirectos – exames serológicos – que são os mais frequentemente utilizados. Estes últimos adquirem particular importância no diagnóstico e tratamento da sífilis, e o profundo conhecimento das

suas nuances e limitações é fundamental para os médicos que lidam com estes doentes^{4,5}.

Com este trabalho as autoras pretendem resumir as mudanças que o diagnóstico da sífilis sofreu nos últimos anos, nomeadamente a nível do rastreio serológico, dando ênfase às vantagens e desvantagens das novas *guidelines*.

RESPOSTA IMUNOLÓGICA

Perante a presença do *T. pallidum*, o organismo do hospedeiro desencadeia uma resposta imunitária. Embora esta resposta não esteja muito bem estudada, envolve mecanismos humorais (produção de anticorpos contra antígenos treponémicos) e celulares (alterações histológicas características das lesões sífilíticas). Deste modo, no início da infecção, a primeira linha de defesa do hospedeiro contra o microrganismo é a produção de imunoglobulinas contra antígenos de superfície. Os anticorpos antitreponémicos IgM são produzidos a partir da 2ª semana após a infecção e os anticorpos IgG surgem 2 semanas após os IgM⁶. Ambas as classes de anticorpos podem ser detectadas cerca de 3 dias após o aparecimento do sífiloma primário. Na sífilis secundária existe um aumento acentuado desproporcional de produção de anticorpos IgG1 e IgG3, sendo que estes parecem ser mais elevados em doentes com maior tempo de duração da doença. Na sífilis latente não tratada verifica-se uma redução na produção de IgM, mantendo-se uma forte reactividade dos anticorpos da classe IgG. A redução das IgM é progressiva, sendo que na sífilis latente tardia estes podem mesmo tornar-se indetectáveis^{6,7}. Após tratamento, tanto na sífilis primária como secundária, os anticorpos antitreponémicos da classe IgM diminuem rapidamente, tornando-se indetectáveis ao fim de 6 a 12 meses. Esta diminuição parece traduzir uma resposta adequada ao

tratamento. Por outro lado, os anticorpos IgG1 e IgG3 podem persistir vários anos apesar do tratamento⁷.

TESTES SEROLÓGICOS DA SÍFILIS

Classicamente, os testes serológicos dividem-se em não-treponémicos, igualmente conhecidos como inespecíficos ou reagínicos, e treponémicos ou específicos. A sensibilidade dos testes serológicos varia com o estadió da sífilis, com o tipo de teste e com o laboratório que o executa. Muitos destes testes encontram-se ainda em fase de experimentação e validação clínicas e a sua correcta interpretação é fundamental para a orientação mais adequada destes doentes.

Testes não-treponémicos

O RPR (*rapid plasma reagin*) e o VDRL (*venereal disease research laboratory*) são os principais testes não-treponémicos disponíveis e utilizam antigénios contendo cardiolípinas que floculam na presença de anticorpos antitreponémicos. As cardiolípinas, componentes celulares do hospedeiro, são incorporadas e modificadas pelos treponemas, que as transformam em componentes imunogénicos, despertando desta forma a imunidade humoral do hospedeiro⁷.

O resultado destes testes é expresso de forma qualitativa (positivo/negativo) ou é quantificado num título que representa a maior diluição na qual se obtém um resultado positivo. Estes testes são positivos a partir da 4^a ou 5^a semana após a infecção e negativam em cerca de 25% a 30% dos doentes na fase tardia, sem tratamento⁸.

Actualmente a principal vantagem é a possibilidade de o resultado ser expresso de forma quantitativa, o que permite monitorização da resposta ao tratamento. As principais limitações incluem o elevado custo em relação aos testes automatizados mais recentes, a necessidade de leitura manual dependente da experiência do observador e a presença de falsos negativos (1-2% dos casos) que se devem à baixa sensibilidade destes testes no estadió primário (período de janela compreendido entre a inoculação e o início da produção de anticorpos) e na fase tardia da doença (em que se verifica uma redução gradual da produção de anticorpos anticardiolípinas, com o avançar da idade)^{9,10}. Resultados falsos negativos podem ainda ocorrer na sífilis secundária, na sífilis latente precoce e na fase inicial da neurosífilis, devido ao fenómeno de prozona, o qual se deve a uma elevada quantidade de anticorpos que inibe a floculação necessária à observação do título (sobretudo em

grávidas e doentes simultaneamente infectados pelo VIH)¹¹. Também os falsos positivos (1-2%), transitórios ou crónicos, nomeadamente na gravidez, toxicomania endovenosa, pós vacinação, idade avançada, neoplasias, cirrose hepática, doenças auto-imunes (sobretudo lúpus eritematoso sistémico, panarterite nodosa e síndrome anti-fosfolípídico), infecções (mononucleose infecciosa, varicela, sarampo, parotidite, malária, brucelose, linfogranuloma venéreo, VIH), constituem uma limitação importante, que obriga sempre à confirmação por testes treponémicos^{11,12}.

Testes treponémicos

Os testes treponémicos baseiam-se na detecção de antigénios específicos do *Treponema pallidum*, que variam de acordo com o teste. Em geral, a sua realização é mais complexa, mas são também mais sensíveis (principalmente no estadió primário e fase tardia) e mais específicos do que os não-treponémicos. Resultados falsos positivos podem ser observados em doenças autoimunes e alguns quadros infecciosos^{11,12}. A sua avaliação quantitativa não tem utilidade na prática clínica e, uma vez reactivos, na maioria dos casos (80%) mantêm-se positivos indefinidamente, o que impossibilita a distinção entre infecção recente e latência e entre sífilis latente tratada e não tratada¹². Actualmente apenas a avaliação clínica poderá contribuir para a distinção dessas situações.

Os principais testes treponémicos clássicos são o FTA-ABS (*Fluorescent Treponemal Antibody – Absorption*), o mais sensível dos testes clássicos na detecção de sífilis primária, o TPHA (*Treponema Pallidum Hemagglutination Assay*) e o TPPA (*Treponema Pallidum Particle Agglutination*; mais barato e mais simples de interpretar que o FTA-ABS e o TPHA)^{11,13}. Mais recentemente surgiram outros testes treponémicos que se distinguem pela automatização e incluem os testes imunoenzimáticos (EIA), os testes de quimiluminescência (CA), o Western blot modificado e os testes rápidos ou imunocromatográficos^{14,15}. A maioria destes testes utiliza, péptidos sintéticos ou proteínas treponémicas recombinantes geneticamente modificadas e detectam a totalidade de anticorpos treponémicos (IgM e IgG), sendo positivos entre a segunda e a 4^a semana após a infecção. Existem ainda testes como o 19s-IgM-FTA-ABS, o IgM immunoblot para o *T. pallidum* e o EIA IgM específica para o *T. pallidum* que permitem a detecção específica de anticorpos da classe IgM. Estes são habitualmente utilizados para confirmar resultados duvidosos dos testes treponémicos no contexto de suspeita de sífilis recente ou congénita¹⁵.

Educação Médica Contínua

Os EIA baseiam-se em técnicas moleculares de ELISA e quando comparados com o TPHA e o FTA-ABS demonstraram ter sensibilidade e especificidade bastante elevadas, de 98,4% e 99,3% respectivamente¹⁶. Testes como o Captia® e o SpiroTek® (reconhecido pelo CDC norte-americano como o mais sensível no estágio primário), têm sido usados no rastreio de populações de baixa prevalência. Estes testes representam um enorme avanço no rastreio serológico da sífilis nos últimos anos uma vez que apresentam múltiplas vantagens¹⁷. Para além das elevadas sensibilidade e especificidade, são testes de fácil execução e, ao permitirem automatização na leitura, eliminam a subjectividade inerente ao observador e possibilitam a redução dos custos^{18,19}.

Os testes rápidos ou imunocromatográficos foram desenvolvidos a partir dos testes de aglutinação e hoje em dia existem mais de 20 disponíveis no mercado²⁰. Estes testes promovem a detecção visual e qualitativa de anticorpos (IgG, IgM e IgA) contra um antígeno recombinado de 47-kDa do *T. pallidum* pesquisado em sangue total, soro e plasma humano²¹. Estes testes requerem equipamento e treino mínimos e a sua leitura é feita entre 5 e 20 minutos após a realização. A Organização Mundial de Saúde comparou o resultado de 8 destes testes com um padrão de referência combinado TPPA/TPHA, tendo obtido sensibilidade de 84,5% a 97,7% e especificidade de 92,8% a 98%²². Estes testes foram desenvolvidos com o propósito de facilitar o rastreio e eventual tratamento imediato nos países em desenvolvimento, com elevado risco de contágio e dificuldades de seguimento²³.

ALGORITMOS DE DIAGNÓSTICO SEROLÓGICO

O avanço tecnológico da última década levou a que muitos laboratórios optassem por um algoritmo inverso ao algoritmo clássico no rastreio da sífilis (teste não-treponémico inicial), em que os testes treponémicos eram utilizados exclusivamente como exames confirmatórios de um resultado positivo de um teste não-treponémico^{15,24}.

No entanto, os dados disponíveis actualmente ainda são insuficientes para afirmar que um algoritmo tem claros benefícios sobre o outro, facto que se vê espelhado nas diferentes guidelines europeias e americanas.

As *guidelines* europeias (Fig. 1) recomendam EIA/TPPA como teste de rastreio inicial que, em caso de positividade, deverá ser sempre confirmado com outro teste treponémico (TPPA se o teste inicial foi EIA ou EIA se o teste inicial foi TPPA). Em caso de

discordância dos dois testes deverá ser realizado um teste immunoblot IgG utilizando um antigénio recombinante. O FTA-ABS é desaconselhado como teste confirmatório uma vez que só em laboratórios altamente especializados podem ser asseguradas a qualidade dos reagentes e a reprodutibilidade dos resultados²⁵. Nestas *guidelines* os testes não-treponémicos, VDRL/RPR, encontram-se destinados apenas à monitorização da actividade serológica da doença e a resposta ao tratamento, sendo realizados apenas se o teste confirmatório for positivo. No entanto, um título baixo ou mesmo negativo não exclui infecção activa embora seja pouco comum, especialmente no caso de infecção precoce. Nesta circunstância (teste treponémico confirmatório positivo e teste não-treponémico negativo) recomenda-se a realização de um teste treponémico EIA IgM específico. Se este último for positivo, encontra-se confirmada infecção activa, no entanto, um resultado negativo não a exclui, particularmente no caso de sífilis tardia¹⁵.

Por outro lado, as *guidelines* americanas continuam a recomendar o algoritmo clássico. No entanto, se o teste de rastreio adoptado for um treponémico, o CDC recomenda que perante um resultado EIA/CIA positivo seja efectuado um teste não-treponémico (RPR/VDRL) confirmatório, e que no caso de resultados discordantes deve ser realizado um outro teste treponémico, preferencialmente o TPPA. O doente deve ser tratado sempre que o teste treponémico é confirmadamente reactivo e não há história de tratamento prévio ou a história clínica sugere re-exposição²⁶.

As vantagens dos algoritmos que utilizam os testes treponémicos como teste de rastreio inicial incluem elevada sensibilidade na fase precoce (superior à dos testes não-treponémicos) e a automatização na leitura, eliminando a subjectividade e reduzindo o custo individual de cada teste. Contudo, um estudo americano recente que incluiu 140176 amostras verificou que 56,7% dos doentes com testes treponémicos positivos (EIA/CIA), tiveram testes não-treponémicos discordantes. Destes 31,6% demonstraram um segundo teste treponémico (TPPA) negativo o que sugere provavelmente não só uma maior sensibilidade dos testes treponémicos em relação aos não treponémicos, na sífilis não tratada, mas também, a existência de falsos positivos no teste inicial²⁷. Um outro estudo realizado por Kwame Owusu-Edusei Jr. e colaboradores que comparou a razão custo/eficácia do algoritmo clássico (RPR como teste inicial) com o algoritmo inverso (EIA como teste de rastreio), comprovou o custo mais elevado deste último e o tratamento desnecessário de alguns doentes²⁸.

Educação Médica Contínua

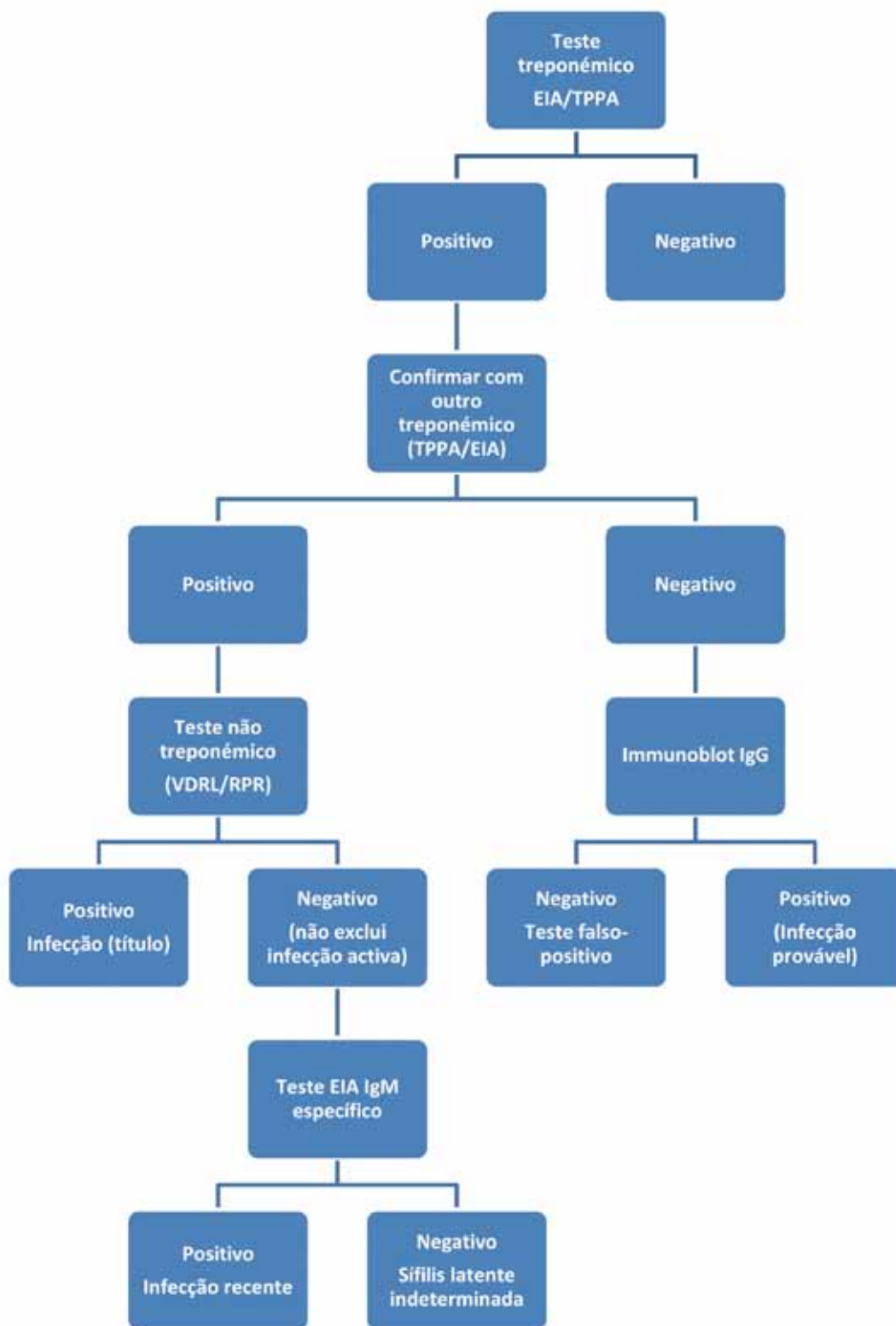


Fig. 1 - Algoritmo de rastreio da sífilis proposto pelas *guidelines* europeias.

EIA - *Enzyme ImmunoAssay* – também designados por testes imunoenzimático; TPPA - *Treponema Pallidum Particle Agglutination*; RPR - *Rapid Plasma Reagin*; VDRL - *Venereal Disease Research Laboratory*.

Educação Médica Contínua

Assim, os novos algoritmos ao identificarem um maior número de doentes com testes treponémicos reactivos e testes não treponémicos negativos trouxeram importantes dilemas à correcta abordagem destes doentes e conduziram, conseqüentemente, a um aumento dos custos pela necessidade de *follow-up*, repetição dos testes e eventual tratamento desnecessário. Esta questão é particularmente premente no rastreio de populações de baixo risco com menor probabilidade de infecção e maior probabilidade de falsos positivos^{29,30}.

CONCLUSÃO

Nos últimos anos verificaram-se avanços tecnológicos notáveis no diagnóstico serológico da sífilis. No entanto, a aplicação dos novos testes (alguns deles ainda por validar), e a utilização dos novos algoritmos ainda não é consensual. A existência de diferentes *guidelines* americanas e europeias reflecte claramente os dilemas e as incertezas que estas novas abordagens trouxeram ao rastreio da sífilis.

Apenas a experiência do pessoal de saúde diferenciado nesta área, através da colheita de dados, do conhecimento das vantagens e do profundo reconhecimento das limitações destes algoritmos, poderá fornecer dados que espelhem o impacto destas novas orientações na saúde pública, de forma a direccionar adequadamente o futuro do rastreio serológico da sífilis.

REFERÊNCIAS

1. Peeling RW, Hook EW 3rd. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. *J Pathol*. 2006;208(2):224-32.
2. Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gillerest BA, Paller A, Leffell DJ, editors. Sexually Transmitted Infections. Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine. 7th ed. New York: McGraw Hill; 2007.
3. World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. Geneva:WHO; 2001.
4. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, editors. Sexually Transmitted Diseases. Dermatology. 2nd ed. New York: Mosby; 2007.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. *MMWR* 2010;59:26-40.
6. Luger A. Serological diagnosis of syphilis; current methods. In: Young H, McMillan A, eds. Immunological diagnosis of sexually transmitted diseases. New York: Marcel Dekker, 1998:249-274.
7. Baker-Zander SA, Roddy RE, Handsfield HH, Lukehart SA. IgG and IgM antibody reactivity to antigens of *Treponema pallidum* after treatment of syphilis. *Sex Transm Dis*. 1986;13:214-220.
8. LaFond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19:29-49.
9. Romanowski B, Sutherland R, Fick GH, Mooney D, Love EJ. Serologic response to treatment of infectious syphilis. *Ann Intern Med*. 1991;114:1005-9.
10. Binnicker MJ, Yao JD, Cockerill FR 3rd. Non-treponemal serologic tests: a supplemental, not confirmatory testing approach. *Clin Infect Dis*. 2011;52(2):274-5.
11. Farhi D, Dupin N. Serological diagnosis of syphilis. *Ann Dermatol Venereol*. 2008;135(5):418-25.
12. Lautenschlager S. Diagnosis of syphilis: clinical and laboratory problems. *J Dtsch Dermatol Ges*. 2006;4(12):1058-75.
13. S Ratnam. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(1):45-51.
14. Seña AC, White BL, Sparling PF. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. *Clin Infect Dis*. 2010;15;51(6):700-8.
15. French P, Gomberg M, Janier M, Schmidt B, van Voorst Vader P, Young H; IUSTI. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. *Int J STD AIDS*. 2009;20(5):300-9.
16. Young H, Moyes A, McMillan A, Robertson DHH. Screening for treponemal infection by a new enzyme immunoassay. *Genitourin Med*. 1989;65:72-78.
17. McMillan A, Young H. Qualitative and quantitative aspects of serological diagnosis of syphilis. *Int J STD AIDS*. 2008;19:620-624.
18. Cole MJ, Perry KR, Parry JV. Comparative evaluation of 15 serological assays for the detection of syphilis infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26(10):705-13.
19. Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R. Laboratory diagnosis of syphilis with automated immunoassays. *J Clin Lab Anal*. 2009;23(1):1-6.
20. Peeling RW, Holmes KK, Mabey D, Ronald A. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sex Transm Infect*. 2006; 82 Suppl 5:v1-6.
21. World Health Organization. The sexually transmitted diagnostics initiative (SDI): special programme for research and training in tropical diseases (TDR). Geneva: WHO; 2003.

Educação Médica Contínua

22. Zarakolu P, Buchanan I, Tam M, Smith K, Hook EW. Preliminary evaluation of an immunochromatographic strip test for specific *Treponema pallidum* antibodies. J Clin Microbiol. 2002;40:3064-65.
23. Tucker JD, Bu J, Brown LB, Yin YP, Chen XS, Cohen MS. Accelerating worldwide syphilis screening through rapid testing: a systematic review. Lancet Infect Dis. 2010;10(6):381-6.
24. Cornish N. A new reflex testing algorithm for syphilis screening. MLO Med Lab Obs. 2011;43(6):40-1.
25. Marangoni A, Sambri V, Storni E, D'Antuono A, Negosanti M, Cevenini R. *Treponema pallidum* surface immunofluorescence assay for serologic diagnosis of syphilis. Clin Diagn Lab Immunol. 2000;7:417-21.
26. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Discordant results from reverse sequence syphilis screening - five laboratories, United States, 2006-2010. MMWR. 2011;11;60(5):133-7.
27. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Syphilis testing algorithms using treponemal tests for initial screening—four laboratories, New York City, 2005–2006. MMWR 2008;57:872-5.
28. Owusu-Edusei K Jr, Peterman TA, Ballard RC. Serologic testing for syphilis in the United States: a cost-effectiveness analysis of two screening algorithms. Sex Transm Dis. 2011;38(1):1-7.
29. Dowell D, Polgreen PM, Beekmann SE, Workowski KA, Berman SM, Peterman TA. Dilemmas in the management of syphilis: a survey of infectious diseases experts. Clin Infect Dis. 2009;15;49(10):1526-9.
30. Pope V. Use of treponemal tests to screen for syphilis. Infect Med. 2004;8:399-404.

Educação Médica Contínua

VERIFIQUE O QUE APRENDEU

- Enumere os testes treponémicos disponíveis.
- Qual a principal vantagem dos testes não-treponémicos?
- Quais as vantagens dos testes treponémicos sobre os não-treponémicos?
- Qual o algoritmo recentemente adoptado na Europa para o rastreio serológico da sífilis?
- Quais as diferenças entre o algoritmo europeu e o algoritmo americano?