

La prueba de la Inmunofluorescencia indirecta para Sífilis (FTA-ABS) en la mujer embarazada

*Dra. Alis A. de Valbuena
**Dr. Otto Valbuena Adrianza
***Dr. Marcos Tulio Torres Vera

INTRODUCCION

La sífilis en la mujer embarazada adquiere características muy importantes y peculiares ya que ella puede transmitir la enfermedad a su descendencia a través de la placenta (1).

En respuesta a la infección por el **Treponema pallidum** se desarrollan en la mujer embarazada al igual que en cualquier otro paciente dos tipos de anticuerpos: 1.- anticuerpos reagínicos, no específicos, demostrados por pruebas como el VDRL. 2.- anticuerpos treponémicos o específicos demostrados por pruebas como el TPI o el FTA-ABS.

El VDRL es la prueba serológica más empleada y utiliza como antígeno la cardiolípina, antígeno no específico obtenido de un extracto alcohó-

* Profesor Agregado. Cátedra de Microbiología. e Immunología. Escuela de Medicina. Universidad del Zulia. Maracaibo, Venezuela.

** Médico Adjunto al Servicio de Obstetricia. Maternidad Armando Castillo Plaza. Maracaibo. Venezuela.

*** Médico adjunto al Servicio de recién nacidos del Departamento Pediátrico del Hospital Universitario de Maracaibo. Profesor de la Cátedra de Pediatría. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

lico de corazón de buey. Es una prueba rápida, económica, fácil de realizar y muy sensible, sin embargo por ser poco específica puede dar reacciones positivas en pacientes que no tienen sífilis. A estas pruebas se les conoce como "Falsas reacciones biológicas positivas" (FBP) y han sido clasificadas en agudas si persisten reactivas hasta por 6 meses o crónicas si persisten reactivas por más de 6 meses, inclusive por años.

Las reacciones biológicas falsas positivas no son raras y pueden aparecer en un gran número de condiciones: enfermedades agudas bacterianas o virales, hepatitis infecciosa, sarampión, mononucleosis infecciosa, lepra, inmunizaciones, enfermedades del colágeno y embarazo (2,3,4,5). La diferenciación entre una reacción biológica falsa positiva y una reacción verdadera puede hacerse empleando pruebas treponémicas específicas como el TPI o el FTA-ABS.

La prueba del TPI desarrollada por Mayer y Nelson en 1949 (6) consiste en la inmovilización del **Treponema pallidum** cuando éste se pone a reaccionar con suero de pacientes sífilíticos, es una prueba muy específica pero costosa y difícil de realizar por la necesidad de mantener Treponemas vivos en testículo de conejos.

La prueba del FTA-ABS (7) es una prueba de inmunofluorescencia indirecta que se hace mezclando el suero del paciente con un extracto de Treponema no patógeno (Cepa Reiter) a fin de absorber los anticuerpos específicos de grupo que puedan dar reacciones falsas positivas. El suero problema absorbido es colocado luego sobre un frotis de **Treponema pallidum** y después de 30 minutos de incubación es agregada una antigammaglobulina marcada con fluoresceína. En caso de existir anticuerpos el treponema se verá fluorescente cuando se le examina bajo un microscopio de fluorescencia.

El FTA-ABS es una prueba muy sensible en todos los estadios de la sífilis, es también muy específica y su uso está reservado para problemas diagnóstico especialmente pacientes VDRL reactivos, sin evidencias clínicas ni epidemiológicas de sífilis como puede suceder en la mujer embarazada.

Una embarazada VDRL reactiva puede o no ser sífilítica y en cualquiera de las dos condiciones, el recién nacido puede ser también serológicamente reactivo sin que ello signifique infección intrauterina ya que, pueden existir transferencias de reagentes de la madre al feto a través de la placenta.

El diagnóstico de sífilis congénita en un recién nacido serológicamente reactivo no es fácil de hacer, sobre todo si el niño no presenta manifestaciones clínicas de la enfermedad como anemia, hepatoesplenomegalia, ictericia o lesiones cutáneo-mucosas. En estos casos los exámenes serológicos seriados (VDRL), serán los que determinarán si ha habido transferencia placentaria de anticuerpos o no, debido a que una caída en los títulos significará reaginemia pasiva, mientras que una elevación de los mismos significará producción activa de anticuerpos por parte del feto o el recién nacido y por tanto sífilis congénita. Sin embargo las pruebas serológicas seriadas tienen el inconveniente de que llevan tiempo, y esto puede retardar el tratamiento o, se puede correr el riesgo de que el paciente se pierda de la consulta y quede sin tratamiento.

Las pruebas treponémicas específicas (TPI, FTA-ABS) hechas en un recién nacido serológicamente reactivo, tampoco ayudan al diagnóstico de sífilis congénita, debido a que los anticuerpos que detectan estas pruebas caen en su mayoría en la fracción IgG y estos, son los anticuerpos que atraviesan la barrera placentaria.

De manera que, por las razones anteriormente expuestas, ha habido gran interés en desarrollar una prueba serológica específica que permita hacer el diagnóstico de sífilis congénita en un recién nacido. Gracias a que se sabe que la IgM no atraviesa la barrera placentaria, y que se ha demostrado que las cantidades elevadas de IgM que aparecen en la sangre del cordón umbilical, o en la sangre de un recién nacido, son el resultado de una infección in útero (9), Scotti y Logan (10) desarrollaron en 1968 una técnica modificada del FTA-ABS, empleando en lugar de una antigammaglobulina total (que es casi toda una anti IgG) una anti IgM marcada con fluoresceína, con la finalidad de detectar anticuerpos antitreponémicos específicos de la clase IgM, producidos como consecuencia de la infección in útero. La demostración de estos anticuerpos así como, la elevación de los niveles de IgM en un recién nacido han sido tomados como evidencias para hacer el diagnóstico de sífilis congénita (11).

MATERIAL Y METODOS

Considerando que el embarazo es una de las causas productoras de falsas reacciones biológicas positivas (FBP) (5) y, tomando en cuenta que el VDRL es un examen rutinario en la embarazada, quisimos investigar la fre-

cuencia de FBP en este tipo de pacientes en nuestro medio, mediante pruebas de VDRL y FTA-ABS.

Para el estudio recogimos 100 sueros VDRL reactivos de embarazadas que ingresaron en Trabajo de Parto a la Maternidad Armando Castillo Plaza de Maracaibo, las muestras recogidas el mismo día del examen fueron guardadas a -20° C hasta el momento de realizar el FTA-ABS. Se recogieron también muestras de sangre de yugular interna en 12 recién nacidos de madres VDRL reactivas a fin de practicarles VDRL, FTA-ABS, FTA-ABS (IgM) y determinación cuantitativa de IgM. Cada recién nacido fue examinado clínicamente por uno de los autores del trabajo buscando datos clínicos que orientaran en el diagnóstico de sífilis.

Se estudiaron 50 embarazadas VDRL no reactivas con la finalidad de demostrar la especificidad del FTA-ABS.

La metodología empleada para el FTA-ABS fue la de Deacon y Hunter (7) y para el FTA-ABS (IgM) fue la de Scotti y Logan (10). Los reactivos fueron obtenidos de la casa BBL.

El día de la prueba tanto los sueros controles (reactivo, no reactivo y no específico) como los sueros problemas, fueron inactivados a 56° C durante media hora. De cada muestra de suero, en tubos de 12 x 75 mm se colocó 0.05 ml del suero y se mezcló con 0.2 ml del sorbente de Reiter, luego con pipeta Pasteur se dejó caer una gota de cada suero, sobre el círculo correspondiente de una lámina de vidrio conteniendo frotis de **Treponema pallidum**; las láminas se incubaron en cámara húmeda a 37° C por 30 minutos, se lavaron dos veces con solución salina bufferada y luego se agregó una gota del conjugado fluorescente cuyo título de trabajo había sido previamente determinado, se incubaron nuevamente a 37° C por media hora, se lavaron dos veces con PBS y una vez con agua destilada, se secaron, se les agregó una gota de líquido de montaje, se colocó una lamini-lla cubre objetos y se sellaron para ser leídas inmediatamente bajo el microscopio de fluorescencia marca LEITZ ORTHOLUX con lámpara de arco de mercurio HBO 200 y una combinación de filtros BG12 (filtro excitador) y OG1 (filtro de barrera). La positividad fue reportada de acuerdo al grado de fluorescencia de \pm a++++ (DR-R). Los sueros de recién nacidos reactivos para la prueba del FTA-ABS (IgM) fueron diluidos en títulos crecientes hasta dilución 1:200, a fin de eliminar reacciones falsas positivas que pudieran ocurrir como consecuencia del paso de anticuerpos IgM maternos debido a cambios degenerativos placentarios.

La determinación cuantitativa de IgM fue realizada por técnicas de inmunodifusión radial según Mancini y Carbonara (12) empleando placas de Tripartigen para bajo nivel de los Laboratorios Hoechst Remedía.

La historia obstétrica de cada madre fue revisada en el Departamento Obstétrico de la Maternidad Armando Castillo Plaza de Maracaibo para buscar los siguientes datos: edad, número de embarazos, abortos, fetos muertos, antecedentes clínicos o epidemiológicos de sífilis, antecedentes de vacunaciones recientes, enfermedades agudas recientes, bacterianas o virales, enfermedades del colágeno y tratamiento antisifilítico recibido.

RESULTADOS

La edad de las pacientes osciló entre 20 y 40 años, con predominio entre los 20 y 30 años (60 por ciento). El 90 por ciento fueron multíparas, en su mayoría con más de 5 embarazos. No se recogieron antecedentes de importancia (infecciones, inmunizaciones, antecedentes clínicos de sífilis). Doce pacientes habían sido tratadas como sifilíticas entre el cuarto y quinto mes de la gestación y el resto había sido enviada al Servicio de Venereología de la Unidad Sanitaria de Maracaibo para recibir tratamiento antisifilítico.

De las cien embarazadas VDRL reactivas, el 65 por ciento fueron FTA-ABS reactivas y el 35 por ciento FTA-ABS no reactivas (Tabla No. 1).

Las cincuenta embarazadas VDRL no reactivas tomadas como control de especificidad de la prueba, fueron FTA-ABS no reactivas.

Con respecto a las diluciones del VDRL encontramos que de las treinta y cinco pacientes FTA-ABS no reactivas, 20 (57.1 por ciento) tenían títulos de 0 dilución, trece (37,1 por ciento) tenían títulos de 2 diluciones y dos (5.8 por ciento) tenían títulos de 4 diluciones (Tabla No. 2).

Las 65 pacientes FTA-ABS reactivas tenían los siguientes títulos en el VDRL: diez pacientes (15.3 por ciento) tenían 0 dilución, trece pacientes (20 por ciento) tenían 2 diluciones y las cuarenta y siete restantes (64.7 por ciento) tenían títulos entre 4 y 128 diluciones. (Tabla No. 3).

No hubo ninguna relación entre abortos y madres FTA-ABS reactivas o no reactivas, ya que, el número de abortos fue casi igual en ambos grupos de pacientes. Con respecto a fetos muertos sí encontramos diferencias ya que no hubo ningún caso en las madres FTA-ABS no reactivas en cambio encontramos cuatro casos en las madres FTA-ABS reactivas. Los títulos del VDRL en estas pacientes fueron los siguientes: dos tenían sesenta y cuatro diluciones, una tenía 32 diluciones y la otra tenía 128 diluciones.

Todas las madres fueron clasificadas en la historia Obstétrica como sifilíticas latentes y todas recibieron tratamiento antisifilítico.

En las Tablas No. 4 y 5 aparecen los datos encontrados en el estudio de los doce recién nacidos: nueve nacieron de madres FTA-ABS reactivas y tres de madres FTA-ABS no reactivas. De los nueve casos de madres sifilíticas, tres mostraron sintomatología clínica compatible con sífilis congénita; de los nueve casos FTA-ABS reactivos sólo 7, fueron FTA-ABS (IgM) reactivos y estos 7 mostraron también valores elevados para IgM (gráfico No. 1). Todos los 7 pacientes dieron el FTA-ABS (IgM) reactivo: hasta dilución: 1:200.

DISCUSION

Se ha pensado que los anticuerpos reagínicos que aparecen en un paciente sifilítico son formados contra lípidos del huésped, liberados durante la destrucción de los tejidos por el *Treponema* o, formados contra antígenos lipoides que posee el ***Treponema pallidum***.

Los anticuerpos reagínicos aparecen también de manera inespecífica en una serie de condiciones entre ellas el embarazo, sin embargo el origen de tales anticuerpos todavía no se ha aclarado, a pesar de que se han encontrado sustancias similares a la cardiolipina en otros tejidos diferentes del músculo cardíaco y en algunas células bacterianas. Es probable entonces, que los anticuerpos reagínicos que aparecen en condiciones diferentes a la sífilis sean producidos contra lípidos liberados durante la destrucción normal de tejidos o, en procesos destructivos o, contra células bacterianas que posean antígenos similares a la cardiolipina.

Varios autores han estudiado el problema de las falsas reacciones biológicas positivas, los resultados encontrados han variado con cada autor, así: Fiumara (13) ha encontrado FBP en un 20 por ciento de los casos

estudiados; Tuffanelli (14) reporta que el 27.5 por ciento de sus FBP son embarazadas y Salo (15) reporta FBP en embarazadas en menos de 1 por 2.000.

En nuestro estudio sobre mujeres embarazadas encontramos un 35 por ciento de FBP. La variabilidad de estos resultados puede explicarse por la variación de factores dentro de las distintas poblaciones, es probable que factores climáticos, ambientales, de raza y otros, influyan en la producción de falsas reacciones. La multiparidad que encontramos en el 90 por ciento de nuestras pacientes, puede ser un factor contribuyente a la alta incidencia de falsas reacciones biológicas positivas que encontramos en nuestro estudio.

La prueba del FTA-ABS aplicada en el estudio de cien pacientes embarazadas, permitió hacer el diagnóstico de sífilis en sesenta y cinco de ellas (65 por ciento). La prueba se mostró no reactiva en las cincuenta embarazadas VDRL no reactivas.

La prueba del FTA-ABS (IgM) aplicada conjuntamente a la de FTA-ABS permitió hacer el diagnóstico de sífilis congénita en siete de los nueve recién nacidos de madres FTA-ABS reactivas.

Los dos recién nacidos FTA(ABS-IgM) no reactivos fueron hijos de madres que habían recibido tratamiento antisifilítico en los primeros cinco meses de la gestación, y se sabe que, tanto los anticuerpos para el VDRL como los anticuerpos para la prueba del FTA-ABS tardan un tiempo en desaparecer y que, en la mayoría de los casos los anticuerpos para el FTA-ABS pueden permanecer en el paciente durante toda la vida.

Tanto las madres FTA-ABS reactivas como las no reactivas recibieron tratamiento antisifilítico y fueron catalogadas como sifilíticas, este hecho determina que la incidencia de sífilis en la mujer embarazada sea superior a lo que realmente es, debido a que las no sifilíticas son consideradas sifilíticas.

De los resultados obtenidos en este trabajo, podemos concluir que:

- 1.- La incidencia de falsas reacciones positivas en nuestro estudio fue del 35 por ciento.
- 2.- El FTA-ABS es una prueba de gran ayuda y es específica para descartar falsas reacciones biológicas positivas.

- 3.- No toda embarazada VDRL reactiva debe ser considerada sífilítica
- 4.- No todo niño nacido de madre FTA-ABS reactiva es sífilítico.
- 5.- La prueba del FTA-ABS (IgM) es específica en el diagnóstico de sífilis congénita.

RESUMEN

Los autores luego de algunas consideraciones sobre el diagnóstico de sífilis en la mujer embarazada y recién nacidos, presentan los resultados de un estudio practicado en cien embarazadas en trabajo de parto con V.D.R.L. reactivo, a las cuales practicaron FTA-ABS, y en doce muestras de suero procedentes de recién nacidos de madres V.D.R.L. reactivas, a las cuales practicaron V.D.R.L., FTA-ABS, (IgM) y determinación cuantitativa de IgM.

En las madres embarazadas, el 65 por ciento fueron FTA-ABS reactivas y el 35 por ciento. FTA-ABS no reactivas, el control en cincuenta pacientes V.D.R.L. no reactivas fue 100 por ciento negativo para FTA-ABS. De los recién nacidos, nueve nacieron de madres FTA-ABS reactivas los cuales mostraron igual resultado al materno pero, sólo siete fueron FTA-ABS (IgM) reactivos, así como valores elevados para IgM.

TABLA No. 1

RESULTADO DEL FTA-ABS EN 100 PACIENTES EMBARAZADAS VDRL REACTIVAS

FTA-ABS	No. PACIENTES	PORCENTAJE
REACTIVAS	65	65 %
NO REACTIVAS	35	35 %
TOTAL	100	100

TABLA No. 2

**TITULOS DEL VDRL EN 35 EMBARAZADAS VDRL REACTIVAS
FTA-ABS NO REACTIVAS**

TITULOS	No. CASOS	PORCENTAJE
0 DIL	20	57.1
2 DIL	13	37.1
4 DIL	2	5.8
TOTAL	35	100 %

TABLA No. 3

**TITULOS DEL VDRL EN 65 EMBARAZADAS VDRL REACTIVAS
FTA-ABS REACTIVAS**

TITULO	No. CASOS	PORCENTAJE
0 DIL	10	15.3
2 DIL	13	20.0
4 DIL	18	27.5
8 DIL	7	10.7
16 DIL	6	9.2
32 DIL	8	12.5
64 DIL	2	3.3
128 DIL	1	1.5
TOTAL	65	100 %

TABLA No. 4

**HALLAZGOS CLINICOS Y SEROLOGICOS EN 12 RECIEN NACIDOS
DE MADRES VDRL REACTIVAS**

No. CASO	EDAD DEL NIÑO	HALLAZGOS CLINICOS	VDRL MATERNO	VDRL DEL NIÑO
1	3 días	NO	R: 2 dil	DR: 0 dil
2	2 días	NO	R: 2 dil	DR: 0 dil
3.	11 días	NO	DR: 0 dil	DR: 0 dil
4	1 día	NO	DR: 0 dil	DR: 0 dil
5	7 días	ESPLENOMEGALIA PERIOSTITIS	R: 32 dil	R: 4 dil
6	1 día	NO	R: 16 dil	R: 8 dil
7	7 días	PETEQUIAS, LESIONES DESCAMATIVAS DE MA- NOS Y PIES. HEPATOES- PLENOMEGALIA.	R: 4 dil	R: 8 dil
8	7 días	NO	DR: 0 dil	DR: 0 dil
9	4 días	ESPLENOMEGALIA	R: 2 dil	DR: 0 dil
10	3 días	NO	R: 2 dil	DR: 0 dil
11	7 días	NO	DR: 0 dil	DR: 0 dil
12	2 días	NO	DR: 0 dil	DR: 0 dil

NR= No reactivo

R = Reactivo

DR = Débil reactivo

Dil = Dilución

TABLA No. 5

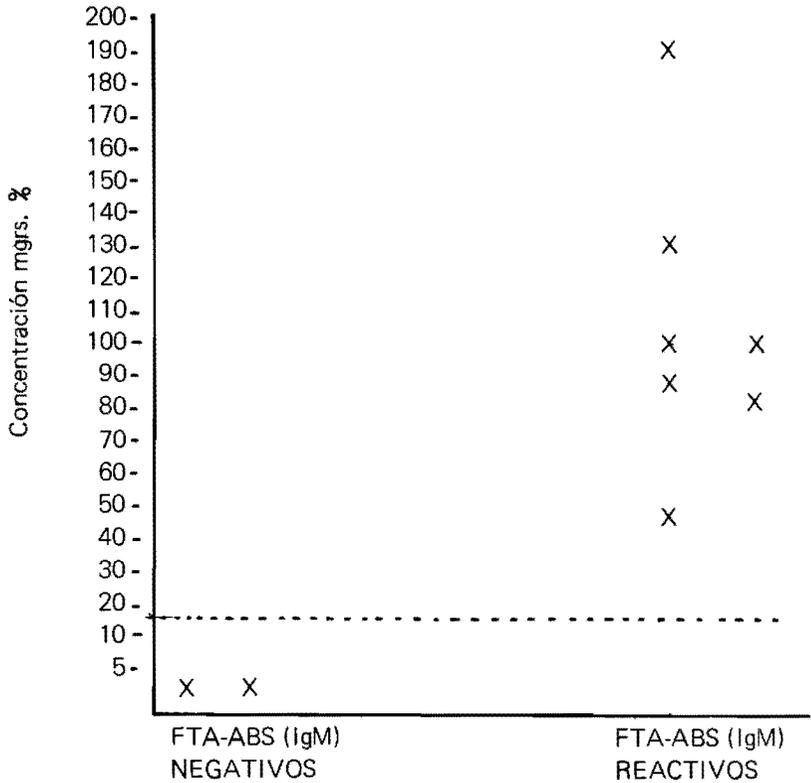
HALLAZGOS SEROLOGICOS Y VALORES DE IgM EN 12 RECIEN NACIDOS DE MADRES VDRL REACTIVAS

No. CASO	EDAD	VDRL		FTA - ABS		FTA-ABS (IgM)	IgM (cuantitativo)
		materno	Rn	materno	Rn		
1	3 días	2 Dil	0 dil	Neg.	Neg.	Neg.	7 mgrs %
2	2 días	2 Dil	0 dil	Neg.	Neg.	Neg.	5 mgrs %
3	11 días	0 Dil	0 Dil	Neg.	Neg.	Neg.	10 mgrs %
4	1 día	0 Dil	0 dil	+	+	Neg.	0 mgrs %
5	7 días	32 Dil	4 dil	+	+	+	100 mgrs %
6	1 día	16 Dil	8 dil	+	+	+	100 mgrs %
7	7 días	4 Dil	8 dil	+	+	+	190 mgrs %
8	7 días	0 Dil	0 dil	+	+	+	89 mgrs %
9	4 días	2 Dil	0 dil	+	+	+	130 mgrs %
10	3 días	2 Dil	0 dil	+	+	+	45 mgrs %
11	7 días	0 Dil	0 dil	+	+	+	90 mgrs %
12	2 días	0 Dil	0 dil	+	+	Neg.	0 mgrs %

NR = No reactivo Neg. = Negativo Dil = dilución Rn = Recién nacido.

GRAFICA No. 1

VALORES DE IgM IMMUNOGLOBULINA COMPARADOS CON LOS RESULTADOS DEL FTA-ABS (IgM) EN 9 RECIEN NACIDOS DE MADRES FTA-ABS REACTIVAS



REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1 CURTIS A. C., PHILPOLT O.S.: Prenatal Syphilis. M. Clin. North. America 48: 707, 1964.

2 MILLER J. L., Brodey M., Hill H.H.: Studies on significance of biologic false-positive reaction. JAMA. 164: 1461, 1957.

- 3 GROSSMAN A. B., PEERY T.: Biologically false-positive serologic test for syphilis due to small pox vaccination. *Amer. J. Clin. Path.* 51:375, 1969.
- 4 HASSERICK J. R., LONG R.: Systemic lupus erythematosus preceded by false-positive serologic test for syphilis: Presentation of five cases. *Ann. Int. Med.* 37:559, 1952.
- 5 SCHOFIELD C. B.: Serological test for syphilis in pregnancy. False and missed positive reactions. *BRIT. J. Vener. Dis.* 49: 420, 1973.
- 6 NELSON R. A., MAYER M.: Immobilization of *Treponema pallidum* in vitro by antibody produced by syphilitic infection. *J. Exp. Med.* 89:369, 1949.
- 7 HUNTER E. F., DEACON W. E.; MAYER P. E.: An improved FTA-test for syphilis, the absorption procedure (FTA-ABS) Public Health Report. 79:410, May 1964.
- 8 DEACON W. E., LUCAS J. B.: Fluorescent treponemal antibody-absorption (FTA-ABS) test for syphilis. *JAMA* 198:624, 1966.
- 9 ALFORD C. A., BLANKENSHIP W. J., CASSADY G.: The diagnostic significance of IgM globulin elevations in newborn infants with chronic intrauterine infection. (Birth Defect original article series) Edited by D. Bergsma. New York. The National Foundation Vol. 4 No. 7, December 1968.
- 10 SCOTTI A. T., LOGAN L.: Specific IgM antibody test in neonatal congenital syphilis. *J. Ped.* 73:242, 1968.
- 11 ALFORD C. A., POLT S. A., CASSADY G. E.: M fluorescent treponemal antibody in the diagnosis of congenital syphilis. *New Eng. J. Med.* 280:1086, 1969.
- 12 MANCINI G., CARBONARA A. D., HEREMANS J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry* 2: 235, 1965.
- 13 FIUMARA, N. J. Biologic false positive reaction for syphilis. *New Eng. J. Med.* 268: 402. 1963.
- 14 TUFFANELLI D. L., WUEPPER, K. D., BRADFORD, L. L. Fluorescent treponemal antibody absorption test: studies of false positive to test for syphilis *New Eng. J. Med.* 276: 258, 1967.
- 15 SALO O. P., AHO, K., NIEMINEN E. False positive serological test for syphilis in pregnancy. *Acta Dermatovener* 49:332, 1969.