

DIAGNOSTICO CLINICO Y DE LABORATORIO DE LAS ENFERMEDADES VENEREAS¹

Dr. M. Brittain Moore, Jr.²

Para controlar la sífilis infecciosa temprana y la blenorragia es importante aplicar un criterio clínico estricto y usar en forma adecuada los recursos que el laboratorio ofrece para el diagnóstico de estas enfermedades. Deben también establecerse laboratorios de referencia para corroborar las pruebas de laboratorio que se realicen.

Estos comentarios versarán, en primer lugar, sobre algunos de los aspectos clínicos y de laboratorio de la sífilis.

Sífilis

Aunque los médicos, con fines de simplificación, han distinguido arbitrariamente ciertas fases en la sífilis, la enfermedad es un todo continuo. El treponema de la sífilis desconoce las etapas de diagnóstico y por eso no siempre es capaz de seguir un patrón establecido. Antes de examinar las manifestaciones habituales de la enfermedad, es importante destacar que, en la sífilis temprana, es posible que no se presenten lesiones locales o generales o que éstas sean tan leves que pasen inadvertidas, quedando el cuadro asintomático hasta que una serología positiva conduzca al diagnóstico. En vista de la importancia del control y la erradicación de la sífilis, en esta exposición se hará hincapié en la sífilis infecciosa temprana.

Sífilis temprana

Unas tres semanas después de la invasión de la piel o de la membrana mucosa por el *Treponema pallidum*, aparece una reacción local en el sitio de entrada. Poco después de

invadir la piel, la enfermedad se generaliza con la penetración del treponema en la mayoría de los tejidos del organismo. La lesión inicial de la sífilis, llamada chancro, suele ser única e indolora. Sin embargo, pueden presentarse lesiones múltiples y sensación de dolor, especialmente en algunas lesiones extragenitales. El chancro varía de tamaño, desde el de una pápula de unos cuantos milímetros de diámetro hasta el de un gran nódulo que rápidamente se corroe hasta formar una úlcera indurada de borde afilado y base limpia. Cuando no hay infección secundaria, el chancro contiene exudado seroso. En un plazo de tres a ocho semanas puede resolverse sin tratamiento, dejando una pequeña cicatriz o ninguna. En las lesiones genitales se presenta precozmente adenopatía inguinal que suele ser bilateral, indolora y no inflamatoria. Los ganglios crecidos son más indoloros y se resuelven más lentamente que el chancro.

En la fase inicial del chancro no tratado, abundan las espiroquetas. Al principio, todas las reacciones serológicas para determinar la presencia de sífilis son negativas. La mayoría de las pruebas en las que no se investiga el treponema se vuelven positivas en una o dos semanas después de desarrollarse el chancro. Conforme éste avanza en edad y se cicatriza, va siendo cada vez más difícil encontrar microorganismos mediante el examen en campo oscuro y aumenta rápidamente el grado de reactividad o el título en las pruebas con antígenos no treponémicos.

Nunca se insistirá demasiado en la im-

¹ Quinto de una serie de artículos basados en trabajos presentados en el Seminario sobre Enfermedades Venéreas (Washington, D. C., 24-30 octubre 1965), convocado por la Organización Panamericana de la Salud, con la colaboración del Servicio de Salud Pública de los Estados Unidos de América. Véase también, en este número, págs. 328-334.

² Dermatólogo de la Clínica Watson, Lakeland, Florida, E. U. A.

portancia de la variabilidad morfológica del chancro. El llamado chancro hunteriano ha sido objeto de una atención desproporcionada a su frecuencia. Hoy día, algunos factores, como los antibióticos de aplicación tópica y general, las prácticas sexuales poco comunes y una mejor higiene, pueden modificar las lesiones de la sífilis temprana.

Generalmente se afirma que la fase secundaria comienza de seis semanas a seis meses después de la aparición del chancro. En realidad, es difícil precisar cuándo termina el período primario y cuando comienza el secundario. Las lesiones secundarias, si se presentan, pueden variar en cuanto a extensión y localización, aunque las zonas más reveladoras son las palmares y plantares. La mayoría de los pacientes a quienes se les diagnosticó sífilis a una edad ya avanzada de su vida no indicaron antecedentes reveladores de lesiones secundarias.

Si aparecen lesiones mucosas en la sífilis temprana, la trasmisión es mucho más segura. Aunque las lesiones infecciosas superficiales son más importantes para la salud pública a causa de su transmisibilidad, desde el punto de vista del enfermo los fenómenos realmente significativos ocurren debajo de la superficie cutánea. Es importante que el médico identifique esta enfermedad antes de que se desarrollen síntomas de que ha afectado los vasos, las vísceras y el sistema nervioso. La mayoría de las lesiones tardías son irreversibles y constituyen las complicaciones que causan la invalidez o la muerte. Es indispensable que el médico comprenda que las lesiones infecciosas tempranas son desastrosas para la colectividad y que las lesiones tardías lo son para el enfermo.

Después de los signos y síntomas que se presentan en la sífilis temprana, la enfermedad pasa al estado latente. Por definición, la sífilis latente se manifiesta únicamente mediante las reacciones serológicas positivas. Esto no significa sólo la ausencia de signos y síntomas físicos de sífilis, sino también de un líquido cefalorraquídeo negativo.

El Estudio de Tuskegee sobre la sífilis no tratada, realizado por la Sección de En-

fermedades Venéreas (USPHIS), que se encuentra actualmente en su 34° año de observación, revela que el grupo sifilítico continúa teniendo una mortalidad y morbilidad más altas que el grupo testigo. De los aparatos afectados, el circulatorio es el más frecuentemente lesionado. El 12 % de los sifilíticos examinados restantes tienen manifestaciones clínicas de sífilis tardía, el 64 % de ellos con lesiones cardiovasculares. La neurosífilis sigue en frecuencia y, finalmente, las lesiones gomasas o la sífilis benigna tardía.

Es preciso estar muy alerta ante la posibilidad de sífilis benigna tardía, ya que puede coexistir con formas más graves del aparato circulatorio y con la neurosífilis.

Sífilis y embarazo

Diremos algunas palabras sobre la sífilis y el embarazo. En general el diagnóstico y el tratamiento de la sífilis en la mujer embarazada son semejantes a los de cualquier persona sifilítica, salvo que en este caso no sólo interesa curar a la madre, sino además evitar la sífilis congénita. Un factor que desempeña un papel muy importante a este respecto es el tiempo. El tratamiento adecuado de la madre durante las 18 primeras semanas de embarazo impide la infección del feto porque, al parecer, el *T. pallidum* no atraviesa la barrera placentaria hasta cerca del quinto mes de la preñez. Si se inicia después de la 18a semana del embarazo, es como si se tratara al niño dentro del útero.

En cuanto a la serología de la sífilis en el recién nacido, diremos, sin entrar en detalles, que el diagnóstico de la sífilis congénita no puede hacerse únicamente fundándose en la positividad de reacciones serológicas o de inmovilización del treponema, porque la transferencia pasiva de anticuerpos de la madre al feto no infectado puede producir reacciones serológicas positivas en el niño durante varios meses. Conviene subrayar que una reacción serológica positiva en el niño o en la sangre del cordón umbilical no es índice, por sí misma, de infección ni de que está indicado el tratamiento. No sólo puede haber transferencia pasiva de reagentes

sifilíticas de la madre, sino que si su reacción biológica es falsamente positiva, también puede transferirla pasivamente. Además, los anticuerpos antitreponémicos pueden transmitirse pasivamente de la madre al niño.

Técnicas de diagnóstico

El control y la observación epidemiológica ulterior de cualquier enfermedad exige pruebas de laboratorio seguras, reproducibles, sensibles y específicas. Por eficiente y activo que sea un programa de epidemiología, estará destinado al fracaso si no cuenta con buenos medios para el diagnóstico de laboratorio. Las reacciones de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis se han refinado y perfeccionado más que cualquier otro conjunto de recursos para diagnosticar cualquier otra enfermedad en la historia. Al examinar los medios auxiliares de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis trataremos de la técnica de campo oscuro, de las reacciones serológicas y de los métodos para mantener el control de la calidad y la normalización de las pruebas.

La técnica de campo oscuro es una de las pruebas más importantes para el diagnóstico de la sífilis. El hallazgo de *T. pallidum* por examen en campo oscuro es el único método de diagnosticar la sífilis primaria seronegativa. Para efectuar el examen en campo oscuro es necesario sustituir el condensador de campo brillante por un condensador de campo oscuro, de preferencia en un microscopio monocular. Un buen condensador de campo oscuro no es un accesorio costoso y constituye un medio muy útil para diagnosticar la enfermedad en sus fases iniciales. En un 50 a un 55 % de los casos de lesión primaria, la reacción serológica estándar para determinar la sífilis es negativa debido a la insuficiente respuesta de anticuerpos en el momento del examen. Por esto, es indispensable emplear el microscopio con campo oscuro en todo consultorio de enfermedades venéreas.

Para lograr un buen examen en campo oscuro se requiere un técnico experimentado

que utilice el procedimiento con suficiente frecuencia para dominarlo. A menudo, el médico con escasa experiencia, que rara vez realiza observaciones en campo oscuro, no tiene la competencia necesaria para distinguir el *T. pallidum* de treponemas saprófitos y puede diagnosticar erróneamente muchas lesiones. El hallazgo de *T. pallidum*, a veces en escasa cantidad, mediante examen en campo oscuro, suele ser difícil y es preciso repetir los exámenes. El resultado negativo de dicho examen no excluye el diagnóstico de sífilis, ya que deben efectuarse reacciones serológicas mensuales por lo menos durante tres meses.

En el Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas, del Servicio de Salud Pública de E.U.A., se ha descubierto una nueva técnica de campo oscuro llamada "coloración rápida inmunofluorescente", que ayuda al médico a encontrar el *T. pallidum*, translúcido y, a veces, raro. Se ha preparado un conjugado de anticuerpos fluorescentes que específicamente tiñe sólo al *T. pallidum* y *T. pertenue*. Este nuevo procedimiento rápido de coloración inmunofluorescente puede aplicarse con facilidad en menos tiempo del que se necesita para ejecutar la técnica ordinaria de coloración de Gram. Se estima que el procedimiento de coloración de anticuerpos fluorescentes en campo oscuro, en el laboratorio del investigador, es un poco más sensible que la técnica ordinaria de campo oscuro. Los frotis tomados de la lesión sospechosa de sífilis para examinarlos de acuerdo con el procedimiento de anticuerpos fluorescentes en campo oscuro se secan y fijan por el calor, y pueden enviarse por correo a laboratorios centrales para ser tratados por técnicos debidamente preparados y experimentados. Por su fácil aplicación este procedimiento resulta práctico en una gran clínica de enfermedades venéreas o en el pequeño consultorio rural o de campo que no puede adquirir el equipo necesario para realizar esta prueba específica.

Hay muchos tipos diferentes de reacciones serológicas para investigar la sífilis. Durante el último medio siglo, a partir de la primera

reacción elemental de fijación del complemento de Wassermann para diagnosticar dicha enfermedad, se han observado progresos considerables en las reacciones serológicas. A pesar de los numerosos procedimientos diferentes que se emplean (fijación del complemento, floculación, anticuerpos fluorescentes, etc.), las reacciones serológicas para el diagnóstico de la sífilis pueden dividirse en reacciones con antígenos no treponémicos y treponémicos, y en el presente trabajo se examinarán en este orden.

Reacciones con antígenos no treponémicos

Las reacciones para diagnosticar la sífilis por medio de antígenos no treponémicos que permiten descubrir reagentas constituyen la mayoría de las pruebas de selección y descubrimiento de casos que se realizan en los hospitales, bancos de sangre y laboratorios particulares y de salud pública. En los Estados Unidos de América, la que se emplea más comúnmente es la reacción de VDRL en lámina, a la que sigue la reacción de fijación del complemento de Kolmer. Los antígenos que antes se empleaban para las reacciones no treponémicas eran lípidos crudos no específicos, generalmente extractos de corazón de buey. En las reacciones de diagnóstico podrían emplearse como antígenos extractos debidamente preparados de muchos tejidos de mamíferos y plantas, lo cual indica que las sustancias serológicamente reactivas están muy difundidas en la naturaleza y no se relacionan específicamente con los antígenos de *T. pallidum*. En los últimos 25 años se han aislado y purificado las sustancias serológicamente activas de los antígenos lípidos, y se han identificado como cardiolipina y lecitina. La sensibilidad y la especificidad de las modernas reacciones de antígenos no treponémicos dependen del equilibrio adecuado de estos dos componentes antigénicos asociados con el colesterol.

No obstante las mejoras en los métodos, debe recordarse que el antígeno de cardiolipina-lecitina no tiene relación específica con el antígeno del agente etiológico *T. pallidum*. Las reacciones no treponémicas se fundan en

una reacción química empírica entre un antígeno no específico y el llamado anticuerpo que se halla en el suero del sífilítico y que se denomina reagina. Ese antígeno no específico reacciona con la reagina, que actualmente sabemos que puede producirse en respuesta a un gran número de enfermedades agudas y crónicas. Dichas reacciones son "biológicas falsamente positivas". Con esto no se quiere menospreciar la especificidad de esta reacción. En la actualidad se registran menos resultados no específicos desde que se emplea la sustancia reactiva purificada (cardiolipina, lecitina y colesterol) en lugar del crudo antígeno lipoidal que antes se utilizaba.

En realidad, la proporción de reacciones biológicas falsamente positivas en la población normal, empleando un antígeno de cardiolipina, es muy baja: alrededor de un 0,16 por ciento. Aunque se puede controlar la sensibilidad de las reacciones a la cardiolipina reajustando los componentes del antígeno, sólo llegan a ser positivas en el 55 % de los casos de sífilis primaria positiva en campo oscuro por la insuficiente respuesta de anticuerpos del huésped en un período tan temprano dentro de la evolución natural de la enfermedad. Luego, también, en la sífilis tardía, cuando descienden las concentraciones de reagentas, la reacción de la cardiolipina sólo resulta positiva en un 45 a un 55 % de los casos.

Las reacciones con antígenos no treponémicos de cardiolipina se utilizan ampliamente en los Estados Unidos de América para practicar exámenes serológicos en la sangre, así como en muestras ordinarias de líquido cefalorraquídeo. Actualmente la mayoría de los laboratorios están realizando de preferencia las reacciones de floculación en lámina en vez de las de floculación en tubo o reacciones de fijación del complemento, pues aquellas son más sencillas, menos costosas, ofrecen seguridad y el personal de laboratorio puede efectuar un mayor número por hora de trabajo.

Es muy conveniente realizar habitualmente sólo una reacción con antígeno no treponémico. Si bien muchos laboratorios

efectúan otras reacciones no treponémicas similares, los resultados de una segunda reacción en un suero positivo ayudan muy poco al clínico o no le sirven de nada y pueden desconcertarle en caso de discrepancia. Es preferible que los laboratorios efectúen una sola reacción y que la ejecuten bien en lugar de emplear mal varios procedimientos diferentes.

Pese a cierta limitación en cuanto al empleo de las reacciones con antígenos no treponémicos de cardioplipina, su utilidad es casi indiscutible en las situaciones siguientes:

- Para el descubrimiento y selección de casos son preferibles a las reacciones treponémicas por su fácil ejecución y la economía que representan.

- Cuando se correlaciona con antecedentes de exposición a la sífilis infecciosa, la reacción positiva es confirmatoria.

- Una reacción positiva con antígeno no treponémico en alta dilución o con un título que se eleva rápidamente, constituye casi un diagnóstico de sífilis, aunque a veces pueden presentarse reacciones falsamente positivas con títulos elevados.

- Cuando se efectúa la reacción en muestras de líquido cefalorraquídeo, los resultados positivos son diagnósticos de neurosífilis, pues las reacciones biológicas falsamente positivas rara vez se encuentran en el líquido cefalorraquídeo si no existe contaminación con sangre periférica reactiva.

- Los resultados positivos son sumamente significativos cuando la investigación epidemiológica revela contactos infectados, sospechosos o asociados con casos de sífilis infecciosa.

- La respuesta del título serológico después del tratamiento proporciona un parámetro excelente para determinar la utilidad del tratamiento.

A fin de poder utilizar la reacción de antígenos no treponémicos como medio de selección de casos, se ha eliminado el tiempo que antes se perdía hasta que se coagulara la sangre y se inactivara el suero por calentamiento, mediante la reacción rápida de reagentes plasmáticos (RPR, 1962). En esta nueva reacción se emplea el antígeno fundamental de la VDRL que contiene cardioplipina, lecitina y colesterol. Además, se agrega una sustancia química, específicamente el cloruro de colina, que inactiva o

inhibe la sustancia que existe en el plasma o el suero sin calentar y que impide la aglutinación de antígenos y anticuerpos. Asimismo, aplicando los principios de la reacción RPR se ha obtenido la reacción del plasmacrito. El plasma que generalmente se desecha después de la determinación de microhematócrito puede utilizarse en el procedimiento del plasmacrito. También se ha descubierto una reacción de reagentes del suero no calentado en la que se emplea suero sin calentar para la prueba, eliminando el calentamiento en baño de María que se necesita en la reacción VDRL.

La sensibilidad y la especificidad de la reacción rápida de reagentes plasmáticos se aproximan a las de la VDRL. La sensibilidad de la reacción depende del procedimiento modificado específico, así como de la habilidad y experiencia del técnico que ejecute el procedimiento. Debe subrayarse que, como en el caso de todas las reacciones, sólo es posible realizarlas satisfactoriamente cuando se mantienen testigos adecuados y el procedimiento se ajusta exactamente a la técnica recomendada, empleando buenos reactivos.

Reacciones con antígenos treponémicos

En un principio se pensó que en el primer intento de Wassermann por elaborar una reacción serológica se empleaba un antígeno específico, pero pronto se descubrió que la reactividad al hígado era producida por el suero sífilítico y no por el *T. pallidum* presente en el extracto de hígado del nacido muerto con sífilis congénita, que originalmente utilizó Wassermann. Una vez que se reconoció que el lípido tisular crudo no era un antígeno específico, muchos han tratado de preparar antígenos específicos a partir del agente etiológico, *T. pallidum*. Desde el informe de Nelson sobre la reacción de inmovilización del *T. pallidum* (TPI) en 1949, se han ideado numerosas pruebas. Las reacciones con antígenos treponémicos específicos son de suma utilidad en casos especiales: 1) permiten distinguir las reacciones sífilíticas de las reacciones biológicas falsamente positivas que a veces se presentan en las pruebas

con antígenos no treponémicos, y 2) sirven para confirmar un diagnóstico de sífilis en un enfermo con manifestaciones clínicas o antecedentes epidemiológicos de sífilis y una reacción no treponémica negativa. Pero no obstante los progresos que se han logrado en cuanto a la sensibilidad y especificidad en estas nuevas reacciones con antígenos treponémicos, todavía no informan al clínico respecto a si el paciente ha recibido o no el tratamiento adecuado.

Las reacciones con antígenos treponémicos son siempre más costosas y técnicamente más difíciles de realizar que las no treponémicas y, por tanto, no se obtienen con tanta frecuencia. Repitiendo lo ya expresado: las reacciones con antígenos treponémicos no deben usarse habitualmente, sino que deben reservarse como procedimientos de verificación aplicable a petición especial del clínico cuando surjan problemas de diagnóstico. Aunque se han descubierto muchas pruebas con antígenos treponémicos, nos limitaremos a describir las reacciones treponémicas más prácticas y más frecuentemente empleadas.

La reacción de inmovilización del treponema es sencilla en teoría, pero difícil en la práctica. Se utiliza un antígeno de treponemas vivos que se han desarrollado en tejido testicular de conejo y se extraen en medio propicio para su supervivencia. El antígeno, el suero del paciente y el complemento se mezclan y se incuban en una atmósfera de 5% de anhídrido carbónico y 95% de nitrógeno, y luego se leen las pruebas al microscopio en campo oscuro. Se determinan los resultados de las reacciones comparando el porcentaje de treponemas inmovilizados por el suero con un complejo sistema de testigos.

No obstante los problemas técnicos que plantea, la reacción de inmovilización del *T. pallidum* constituye una prueba serológica excelente para diagnosticar la sífilis con alta especificidad. Excepto en la sífilis temprana, la sensibilidad de esta reacción es casi de un 100 por ciento. La reactividad de la TPI deja algo que desear en la sífilis temprana, obteniéndose resultados negativos en dos tercios

de los pacientes con sífilis primaria y en un tercio de pacientes con sífilis secundaria. Debido a su gran especificidad y sensibilidad en la sífilis tardía, todas las reacciones treponémicas subsiguientes se han comparado con ésta, considerada como patrón.

Desde un punto de vista práctico, todavía se necesita una reacción serológica específica y sensible que pueda realizarse en el laboratorio ordinario. Los trabajos para producir una reacción de esas características se han visto coronados por el éxito con el descubrimiento de la reacción de anticuerpos treponémicos fluorescentes, que es menos compleja técnicamente y menos costosa que la reacción TPI. En la reacción de anticuerpos treponémicos fluorescentes, tal como fue ideada por Deacon y sus colaboradores, se emplean las técnicas indirectas de anticuerpos fluorescentes para la identificación de un anticuerpo treponémico específico. Esta reacción se ha perfeccionado empleando un mejor colorante de fluoresceína y una técnica de absorción para eliminar del suero al grupo no específico de anticuerpos treponémicos, evitando la reactividad inespecífica que se producía en la técnica de la reacción original.

Recientemente, Deacon y Hunter han demostrado que hay varios treponemas que comparten antígenos en común con el *T. pallidum* y que podrían ser responsables de reacciones no específicas en la técnica original de los anticuerpos treponémicos fluorescentes, en la cual el suero de prueba se diluía en solución salina fisiológica al 1:5. Estos anticuerpos no específicos pueden eliminarse del suero de personas normales absorbiéndolos con una fracción del treponema de Reiter que contiene el antígeno del grupo treponémico. Aprovechando estos conocimientos se obtuvo una reacción de anticuerpos treponémicos fluorescentes mejorada: la técnica de absorción de los anticuerpos treponémicos fluorescentes (FTA-ABS). La especificidad de esta nueva reacción, que está actualmente siendo evaluada, es igual a la de la inmovilización del *T. pallidum* y su sensibilidad en la sífilis temprana y tardía

supera a la de los patrones establecidos para las reacciones serológicas. La sensibilidad de la reacción FTA-ABS es aproximadamente de un 80 % en pacientes con sífilis primaria, de un 100 % en los de sífilis secundaria y es superior en alrededor de un 10 % a la sensibilidad de la TPI en la sífilis tardía. Es posible que la reacción FTA-ABS pueda reemplazar en el futuro a la TPI, que es costosa y mucho más difícil de realizar.

Normas técnicas

El control de la calidad y la estandarización de las reacciones serológicas constituyen una necesidad absoluta. Las reacciones serológicas fidedignas son, indudablemente, de gran valor para el diagnóstico de la sífilis y la evaluación del tratamiento. Si los resultados de las pruebas de laboratorio no son seguros y fidedignos, ni presentan especificidad y sensibilidad reproducibles, el clínico no puede hacer un diagnóstico y surge la confusión.

Para establecer y mantener estas normas y asumir la responsabilidad de su adopción y empleo, es absolutamente necesario un centro (laboratorio) serológico de referencia. A fin de asegurar la uniformidad de los resultados de las reacciones de un laboratorio, de semana a semana y de mes a mes, y de un laboratorio en comparación con otro, es indispensable evaluar constantemente los reactivos, el equipo y el trabajo de esos laboratorios, y compararlos con los patrones aceptados. En los Estados Unidos de América se ha establecido como laboratorio de referencia el Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas, del Servicio de Salud Pública. Este laboratorio ofrece sus servicios como centro de referencia a los laboratorios estatales. Muchos de éstos, a su vez, llevan a cabo programas intraestatales de estandarización y ofrecen a los laboratorios comprendidos dentro de su jurisdicción servicios similares a los que proporciona el mencionado Laboratorio de Investigación.

Con el objeto de asegurar el control de la calidad, dicho Laboratorio establece métodos para la estandarización de los reactivos

que se utilizan en la serología de la sífilis y prepara y mantiene antígenos y otros reactivos como patrones de referencia. Los reactivos de referencia están a la disposición de los fabricantes de productos biológicos y de los laboratorios estatales que los soliciten para pruebas de verificación. Pueden enviarse productos comerciales envasados al Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas para someterlos a pruebas comparativas a fin de determinar si poseen un grado aceptable de reactividad. La mayoría de las principales empresas que fabrican productos biológicos utilizan voluntariamente este servicio, aunque no existe requisito legal al respecto.

Para el mantenimiento de las normas técnicas, el Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas realiza estudios de evaluación de las reacciones serológicas para el diagnóstico de la sífilis a fin de determinar su sensibilidad y especificidad relativas. Este Laboratorio da a conocer periódicamente las técnicas que se emplean en los métodos de uso más frecuente en los Estados Unidos de América mediante la publicación titulada *Manual de reacciones serológicas para el diagnóstico de la sífilis*.³ Además, se llevan a cabo estudios anuales de evaluación para determinar la eficacia con que los laboratorios estatales efectúan reacciones para diagnosticar la sífilis. Durante un período de 10 meses se distribuyen muestras de suero de cada uno de los laboratorios participantes. Los resultados obtenidos por dicho Laboratorio de Investigación se comunican cada mes a los participantes y se publica un informe anual en el que se comparan los resultados de todos los laboratorios participantes con los del laboratorio de control.

El Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas sirve como centro de adiestramiento del personal de los laboratorios de los departamentos estatales de salud pública; ahí aprenden a realizar las reacciones en estricta conformidad con las

³ Publicado en español por la OPS (*Publicación científica 47*).

técnicas establecidas. Consultores del Laboratorio se trasladan a estos últimos laboratorios cuando así lo solicitan con las siguientes finalidades: 1) evaluar la labor técnica y los programas de serología; 2) proporcionar adiestramiento en el servicio, y 3) asesorar en los cursos de perfeccionamiento sobre el terreno. La utilización voluntaria del Laboratorio de Investigación sobre Enfermedades Venéreas como centro de control, por parte de los laboratorios estatales de todo el país, así como por casas comerciales abastecedoras de productos biológicos, ha contribuido a elevar las normas relativas a la ejecución de reacciones serológicas para diagnosticar la sífilis en los Estados Unidos de América.

Blenorragia

Nos referiremos ahora a los aspectos clínicos de la blenorragia. El agente infeccioso, *Neisseria gonorrhoeae*, es un diplococo gramnegativo perteneciente al género *Neisseria* junto con el meningococo. Las infecciones por *N. gonorrhoeae* afectan el epitelio columnar y el de transición, por lo que en los adultos pueden presentarse la uretritis, la salpingitis, la cervicitis y otras complicaciones; en las muchachas preadolescentes, la vulvovaginitis y, en el recién nacido, la conjuntivitis.

La epidemiología de la blenorragia plantea muchos problemas. En contraste con otras muchas enfermedades, una infección gonocócica no produce inmunidad aparente contra infecciones subsiguientes. El tratamiento rápido de hoy en día propende a destacar este hecho, pues con posterioridad a un tratamiento satisfactorio se presentan reinfecciones al volver a exponerse el paciente y a menudo éstas son causadas por la misma persona con la que se mantuvo relaciones sexuales por ser asintomática, no tratada o tratada insuficientemente. La blenorragia es más frecuente en el varón que en la mujer y afecta más a los solteros que a los casados. El contacto íntimo con el tipo adecuado de membrana mucosa parece ser absolutamente indispensable para la transmisión de esta

enfermedad, y la participación de objetos intermediarios en la transmisión puede considerarse de poca importancia. La curación espontánea de esta enfermedad se logra en los hombres, pero en el caso de las mujeres sigue siendo válida por lo menos la última parte de la observación de Ricord: "Sabemos cuándo comienza la blenorragia, pero sólo Dios sabe cuándo terminará."

En general el diagnóstico de la blenorragia aguda en el varón no plantea muchos problemas al médico en ejercicio. El principio típico es repentino, con los síntomas característicos de micción frecuente, imperiosa, dolorosa y abundante, secreción mucopurulenta y un antecedente de contacto sexual en el curso de las dos semanas anteriores. Los síntomas generales, si los hay, son leves. La infección queda localizada en la uretra anterior durante la primera semana, más o menos, y luego se difunde a la uretra posterior y afecta la próstata y las vesículas seminales. De aquí la infección sigue por el conducto deferente hasta el epidídimo y produce una epididimitis dolorosa, frecuentemente unilateral.

En la mujer, donde se concentran muchos de nuestros problemas, la blenorragia varía desde una infección asintomática localizada en el cuello uterino y la uretra (o uno de los dos órganos), las glándulas de Skene y las de Bartholin, hasta un padecimiento extenso y sintomático que afecta el epitelio de las vías urinarias, el cuello uterino y las trompas de Falopio, junto con el revestimiento peritoneal de los anexos. Las complicaciones pueden ser frecuentes en la mujer. La incidencia de la salpingitis gonocócica activa observada en la Real Enfermería de Liverpool, Inglaterra, fue del 10 % en 1961 y del 11 % en 1962. En el informe anual de 1962 al Ministro de Salud de ese país se destacaba el notable aumento de defunciones atribuidas a embarazos extrauterinos. La cifra se elevó de 12 % en 1961 a 22 % en 1962, alterando la tendencia descendente general observada a partir de 1953, que, según se estima, posiblemente guarde relación con el reciente aumento de la blenorragia en Inglaterra.

Además de las complicaciones mencionadas en varones y mujeres, existen algunas otras. La proctitis, cuando se presenta en varones, casi siempre es el resultado de contacto homosexual, pero en las mujeres es con más frecuencia resultado de la propagación por secreciones vaginales. En un estudio reciente de Schroeter y Yobs, se diagnosticó blenorragia en el recto en el 41 % de las mujeres que tenían blenorragia urogenital, e infección primaria del recto en siete casos de mujeres. Puede presentarse artritis mono o poliarticular, así como parotiditis, esterilidad y conjuntivitis. Rara vez se produce meningitis o endocarditis, pero pueden ocurrir. Si bien se han registrado casos de blenorragia de la piel, son muy poco frecuentes.

En el control de la blenorragia, algunos de nuestros problemas principales son: 1) la mujer asintomática portadora de la enfermedad; 2) la imposibilidad de diagnosticar con precisión los casos de blenorragia femenina cuando se presentan, y 3) el reservorio de casos no notificados.

Por si esto no crease ya una situación seria, Pariser y sus colaboradores han publicado recientemente un trabajo sobre "La blenorragia asintomática en el varón", que confirma las conclusiones de otros investigadores en el sentido de que en el hombre pueden albergarse gonococos sin producir signos ni síntomas de dicha enfermedad. El hombre puede adquirir una infección asintomática o continuar albergando microorganismos después de un tratamiento que ha hecho desaparecer los signos o síntomas. Sólo cabe preguntarse si en estado asintomático el varón puede albergar o no suficientes microorganismos en forma viable para transmitir la enfermedad. Desde los puntos de vista clínico y epidemiológico parece que es probable la transmisión por un varón asintomático.

Diremos algunas palabras respecto a la toma de especímenes de la mujer. La eficiencia de cualquier método de laboratorio para descubrir *N. gonorrhoeae* en la mujer depende primordialmente de la eficiencia del

médico para obtener especímenes convenientes del sitio o sitios apropiados. Como precaución, no se debe emplear lubricante quirúrgico ni jabón en el espéculo o en los guantes. La jalea quirúrgica y el jabón suelen destruir los gonococos que puede haber debido a los agentes bacteriostáticos que contienen esas jaleas y preparados.

¿Qué se puede decir del sitio donde se toman las muestras y de la toma misma? Aunque la mucosa endocervical es el sitio más importante que debe examinarse, Deacon y sus colaboradores han demostrado en exámenes de mujeres asintomáticas que cuando se comparan las muestras tomadas del cuello, la uretra y la vagina, ningún sitio por sí solo habría producido más de un 50 % de resultados positivos en contraste con los datos positivos obtenidos de los tres sitios. Esta conclusión revela el escaso número de microorganismos que presentan las infecciones femeninas asintomáticas. Sin embargo, yo agregaría que es posible que en exámenes subsiguientes se descubran otros resultados positivos en las mujeres asintomáticas que fueron negativas en el examen inicial. Esto demuestra la conveniencia de examinar más de un sitio y de practicar múltiples exámenes.

En los cinco o seis últimos años se ha observado una revolución en las técnicas de diagnóstico de laboratorio de la blenorragia. Sólo en años recientes se ha simplificado el arduo y tedioso procedimiento de identificación de *N. gonorrhoeae*. Después de 60 años, la coloración de Gram continúa siendo uno de los métodos más utilizados. Aunque es relativamente preciso y se emplea con frecuencia en el varón sintomático, es un medio de diagnóstico muy poco eficaz en los pacientes asintomáticos, hombres o mujeres. Los cultivos ordinarios que se preparaban en la mayoría de los laboratorios antes de descubrirse los procedimientos de los anticuerpos fluorescentes y el medio selectivo de Thayer no eran mucho mejores.

Los cultivos se han simplificado considerablemente en los tres últimos años con la introducción del medio selectivo antibiótico

de Thayer-Martin. En el nuevo medio se desarrollan selectivamente sólo los gérmenes patógenos del grupo *Neisseria*, *N. meningitidis* y *N. gonorrhoeae*. Este medio puede prepararse tan fácilmente como los medios tradicionales de cultivo, con igual costo o un poco más. Tiene la ventaja de que permite el desarrollo de *N. gonorrhoeae* tan bien como el agar de chocolate clásico, y al mismo tiempo inhibe la mayoría de los gérmenes que comúnmente contaminan la faringe, el cuello uterino, la vagina, la uretra y el recto. El aislamiento de cultivos puros se consigue fácil y rápidamente hasta el punto de que la mayoría de los cultivos iniciales son puros y pueden identificarse inmediatamente por medio de la fermentación de carbohidratos en el término de 72 horas, en tanto que con un medio ordinario se necesita aproximadamente una semana.

Deacon (1959) preparó el camino para adquirir una nueva perspectiva en el diagnóstico de la blenorragia utilizando los procedimientos de los anticuerpos fluorescentes para identificación de *N. gonorrhoeae*. Con esta nueva aplicación se han ideado las pruebas de diagnóstico siguientes: observación directa e inmediata de anticuerpos fluorescentes; observación directa y tardía de anticuerpos fluorescentes, y coloración rápida inmunofluorescente.

La observación directa e inmediata de anticuerpos fluorescentes constituye un procedimiento sensible, específico y preciso de diagnóstico en el varón infectado, pero su sensibilidad es insuficiente para emplearla sola en el diagnóstico de la mujer infectada.

La sensibilidad de la observación directa de anticuerpos fluorescentes en el diagnóstico de la blenorragia en varones, comparada con la del cultivo, es casi del 100 %, según la habilidad del microbiólogo. La sensibilidad del procedimiento de observación directa de anticuerpos fluorescentes en las mujeres asintomáticas, mencionadas como contactos de varones infectados (25 a 35 %), depende del número de microorganismos encontrados en el sitio contaminado que se examine. La contaminación del sitio examinado, más la

escasez de microorganismos en la mujer asintomática, disminuyen la sensibilidad de la prueba. Desde que se observó que la fluorescencia se manifestaba bien en los cultivos de gonococos en el término de 12 a 16 horas, cultivando los escasos microorganismos del cuello uterino para aumentar su número y aplicar el procedimiento directo de los anticuerpos fluorescentes, la sensibilidad de esta prueba en las mujeres asintomáticas mencionadas como contactos aumentó hasta alcanzar alrededor de un 60 por ciento. Esta modificación, denominada observación tardía de anticuerpos fluorescentes, consiste simplemente en agregar un período muy breve de cultivo para aumentar el número de microorganismos obtenidos en la muestra del cuello uterino o de otros sitios y acrecentar así la sensibilidad de la prueba.

Kellogg (1964) ideó un procedimiento rápido de coloración inmunofluorescente que, de hecho, tarda menos que la coloración de Gram. Dicho procedimiento, en el que se emplea el mismo conjugado que en la observación directa e inmediata de anticuerpos fluorescentes, resultó ser tan sensible como el método ordinario de observación tardía de anticuerpos fluorescentes.

Uno de los mayores adelantos en el campo de la bacteriología de la blenorragia ha sido el método de anticuerpos fluorescentes utilizando la coloración específica para teñir el gonococo. Puede identificarse específicamente un cultivo que se sospecha sea de *N. gonorrhoeae* mediante la observación directa de anticuerpos fluorescentes, eliminando la purificación y la fermentación que pueden ocupar varios días. Combinando el medio selectivo de Thayer-Martin y ese procedimiento de observación directa puede identificarse eficazmente el gonococo en el término de 24 a 48 horas. Sin embargo, el medio antibiótico de Thayer-Martin retarda el desarrollo de microorganismos en las primeras 24 horas; por lo tanto, a fin de obtener la cosecha más productiva, es necesario esperar 26 a 48 horas para que se desarrolle el cultivo que permita la identificación de los anticuerpos fluorescentes.

Resumen

Dos enfermedades venéreas se consideran: la sífilis y la blenorragia. En el primer caso, se dedica especial atención a la sífilis temprana. Las lesiones infecciosas tempranas son desastrosas para la colectividad, así como las lesiones tardías lo son para el enfermo. Después de los signos y síntomas que presenta la sífilis temprana, la enfermedad pasa a su estado latente que, por definición, sólo se manifiesta mediante las reacciones serológicas positivas. Un estudio sobre la sífilis no tratada reveló que, en un período de 34 años, el grupo sífilítico continúa teniendo una mortalidad y morbilidad más altas que el grupo testigo; de los aparatos afectados, el más frecuentemente lesionado es el circulatorio. El 12% de los pacientes restantes examinados tuvo manifestaciones clínicas de sífilis tardía, el 64% de ellos con lesiones cardiovasculares. La sífilis benigna tardía puede coexistir con formas más graves que afectan al aparato circulatorio y con la neurosífilis.

En el tratamiento de la sífilis de la mujer embarazada interesa, además de curar al enfermo, evitar la sífilis congénita. El tratamiento adecuado de la madre durante las primeras 18 semanas de embarazo impide la infección del feto. En el recién nacido, el diagnóstico de la sífilis no puede hacerse fundándose sólo en la positividad de reac-

ciones serológicas o de inmovilización del treponema, porque la transferencia pasiva de anticuerpos de la madre al feto no infectado puede producir reacciones serológicas positivas en el niño durante varios meses.

Las reacciones de laboratorio para el diagnóstico de la sífilis se han perfeccionado más que cualquier otro conjunto de recursos para el diagnóstico de una enfermedad; entre esos medios auxiliares, se estudian la técnica de campo oscuro, las reacciones serológicas (con antígenos no treponémicos y con antígenos treponémicos) y los métodos para mantener el control de la calidad y la normalización de las pruebas. Para establecer y mantener estas normas, así como para asumir la responsabilidad de su adopción y empleo, es indispensable un laboratorio de referencia.

En cuanto a la blenorragia, se examinan sus aspectos clínicos y los problemas relativos a su control, de los cuales los tres principales son: 1) la mujer asintomática portadora de la enfermedad; 2) la imposibilidad de diagnosticar con precisión los casos blenorragícos femeninos, y 3) el reservorio de casos no notificados. Se describen las técnicas de diagnóstico de laboratorio de la blenorragia utilizadas hasta ahora y las últimas innovaciones en este campo, entre ellas el medio selectivo antibiótico de Thayer-Martin, la utilización de anticuerpos fluorescentes, y la coloración rápida inmunofluorescente. □

Clinical and Laboratory Diagnosis of Venereal Disease (Summary)

This article deals with two venereal diseases: gonorrhea and syphilis, especially early syphilis. Early infectious syphilis is disastrous for the community, as are late lesions for patient. Following the signs and symptoms that occur in early syphilis, the disease becomes latent. By definition latent syphilis is manifested only by reactive serological tests. A study of untreated syphilis now in its 34th year of observation reveals that the syphilitic group continues to have higher mortality and morbidity than the control group; of

the systems affected the cardiovascular is most commonly involved. Twelve per cent of the remaining syphilitics examined had clinical evidence of late syphilis, 64 per cent of these having cardiovascular involvement. Benign syphilis may coexist with more severe syphilis of the cardiovascular system and neurosyphilis.

In treating syphilis in the pregnant female we are interested not only in curing the patient but also in preventing congenital syphilis. Adequate treatment of the mother during the first 18 weeks

of gestation prevents infection of the baby. The diagnosis of congenital syphilis in the newborn cannot be made solely on the basis of a positive STS or TPI because the passive transfer of antibodies from the mother to the non-infected fetus may result in positive serological tests in the infant for several months.

The diagnostic laboratory tests for syphilis have been refined and perfected more than any other set of diagnostic tools for any other disease; among these laboratory aids the following are described: dark field technique, the non-treponemal antigen test, and the treponemal antigen test, as well as methods for quality control and standardization of serological tests. To develop and maintain these standards and be responsible for

implementing their adoption and use, a serological reference center (laboratory) is an absolute necessity.

The author deals with the clinical aspects of gonorrhea and the problems involved in its control. The three major problems are: the asymptomatic female carrier of the disease; the inability to adequately diagnose female gonorrhea cases when presented; and the reservoir of unreported cases. The author goes on to describe the laboratory diagnostic techniques for gonorrhea at present in use, as well as the latest advances, including the Thayer-Martin antibiotics selective medium, the fluorescent antibody procedure, and the rapid immunofluorescent staining procedure.

Diagnóstico Clínico e de Laboratório das Doenças Venéreas (Resumo)

São examinadas no trabalho duas doenças venéreas: a sífilis e a blenorragia. No primeiro caso, dedica-se especial atenção ao período primário. As lesões infecciosas primárias são desastrosas para a coletividade, da mesma forma como as terciárias o são para o enfermo. Depois dos sinais e sintomas do período primário, a enfermidade passa a seu estado latente que, por definição, só se manifesta por reações serológicas positivas. Um estudo sobre a sífilis não tratada revelou que, num período de 34 anos, o grupo sífilítico continua tendo uma mortalidade e morbidade mais elevadas do que o grupo de prova; dos aparelhos afetados, o que com maior frequência apresenta lesões é o circulatório. Doze por cento dos pacientes examinados apresentaram manifestações clínicas de sífilis terciária e 64 por cento tinham lesões cardiovasculares. A sífilis terciária benigna pode coexistir com formas mais graves que afetam o aparelho circulatório e também com a neurosífilis.

No tratamento de uma mulher grávida interessada, além de curar a enferma, evitar a sífilis congênita. O tratamento adequado da mãe durante as primeiras 18 semanas da gravidez impede a infecção do feto. No recém-nascido, o diagnóstico da sífilis não pode ser feita com base apenas em resultados positivos de reações serológicas ou de imobilização do treponema, uma vez que a

transferência passiva de anticorpos da mãe para o feto não infectado pode produzir reações serológicas positivas na criança durante vários meses.

As reações de laboratório para o diagnóstico da sífilis foram mais aperfeiçoadas do que qualquer outro conjunto de recursos para o diagnóstico de uma enfermidade; entre esses meios auxiliares, estudam-se a técnica do campo escuro, as reações serológicas (com antígenos não treponêmicos e com antígenos treponêmicos) e os métodos de manutenção do controle da qualidade e da normalização dos exames. Para estabelecer e manter essas normas, assim como para assumir a responsabilidade de sua adoção e emprêgo, é indispensável um laboratório de referência.

Quanto à blenorragia, são examinados neste trabalho seus aspectos clínicos e os problemas relativos a seu controle, dos quais os principais são: 1) a mulher assintomática portadora da enfermidade; 2) a impossibilidade de diagnosticar com precisão os casos blenorragícos femininos; e 3) os casos não notificados. Faz-se também uma descrição das técnicas de diagnóstico de laboratório da blenorragia utilizadas até o momento e as últimas inovações neste campo, entre as quais o processo seletivo antibiótico de Thayer-Martin, a utilização de anticorpos fluorescentes e a coloração rápida imonofluorescente.