

## **ADELANTOS Y TENDENCIAS EN EL SERODIAGNÓSTICO DE LA SÍFILIS (1)**

**Genevieve W. Stout, M.A. (2)  
Ad Harris (3) Sidney  
Olansky, KLD. Í4>**

Trabajo presentado al V Congreso de Venereología  
celebrado en Tegucigalpa, D. C.,  
del 27 al 30 de mayo de 1954.

Todos los procedimientos de diagnóstico que se siguen en el laboratorio sufren cambios frecuentes como resultado del perfeccionamiento de las técnicas, existentes y del desarrollo de nuevos métodos. El serodiagnóstico de la sífilis no es una excepción. Durante los últimos quince años hemos visto que los antígenos lipoideos, empleados en las pruebas ya establecidas para la sífilis, han sido reemplazados por los antígenos de cardiolipina, las pruebas de portaobjetos han tomado el lugar de las de tubos de ensayo, las pruebas cualitativas con suero reactivo son complementadas con informes cuantitativos, y se han solicitado cambios en la terminología empleada para informar los resultados de las pruebas. Los esfuerzos encaminados hacia el mejoramiento y la estandarización de los procedimientos que forman parte de estas pruebas han aumentado grandemente y demuestran resultados alentadores.

Los adelantos logrados en la serología de la sífilis han sido continuos desde que Wassermann y colaboradores realizaron las primeras pruebas en 1906 (1). Comenzando con la publicación de la prueba Kahn (2) en 1922, en Estados Unidos se han desarrollado numerosas pruebas serológicas. Se han llevado a cabo estudios internacionales y nacionales de evaluación para determinar la eficacia de los diversos métodos de prueba. La Conferencia de Sero-

- (1) Del Laboratorio de Investigaciones sobre Enfermedades Venéreas, División de Enfermedades Venéreas, Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos, P. O. Box 185, Chamblee, Georgia.
- (2) Bacteriólogo, USPHS, Laboratorio de Investigaciones sobre Enfermedades Venéreas, Chamblee, Georgia.
- (3) Director Adjunto, Laboratorio de Investigaciones sobre Enfermedades Venéreas, Chamblee, Georgia.
- (4) Director, Laboratorio de Investigaciones sobre Enfermedades Venéreas, Chamblee, Georgia.

logía de Washington, se realizó en Washington, D. C, bajo los auspicios del Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos, con el objeto de evaluar los métodos originales. Los resultados obtenidos (3) corroboran la eficacia de los métodos de uso más generalizado en Estados Unidos; es decir, las pruebas de floculación de Eagle, Hinton, Kahn, Kline y Mazzini, y las pruebas de fijación del complemento de Eagle y Kolmer. En todos estos procedimientos se usan los antígenos lipoideos (extractos crudos de corazón de res).

En 1941 dio comienzo otra fase en el desarrollo de la serología de la sífilis cuando Pangborn (4) (5) aisló las sustancias responsables de la reactividad que muestran los extractos alcohólicos de corazón de res en las pruebas de sífilis: Pangborn aisló y purificó un fosfolípido no nitrogenado de corazón de res, al que dio el nombre de cardiolipina. Mezclando la cardiolipina con proporciones adecuadas de lícitina purificada, se prepararon antígenos que podían ser empleados en las pruebas de fijación del complemento y en las de floculación. En lo sucesivo nos referiremos a estos antígenos como antígenos de cardiolipina.

A continuación se enumeran, en orden cronológico, algunos de los informes más significativos relacionados al uso de los antígenos de cardiolipina tanto en los procedimientos de prueba existentes como en las pruebas nuevas:

#### LOS ANTÍGENOS DE CARDIOLIPINA EN LAS PRUEBAS PARA LA SÍFILIS

Año	Autores	Prueba	Informe del Uso de la Cardiolipina	Método Recomendado	Nueva Prueba
1944	Harris, Portnoy (6)	Kolmer, C. F.* .....	X		
	Maltaner, .....				
	Maltaner ..... (7)	New York, C. F* .....		X	
1946	Rein, Bossack..... (8)	Rein-Bossack.....			X
	Kline..... (9)	Kline .....		X	
	Harris, et al ..... (10)	Portaobjetos VDRL			X
	Kahn, et al ..... (11)	Kahn .....	X		

El cambio ocurrido en Estados Unidos del uso de las pruebas serológicas para el diagnóstico de la sífilis que emplean los antígenos lipoideos al uso de las pruebas con los antígenos de cardiolipina se ha producido en los últimos diez años. En 1946, Harris y Mahoney (19), del Laboratorio de Investigaciones sobre Enfermedades Venéreas (**Venéreas** Disease Research Laboratory) del Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos, Staten Island, Nueva York,

\* Fijación del complemento.

informaron ante la Asociación Americana de Salud Pública que «la cardiolipina, como sustancia antigénica para las pruebas de la sífilis, ha sido utilizada en muy pocos laboratorios y en un período relativamente breve». En 1949, Arnold y Mahoney (20), del mismo laboratorio, informaron que «como componente antigénico, la cardiolipina ha asumido hoy día un papel destacado en la serología de la sífilis». Para 1954, cuando Hinton, Kline, Kolmer y Mazzini recomendaron el uso de los antígenos de cardiolipina en estos procesos, la única prueba comunmente usada en Estados Unidos en que aún se prefiriere un antígeno lipoideo es la prueba Kahn.

Con el informe que presentaron Nelson y Mayer (21) en 1949 sobre la Prueba de Inmovilización del *Treponema Pallidum*, se revivió el interés en las pruebas de serodiagnóstico que hacen uso del **Treponema pallidum** en calidad de antígeno. Cain (22), Hardy y Hollander (23), y McLeod y Magnuson (24) describieron la aglutinación específica del *Treponema pallidum*. Nelson (25) (26) informó en fecha más reciente sobre el Fenómeno de Adhesión y Desaparición, el cual podría tener aplicaciones prácticas. En la literatura estadounidense, D'Alessandro y Dardani (27) han explicado el aislamiento y la purificación de un antígeno proteico obtenido del *Treponema Reiter*. Hay numerosas investigaciones en curso cuyos resultados deben ser sumamente interesantes.

Hay, por lo tanto, tres tipos de pruebas para sífilis que tenemos que considerar y que utilizan antígenos lipoideos, de cardiolipina y de *Treponema*. Los antígenos lipoideos y de cardiolipina se usan corrientemente en las pruebas de la sífilis, según las ejecutan los laboratorios clínicos y de salud pública. En los actuales momentos, las pruebas con el antígeno de *Treponema* se emplean principalmente en los laboratorios de investigación como procedimientos experimentales para realizar estudios sometidos a control. Sin embargo, la Prueba de Inmovilización del *Treponema Pallidum* está usándose en un número muy limitado de laboratorios, como ayuda para el diagnóstico de casos selectos que están bajo estudio.

En muchos laboratorios todavía se usan los antígenos lipoideos en las pruebas de la sífilis. La prueba Kahn con antígeno lipoideo aún se emplea en forma bastante generalizada en Estados Unidos y en el resto del mundo. Cuando se ejecuta perfectamente, con controles adecuados, es y continuará siendo un procedimiento de prueba confiable. Las pruebas Eagle de Flocculación y Fijación del Complemento usan antígenos lipoideos, pero como Eagle ya no trabaja en el campo de la serología de la sífilis, no hay control para los antígenos que forman parte de esta prueba y son relativamente pocos los laboratorios que continúan utilizándola. Algunos laboratorios usan actualmente los antígenos lipoideos para las pruebas Hinton, Kline, Kolmer y Mazzini, pero a medida que se adquiera mayor experiencia con el uso de los antígenos de cardiolipina en estos procesos, sin duda alguna el número de estos laboratorios irá disminuyendo. Se han llevado a cabo muchos estudios comparativos, y deben continuarse antes que se decida la adopción de cambios.

Existe una marcada tendencia hacia la adopción de pruebas

con antígenos de cardioplipina. Sus ventajas principales consisten en la facilidad con que se pueden repetir los antígenos y en el hecho de que las pruebas que los utilizan son más específicas que las que usan antígenos lipóideos. Los antígenos que contienen cardioplipina y lecitina purificada pueden ser preparadas con cantidades conocidas de estos componentes y estandarizadas tanto química como serológicamente. La cardioplipina y el colesterol pueden ser usados en cantidades exactas, pero a causa de que los diferentes lotes de lecitina no se pueden repetir enteramente, se requieren variaciones en un margen limitado para lograr la estandarización serológica.

El aumento de especificidad de las pruebas que se realizan con los antígenos de cardioplipina probablemente se deba a que muchas de las impurezas antigénicas reactivas que están presentes en los antígenos lipóideos, no lo están en los antígenos de cardioplipina. El factor no específico que se encuentra en algunos antígenos lipóideos Kolmer, se halla ausente en los antígeno de cardioplipina utilizado en la prueba Kolmer (6). Se debe destacar, sin embargo, que a pesar de que se ha demostrado que las pruebas con antígenos de cardioplipina dan menos reacciones positivas falsas o no específicas, éstas no se podrán eliminar por completo.

La Prueba VDRL en Portaobjetos (10) es uno de los nuevos métodos que se han desarrollado para hacer uso de la cardioplipina y la lecitina como componentes antigénicos. La técnica de la prueba es sencilla, usando dos reactivos solamente, y la emulsión del antígeno puede ser empleada inmediatamente después de prepararla y puede seguir usándose durante todo el día. Las pruebas se llevan a cabo con rapidez, haciendo muchas a la vez en el portaobjetos de cristal, sometiéndolas luego a un corto período de rotación y observándolas en el microscopio. En numerosos estudios comparativos se ha demostrado la eficacia de los resultados, tanto en Estados Unidos como en otros países. En Centro América, por ejemplo, la Prueba VDRL en Portaobjetos ha demostrado ser un procedimiento muy práctico (28) en un grupo de población que tiene un alto potencial de reacciones positivas falsas. Actualmente, la Prueba VDRL en Portaobjetos es la que más ampliamente se usa de todas las diversas pruebas que utilizan antígenos de cardioplipina para determinar la presencia de sífilis en las muestras de sangre. La misma emulsión básica del antígeno puede ser utilizada en las pruebas realizadas con suero en tubos de ensayo (15) y en una prueba del líquido cefalorraquídeo (29). La prueba del líquido cefalorraquídeo también se usa extensamente y se ha demostrado que es comparable, en sensibilidad, con la prueba Kolmer de fijación del complemento (30), y con otras pruebas (31).

La Asociación Americana de Salud Pública nombró, en 1948, un Subcomité para Desarrollar Métodos de Referencia en la Serología de la Sífilis. La finalidad de este Subcomité, según se describe en su informe (32), era la de «hacer frente a la desconcertante situación existente con respecto a la sífilis, en que existen diversos métodos de laboratorio y hay una considerable falta de comprensión, por parte de los médicos, de las limitaciones relativas a las distintas

pruebas en uso, con la correspondiente necesidad de métodos standard o aprobados que puedan ser empleador como referencia». En 1951, este comité explicó la técnica de un «Método Standard para Ejecutar la Prueba de Microfloculación de la Sífilis», publicado en el **American Journal of Public Health** (32).

El nivel de reactividad del antígeno que debe usarse en este procedimiento no ha sido fijado en forma definitiva. En la reunión anual de la Asociación Americana de Salud Pública de 1953, el comité informó que se había iniciado un estudio clínico, conjuntamente con la Organización Mundial de la Salud, mediante el cual se podría obtener la información necesaria a fin de seleccionar un nivel máximo de sensibilidad para este antígeno de referencia. Una vez establecido definitivamente el método de referencia, se espera que forme parte de los Procedimientos y Reactivos de Diagnóstico de la Asociación Americana de Salud Pública y que represente un método standard para comparar y evaluar los otros procedimientos.

La prueba es muy parecida a la Prueba VDRL en Portaobjetos. La emulsión antigénica se prepara en la misma forma, y la prueba propiamente dicha consiste en una reacción cuantitativa empleando emulsiones séricas y antigénicas en cantidades que vienen a ser el ochenta por ciento (80%) de las que se usan en la Prueba VDRL en Portaobjetos. Los resultados de las pruebas se deben clasificar como «reactivos» o «no reactivos», comunicándose los resultados «reactivos» en los términos de la dilución sérica más alta que produce aglutinación de las partículas antigénicas.

Las pruebas serológicas de la sífilis que emplean los antígenos de *Treponema* no están, por el momento, en situación de ser utilizadas como procedimientos corrientes de prueba. En un sinnúmero de laboratorios de Estados Unidos y de otros países se están llevando a cabo investigaciones con la Prueba de Inmovilización del *Treponema Pallidum* de Nelson (21), publicada en 1949. Un boletín (33) publicado recientemente por la Oficina de Medicina y Cirugía del Departamento de la Armada de Estados Unidos, comunica que actualmente hay veintiocho (28) laboratorios situados en doce (12) países diferentes realizando esta prueba.

En la Prueba ITP, el suero del enfermo se mezcla con una suspensión de **Trepe-nema pallidum** virulento y del complemento, bajo condiciones determinadas y en un período dado de tiempo. Al cabo de este período, el porcentaje de *Treponemas* que han quedado inmovilizados es tomado como índice de la presencia o ausencia de anticuerpos inmovilizadores en el suero del enfermo. Se sabe que este anticuerpo se halla presente en el suero de los enfermos que sufren de sífilis y de otras treponematosis, pero que generalmente no está presente en ausencia de la infección. Se ha demostrado que el anticuerpo inmovilizador es distinto de la reagina (21) (34) según lo han determinado las pruebas serológicas con antígenos lipoideos y de cardiolipina. Numerosos estudios han contribuido al conocimiento del comportamiento de la Prueba **ITP** en las distintas etapas de la sífilis (25-36), tanto en la sífilis tratada como en la que nunca se ha sometido a tratamiento. Se considera que la prueba tiene valor

para distinguir las reacciones positivas falsas en las pruebas standard de la sífilis de las reacciones francamente sifilíticas (25) (37) (38) (39). Sin embargo, en la evaluación de los resultados de la prueba deben tomarse en cuenta las limitaciones ya conocidas de esta prueba. El empleo de esta prueba se halla limitado por el hecho de que su ejecución es difícil, desde el punto de vista técnico, y porque toma mucho tiempo y es costoso.

Hasta el presente, las otras pruebas que hacen uso de los antígenos del *Treponema* han sido definidas aún con menos claridad. El Fenómeno de Adhesión y Desaparición explicado por Nelson (25) (26), la aglutinación específica del *Treponema* con suero sifilítico informada por Cain (22), Hardy y Hollander (23), McLeod y Magnuson (34), y los estudios italianos sobre el aislamiento y la purificación del antígeno proteico del síndrome de Reiter (27), son importantes.

Existe una tendencia bastante notable hacia la adopción de los procedimientos de prueba en portaobjetos. Se pueden obtener resultados confiables con las pruebas múltiples que se realizan en un sólo portaobjetos. Si se sustituyen las pruebas en portaobjetos con pruebas en tubos de ensayo, se pueden examinar grandes números de muestras en menos tiempo, con menos equipo y menos personas.

Los resultados de las reacciones cuantitativas en las pruebas serológicas de la sífilis han llegado a ser una importante ayuda para el médico que trata de evaluar la reacción al tratamiento en la terapéutica moderna de la sífilis. Por consiguiente, el análisis cuantitativo de todos los sueros reactivos ha llegado a ser un procedimiento generalizado. La mayoría de los laboratorios del Servicio de Sanidad Pública de Estados Unidos (40) hacen una prueba cuantitativa con todos los sueros que resulten «positivos» o «reactivos» en las pruebas cuantitativas. La proyectada «Prueba de Microfloculación para la Sífilis» de Referencia (32), de la Asociación Americana de Salud Pública, es un método cuantitativo realizado en portaobjetos.

Al comunicar los resultados, los procedimientos de prueba más nuevos (8) (10) y las modificaciones de los procedimientos ya existentes (9) (16) emplean el término «débilmente positivo» en lugar de «dudoso». En una reunión del Consejo Nacional de Asesoramiento en Serología celebrada en 1953, se aprobó una resolución en el sentido de que se podían emplear los términos «reactivo», «débilmente reactivo» y «no reactivo» en lugar de «positivo», «dudoso» y «negativo». Esta práctica ha sido adoptada por varios Laboratorios Estatales de Salud Pública.

A fin de que los resultados de las pruebas del serodiagnóstico de la sífilis sean dignas de confianza, es preciso que se utilicen métodos de prueba cuyo valor ya haya sido probado y, además, que estas pruebas se realicen en una forma apropiada. Los resultados de la prueba nunca serán mejores que la ejecución de la misma. Esto se ha demostrado palpablemente en los numerosos estudios de evaluación de la serología de la sífilis que permiten establecer una comparación entre los resultados obtenidos por los labora-

torios participantes y los del laboratorio de control. Existen programas Internacionales, Nacionales y Estatales para estandarizar y mejorar las técnicas de prueba. Todos ellos hacen hincapié en los mismos principios fundamentales:

- 1.—Seguir estrictamente las recomendaciones hechas por el creador de la prueba respecto de la técnica.
- 2.—Emplear reactivos estandarizados.
- 3.—Usar controles adecuados, incluidos los sueros de control cuya reactividad ya ha sido establecida.
- 4.—Comunicar los resultados en la forma prescrita para el procedimiento que se haya utilizado.

En Estados Unidos, el Programa Nacional del Servicio de Sanidad Pública ha demostrado su eficacia, y la calidad de la ejecución de las pruebas por parte de los Laboratorios Estatales de Salud Pública es, en general, satisfactoria. Este programa ha comprendido la formación de personal, el mejoramiento cualitativo de los antígenos y reactivos que se usan en la prueba, servicios de asesoramiento, revisiones técnicas y Encuestas Nacionales de Evaluación Serológica.