

Valor práctico del líquido cefalorraquídeo en la hemaglutinación de *Treponema pallidum* para la confirmación de neurosífilis

Value in practice of the cerebrospinal fluid in *Treponema pallidum* hemagglutination test for confirmation of neurosyphilis

Téc. Eduardo Echevarría Pérez, Dr. C. Islay Rodríguez González, Dra. C. Carmen Fernández Molina

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA: *Treponema pallidum hemagglutination assay*) permite la detección de anticuerpos contra esta bacteria. Esta es la única prueba confirmatoria para el diagnóstico de sífilis utilizada en Cuba y es aplicable solo en muestras de suero.

Objetivos: evaluar y aplicar muestras de líquido cefalorraquídeo (LCR) en la TPHA (Centro de Isótopos: CENTIS) para la confirmación de neurosífilis.

Métodos: se estudiaron 78 LCR y 12 sueros de 78 pacientes con sospecha de neurosífilis; 11 LCR y 5 sueros de 11 pacientes con sospecha de neuroborreliosis; 16 LCR de pacientes con sospecha de meningitis bacteriana y 3 LCR de pacientes con sospecha de meningitis por leptospirosis. Las muestras se analizaron por VDRL (*venereal disease research laboratories*) y TPHA según procedimientos descritos para suero. Se determinaron los parámetros cualitativos y de desempeño de la TPHA.

Resultados: al estudiar las muestras de pacientes con sospechas de neurosífilis se obtuvo 9,0 % (7/78) de LCR reactivos por VDRL, y 85,7 % (6/7) positivos por TPHA, lo que confirma neurosífilis. De los 12 casos con muestras de sueros y LCR, 3 resultaron positivos por TPHA, aunque para uno el LCR fue no reactivo por VDRL, lo que sugiere una mayor sensibilidad de la TPHA para este tipo de muestra; para los otros 3 casos los sueros resultaron positivos por VDRL y TPHA, pero los LCR fueron negativos (no neurosífilis). Un caso resultó falso positivo a neurosífilis. Se confirmó neurosífilis en LCR y suero de un paciente con sospechas de neuroborreliosis, y marcadores de neurosífilis pasada y tratada en un paciente con sospecha de meningitis bacteriana. Las muestras de pacientes con sospechas de

leptospirosis resultaron negativas. Los parámetros cualitativos y de desempeño de la TPHA en LCR fueron aceptables.

Conclusión: El LCR constituye una muestra útil para la confirmación de neurosífilis por TPHA.

Palabras clave: neurosífilis, líquido cefalorraquídeo, hemaglutinación de *Treponema pallidum*.

ABSTRACT

Introduction: *Treponema pallidum* hemagglutination (TPHA) allows the detection of antibodies to *Treponema pallidum*. The TPHA (Centis) is the only confirmatory test for the diagnosis of syphilis used in Cuba and is applicable only in serum samples.

Objectives: to evaluate and to apply samples of the cerebrospinal fluid (CSF) in the TPHA (CENTIS) for neurosyphilis confirmation.

Methods: this research studied 78 CSF and 12 sera from 78 patients with suspected neurosyphilis, 11 CSF and 5 sera from 11 patients with suspected neuroborreliosis, 16 CSF from patients with suspected bacterial meningitis and 3 CSF of patients with suspected meningitis by leptospirosis. Samples were analyzed by VDRL (venereal disease research laboratory) and TPHA (Centis) according to procedures described for serum. Qualitative and performance parameters of the TPHA were determined.

Results: the study of samples from patients with suspected neurosyphilis yielded 9.0 % (7/78) of reactive CSF according to the VDRL test, and 85.7 % (6/7) of them were positive for TPHA, thus confirming neurosyphilis. Of the 12 cases with serum and CSF samples, three were positive in TPHA, although the CSF in one case was not reactive according to VDRL, which indicates a greater sensitivity rate of the TPHA for this type of sample. In the three other cases, sera were positive in VDRL and TPHA but the CSFs samples were negative (meaning no neurosyphilis). One case was false positive for neurosyphilis. The disease was confirmed in the CSF and the serum from a patient with suspected neuroborreliosis and markers of past and treated neurosyphilis in a patient with suspected bacterial meningitis. Samples from patients with suspected leptospirosis were negative. The qualitative and performance parameters of the TPHA in terms of the CSF were acceptable.

Conclusion: the cerebrospinal fluid is a useful sample for confirmation of neurosyphilis by using *Treponema pallidum* hemagglutination test (Centis).

Key words: neurosyphilis, cerebrospinal fluid, *Treponema pallidum* hemagglutination.

La sífilis es una infección de transmisión sexual (ITS) sistémica y de evolución crónica con períodos asintomáticos. *Treponema pallidum* subespecie *pallidum*, su agente causal, se disemina de forma sistémica de horas a días después de su inoculación. Se piensa que esta bacteria invade, e incluso involucra, al sistema nervioso central (SNC) en la mayoría de los pacientes infectados. Por ello, las manifestaciones neurológicas se pueden presentar durante cualquier etapa de la infección (no solo en estadios tardíos), e incluyen neurosífilis asintomática, sífilis meníngea aguda, sífilis meningovascular, neurosífilis parética y tabética.^{1,2}

El reporte de casos de neurosífilis disminuyó hasta que comenzó la era de la infección con el VIH, a partir de la cual se incrementa el diagnóstico de casos de neurosífilis temprana principalmente.^{2,3}

Para el diagnóstico de neurosífilis se emplea paralelamente el examen de muestras de suero y líquido cefalorraquídeo (LCR). La detección de cambios inflamatorios y anticuerpos antitreponémicos específicos en LCR constituye un elemento importante para el diagnóstico, aunque la detección de estos anticuerpos continúa siendo un reto.^{1,2}

Para ello se utilizan las pruebas no treponémicas VDRL (*venereal disease research laboratory*) y RPR (*rapid plasma reagin*); y las pruebas treponémicas o confirmatorias TPHA (*Treponema pallidum hemagglutination assay*) y FTA (*fluorescent treponemal antibodies assay*),²⁻⁴ aunque existe debate actual sobre el empleo de FTA en LCR.²

En Cuba las pruebas VDRL y RPR son muy utilizadas en todos los niveles de atención en salud según el Programa Nacional de Control y Prevención de ITS, y recientemente se descentralizó la hemaglutinación de *T. pallidum* (TPHA) a nivel de los Centros Provinciales de Higiene, Epidemiología y Microbiología. De estas, solo el VDRL es utilizado para el diagnóstico de neurosífilis.⁵

Los diagnosticadores que se utilizan actualmente en el país provienen del Centro de Isótopos (Centis). La TPHA, según las recomendaciones de este fabricante, solo debe ser utilizada en muestras de sueros, porque no se cuenta con evaluación previa en LCR.⁶ Tomando en consideración este aspecto y la necesidad de perfeccionar el diagnóstico microbiológico de la neurosífilis se propuso evaluar la utilidad del LCR como muestra clínica para la TPHA (Centis).

Para esta evaluación se utilizaron 108 muestras de LCR y 17 muestras de sueros distribuidas según su procedencia de la manera siguiente:

- 78 muestras de LCR de igual número de pacientes con sospechas clínicas de neurosífilis, 54 de ellas provenían de pacientes seropositivos al VIH. Además se contó con muestras de sueros de 12 pacientes.
- 11 muestras de LCR y 5 de sueros de diferentes pacientes con sospechas clínicas de neuroborreliosis.
- 16 muestras de LCR de pacientes con sospechas de meningitis bacteriana causada por *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* o *Streptococcus pneumoniae*.
- 3 muestras de LCR de pacientes con sospechas de meningitis por leptospirosis.

Todas las muestras se encontraban conservadas a - 20 °C hasta el momento de su uso y formaban parte de la seroteca del Laboratorio Nacional de Espiroquetas del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK); las procedentes de pacientes con sospechas de meningitis bacteriana fueron donadas por el Laboratorio Nacional de Referencia de Síndromes Neurológicos del IPK.

A cada una de las muestras se le aplicó paralelamente VDRL (Centis) y TPHA (Centis) siguiendo las instrucciones descritas por el productor para muestras de sueros.

A partir de los resultados se determinó la proporción de anticuerpos en LCR en relación con los anticuerpos en suero (anticuerpos intratecales) a través de la fórmula *título de anticuerpos por TPHA en LCR/título de anticuerpos por TPHA en suero* para los casos en que se disponía de ambas muestras. Además se calcularon

los parámetros cualitativos y de desempeño para la prueba de TPHA con LCR utilizando el paquete estadístico EPIDAT versión 3.1.

La aplicación de la TPHA (Centis) en las muestras de LCR y suero, según procedencia (impresión diagnóstica en los pacientes), originó los resultados que se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de VDRL (Centis) y TPHA (Centis) en muestras de sueros y líquido cefalorraquídeo según impresión diagnóstica

Impresión diagnóstica	VDRL (+) TPHA (+)		VDRL (+) TPHA (-)		VDRL (-) TPHA (+)		VDRL (-) TPHA (-)	
	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero	LCR	Suero
Neurosífilis (78 LCR-12 sueros)	6	7	1	0	7	0	64	5
Neuroborreliosis (11 LCR-5 sueros)	1	1	0	0	0	0	10	4
Meningitis bacteriana (16 LCR)	0	-	0	-	1	-	15	-
Leptospirosis (3 LCR)	0	-	0	-	0	-	3	-

LCR: líquido cefalorraquídeo, VDRL: *venereal disease research laboratory*, TPHA: *Treponema pallidum hemagglutination assay*.

Como se puede apreciar para las muestras tomadas de los pacientes con impresión diagnóstica de neurosífilis, se confirmó la presencia de esta en 6 muestras de LCR al mostrar títulos de anticuerpos desde débil reactivo hasta 8 por VDRL y de 640 a 20 480 por TPHA; mientras en otras 7 muestras solo se detectaron niveles de anticuerpos treponémicos con valores inferiores de 80 a 2 560, lo que sugiere una mayor sensibilidad de la TPHA en relación con el VDRL como ha sido reportado por otros autores,² o la presencia de marcadores de neurosífilis anterior tratada.

En cambio, para este mismo grupo, en las muestras de sueros se confirmó sífilis activa en 7 de estas, mostrando valores de anticuerpos desde débil reactivo hasta superiores a 32 por VDRL y de 1 280 a 327 680 por TPHA.

La muestra de LCR para la que se obtuvo resultado falso positivo por VDRL presentaba reactividad débil por esa prueba, resultado que puede estar influenciado por diversos factores, aunque en este caso podría tratarse de un error en la lectura.

La incidencia de neurosífilis, según las muestras de LCR estudiadas, fue mayor en los pacientes seronegativos al VIH (29,2 %) que en los seropositivos (11,1 %).

Los resultados positivos por VDRL en LCR establecen diagnóstico de neurosífilis, pero los resultados negativos no lo excluyen,² por ello la importancia de contar con otros métodos de laboratorio para definir el diagnóstico.

Al evaluar el binomio suero-LCR se constató la presencia de marcadores de neurosífilis en 3 de estos (sueros y LCR positivos), mientras en otros 4 solo se determinó la ocurrencia de sífilis pero no a nivel del SNC (sueros positivos y LCR negativos).

Los restantes 3 LCR positivos no contaban con muestras de sueros, fenómeno que se presenta con frecuencia pues el personal médico al sospechar neurosífilis indica de inmediato punción lumbar para examen de LCR sin explorar antes la presencia de anticuerpos en suero. En la presente investigación este fenómeno estuvo presente en 84,6 % de los pacientes. Se ha reportado que valores de anticuerpos en suero superiores a 2 560 por TPHA son considerados criterio de selección para realizar punción lumbar, especialmente cuando no existen signos o síntomas clínicos.⁷

A nivel del SNC se ha demostrado que existe producción local de anticuerpos contra *T. pallidum*, pero ello no ocurre en todos los pacientes con neurosífilis.⁸ Las proporciones de anticuerpos en LCR en relación con los anticuerpos en suero para los casos estudiados fueron de 0.125 (2 casos) y 0.250 (1 caso), lo que demuestra que los niveles de anticuerpos específicos o treponémicos son inferiores en LCR. *Koknic* y otros al emplear una fórmula con los valores de las concentraciones de albúmina y de anticuerpos, interpretaron como síntesis intratecal de IgG cuando el valor era superior a 0,7 y de IgM si era mayor de 0,1.¹ En la TPHA se detecta tanto IgM como IgG, por lo que estos resultados sugieren síntesis intratecal de anticuerpos.

Un hallazgo interesante en este trabajo fue la confirmación de neurosífilis, según los resultados en ambos tipos de muestras, en un paciente en el que se sospechaba primero neuroborreliosis. La relación de anticuerpos LCR/suero en este fue también de 0,125. Igualmente se detectaron marcadores de neurosífilis anterior tratada en el LCR de un paciente con sospechas de meningitis bacteriana.

Es importante recordar lo señalado por *Harding* y *Ghanem*, quienes plantean que un resultado negativo por una prueba que detecte anticuerpos treponémicos específicos no excluye diagnóstico de neurosífilis si la sospecha clínica es alta.⁹

La evaluación de los parámetros cualitativos y de desempeño de la TPHA utilizando el LCR como muestra, y como referencia los resultados por VDRL unido a la impresión clínica permitió obtener los resultados que se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Parámetros cualitativos y de desempeño de la hemaglutinación de *Treponema pallidum* (TPHA-Centis) con LCR como muestra clínica

Parámetros cualitativos	Valor	Intervalo de confianza 95 %	
Sensibilidad (%)	87,50	58,33	100,00
Especificidad (%)	92,00	86,18	97,82
Índice de validez (%)	91,67	85,99	97,34
Valor predictivo positivo (%)	46,67	18,09	75,25
Valor predictivo negativo (%)	98,92	96,29	100,00
Prevalencia (%)	7,41	2,01	12,81
Índice de Jouden	0,80	0,56	1,03

A pesar de que el valor predictivo positivo es bajo, dada la prevalencia baja de la enfermedad, se puede plantear que los diferentes parámetros son aceptables.

Tomando en consideración el conjunto de resultados expuestos se sugiere proponer a Centis incluir al LCR como muestra clínica útil para ser utilizada en la TPHA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kotnik V, Jordan K, Stopincek S, Simcic S, Potocnik M. Intrathecal antitreponemal antibody synthesis determination using the INNO-LIA™ Syphilis Score. *Acta Dermatoven APA*. 2007;16(4):135-41.
2. Ghanem KG. Neurosyphilis: a historical perspective and review. *CNS Neurosci Therap*. 2010;16(5):e157-68.
3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Symptomatic early neurosyphilis among HIV-positive men who have sex with men-four cities, United States, January 2002-June 2004. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2007;56(25):625-8.
4. Dharmasaroja PA, Dharmasaroja P. Serum and cerebrospinal fluid profiles for syphilis in Thai patients with acute ischaemic stroke. *Int J STD AIDS*. 2012;23(5):340-5.
5. Colectivo de autores. Infecciones de Transmisión Sexual: pautas para su tratamiento. Cuba: MINSAP; 2004.
6. Rodríguez I. Diagnóstico de laboratorio de sífilis venérea. En: Colectivo de autores. Manual de técnicas diagnósticas de las infecciones del tracto reproductivo. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2009.
7. De Silva Y, Walzman M, Shahmanesh M. The value of serum TPHA titres in selecting patients for lumbar puncture. *Genitourin Med*. 1991;67(1):37-40.
8. Muller F, Moskophidis M. Estimation of the local production of antibodies to *Treponema pallidum* in the central nervous system of patients with neurosyphilis. *Br J Vener Dis*. 1983;59(2):80-4.
9. Harding AS, Ghanem KG. The performance of cerebrospinal fluid treponemal-specific antibody tests in neurosyphilis: a systematic review. *Sex Transm Dis*. 2012;39(4):291-7.

Recibido: 6 de agosto de 2012.

Aprobado: 5 de febrero de 2013.

Islay Rodríguez González. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". Autopista Novia del Mediodía, km 6 ½. La Lisa, Habana, Cuba. Correo electrónico: islay@ipk.sld.cu