



**PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL**
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



LUIZA FAVARO ZANCAN

**AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DO TESTE RÁPIDO TREPONÊMICO COMO
MÉTODO DIAGNÓSTICO CONFIRMATÓRIO PARA NEUROSSÍFILIS NO
LÍQUIDO CEFALORRAQUIDIANO**

RIBEIRÃO PRETO
2019



PROGRAMA DE APRIMORAMENTO
PROFISSIONAL
SECRETARIA DE ESTADO DA SAÚDE
COORDENADORIA DE RECURSOS HUMANOS



ZANCAN, LUIZA FAVARO

**AVALIAÇÃO DE DESEMPENHO DO TESTE RÁPIDO TREPONÊMICO COMO MÉTODO
DIAGNÓSTICO CONFIRMATÓRIO PARA NEUROSSÍFILIS NO LÍQUIDO
CEFALORAQUIDIANO**

Monografia apresentada ao Programa de Aprimoramento Profissional/CRH/SES-SP, elaborada no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo – USP/ Departamento DAM 3.2.2.1- Laboratório de Sorologia

Área: Setor Sorologia
Orientador(a): Prof. Dr. Roberto Martinez
Supervisor(a) Titular: Dr^a. Camila Marques de Andrade Nascimento Taveira

RIBEIRÃO PRETO
2019

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Tombo

Sysno

Dedico esta monografia aos meus pais

Agradecimentos

Primeiramente agradecer a Deus por esta oportunidade ímpar de estar, durante um ano, no hospital-referência do país. Onde o conhecimento, amadurecimento, crescimento e, principalmente, o amor e a humanidade foram ampliados. Histórias e experiências que são parte da minha trajetória.

Agradecer às pessoas maravilhosas do HCFMRP/USP, em especial ao laboratório de Sorologia- Bloco G, 1º andar. Obrigada pelo acolhimento, pelos puxões de orelha, pelos conhecimentos compartilhados, pela amizade, pelo companheirismo. Vocês sempre serão lembrados com muito carinho.

Agradecer ao Prof. Dr. Roberto Martinez e Dr^a Camila M. de Andrade N. Taveira, meus orientadores, pelos conhecimentos passados, correções, conselhos, paciência. Obrigada pelo acolhimento e por todo o incentivo para que este trabalho fosse concretizado, apresentado. Os senhores sempre serão lembrados tanto na carreira profissional como pessoal.

E um obrigado especial ao David Falango, e Tiago Alexandre Cocio por toda a atenção, correção, auxílio, pelos ensinamentos e apoio.

Agradecer aos meus pais, Selma e Carlos. Pelo carinho, apoio, incentivo, e por nunca terem soltado da minha mão. Obrigada por caminharem junto comigo, por todo o amor e por sempre confiarem na minha capacidade. Por ensinarem o valor da vida, da humildade, dedicação, respeito. Sempre por vocês. Eu amo vocês!

É MUITO MELHOR LANÇAR-SE EM BUSCA DE CONQUISTAS GRANDIOSAS, MESMO EXPONDO-SE AO FRACASSO, DO QUE ALINHAR-SE COM OS POBRES DE ESPÍRITO QUE, NEM GOZAM MUITO E NEM SOFREM MUITO, POIS VIVEM NUMA PENUMBRA CINZENTA, ONDE NÃO CONHECEM NEM VITÓRIA E NEM DERROTA.

(Theodore Roosevelt)

RESUMO

A sífilis é uma doença sexualmente transmissível (DST), cujo patógeno é a bactéria espiroqueta gram negativa *Treponema pallidum*, tendo como meio de transmissão a penetração desta por micro lesões nos órgãos reprodutores, e por modo congênito. Consiste em 3 fases: Sífilis primária, secundária e neurosífilis (terciária). Em 2016 foram notificados no Brasil 87.593 casos novos. Os materiais biológicos que podem ser usados para análise sorológica são: soro, plasma e líquido cefalorraquidiano (LCR). Os exames laboratoriais incluem a combinação de testes não treponêmicos, os quais são sensíveis, mas não são específicos, e testes treponêmicos, os quais são específicos e sensíveis. O fluxograma indicado pelo Ministério da Saúde é composto por teste não treponêmico confirmado com teste treponêmico, ou inversamente. Os testes não treponêmicos são RPR-corado e VDRL. Já os testes treponêmicos incluem o teste rápido treponêmico (TRT) para sífilis, disponível nos serviços de saúde do SUS e que apresenta como vantagens ser prático, de fácil execução e de rapidez no resultado. Entretanto, observou-se que, em amostras positivas de LCR, onde é realizado o teste não treponêmico, não há ainda, validação de uma metodologia confirmatória. Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o desempenho do teste rápido para sífilis como método confirmatório treponêmico para o diagnóstico de neurosífilis no LCR. Foram selecionadas amostras de LCR, sendo 20 com resultados negativos e 13 com hipótese diagnóstica de neurosífilis e resultados positivos no teste de RPR-corado. Todas as amostras foram testadas com TRT. As amostras positivas também tiveram o soro analisado através do RPR-corado e TRT, com resultados positivos em ambas metodologias. Das 13 amostras positivas no RPR corado, 13 apresentaram resultados positivos no TRT e, das 20 amostras negativas, todas as 20 mostraram resultados negativos com o TRT. Diante disso, o valor obtido para sensibilidade e especificidade foi de 100%, e os valores preditivos positivos e negativos iguais a 100%. Sendo assim, conclui-se que o TRT é útil para confirmar resultados obtidos no LCR com o teste não treponêmico, auxiliando, portanto, no diagnóstico de neurosífilis.

Palavras-chave: Líquido cefalorraquidiano. Sífilis. Teste Rápido Treponêmico

ABSTRACT

Syphilis is a sexually transmitted disease (STD), the pathogen of which is the gram-negative spirochete bacterium *Treponema pallidum*. The transmission medium is transmitted by micro-lesions in the reproductive organs and by congenital mode. It consists of 3 phases: primary syphilis, secondary and neurosyphilis (tertiary). In 2016, 87,593 new cases were reported in Brazil. The biological materials that can be used for analysis serologic are: serum, plasma and cerebrospinal fluid (CSF). Laboratory tests include the combination of non-treponemic tests, non-specific only sensitive, and treponemics, where they are specific and sensitive, the flowchart indicated by the Ministry of Health is composed of non-treponemic test confirmed with treponemal test, or inversely. Non-treponemics are RPR-stained and VDRL. On the other hand, treponemics include the rapid treponemal test (TRT) for syphilis, a test that is available in SUS health services, being practical, easy to perform and quick to achieve. However, it has been observed that, in positive CSF samples, where the non-treponemal test is performed, there is still no validation of a confirmatory methodology. Thus, the objective of this study was to evaluate the performance of the rapid test for syphilis as a confirmatory treponemal method for the diagnosis in the CSF of neurosyphilis. CSF samples were selected, 20 with negative results and 13 with neurosyphilis diagnostic hypothesis and positive results in the RPR-stained test. All samples were tested with TRT. The positive samples also had the serum analyzed through RPR-stained and TRT, with positive results in both methodologies. Of the 13 positive samples in the RPR stained, 13 presented positive results in the TRT and, of the 20 negative samples, all 20 showed negative results with the TRT. Therefore, the value obtained for sensitivity and specificity was 100%, and the positive and negative predictive values were equal to 100%. Therefore, it is concluded that the TRT is useful to confirm results obtained in the CSF with the non-treponemal test, thus helping in the diagnosis of neurosyphilis

Key-words: cerebrospinal fluid. Syphilis. Rapid Treponemal Test.

Sumário

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Sífilis	1
1.2. Agente etiológico da sífilis.....	2
1.4. Diagnóstico laboratorial da sífilis	3
1.4.1. Testes não treponêmicos	3
1.4.2. Testes treponêmicos	4
1.4.2.1. Teste Rápido Treponêmico	5
2. OBJETIVO	6
3. MATERIAIS E MÉTODOS	7
3.1. Seleção das amostras	7
3.2. Preparo das Amostras	7
3.3 Teste rápido Treponêmico no LCR	7
3.4. Teste não treponêmico	8
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	9
6. CONCLUSÃO	15
7. REFERÊNCIAS	16

1. INTRODUÇÃO

1.1. Sífilis

Sífilis é uma infecção sexualmente transmissível (IST) que ocorre por meio de relação sexual desprotegida (vaginal, anal e oral) e de forma vertical, denominada como sífilis congênita, através da gestação ou do parto (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

De acordo com o boletim epidemiológico do Ministério da Saúde de 2017, foram notificados 87.593 casos novos de sífilis adquirida e 20.474 casos novos de sífilis congênita no Brasil (Ministério da Saúde, 2017).

Esta doença apresenta formas clínicas e estágios divergentes como a sífilis primária, secundária, terciária e latente (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A forma clínica primária manifesta-se como uma úlcera, em órgãos de fácil penetração do agente, como por exemplo, o pênis, a vagina, o colo uterino, o ânus e a boca, por meio de solução de continuidade. Neste estágio clínico não há manifestação de dor, coceira, ardência ou formação de pus, mas ocorre a formação de cancro duro (ulceras), e de ínguas na virilha entre 10 e 90 dias após o contágio. A infecção primária pode manifestar-se entre 2 e 6 semanas após o contágio e desaparecer de forma espontânea, independentemente de tratamento. Nesta fase, os testes sorológicos são negativos ou positivos, com títulos baixos de anticorpos. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A Sífilis secundária manifesta-se com manchas no corpo, principalmente na palma das mãos e planta dos pés, e é confundida com alergia ou outras doenças com a mesma característica desta enfermidade. Entre 6 semanas e 6 meses após aparecimento da úlcera inicial, ocorre o desaparecimento espontâneo em poucas semanas, independentemente do período de tratamento. Neste estágio pode ocorrer a soroconversão, e os testes diagnósticos apresentam altos títulos de anticorpos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A manifestação terciária apresenta lesões cutâneas, ósseas, cardiovasculares e, principalmente, neurológicas, podendo levar à demência, e se não tratada, ao óbito. Pode surgir décadas após o início da infecção. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

A sífilis latente apresenta-se com períodos assintomáticos entre as formas clínicas citadas, e seu diagnóstico é realizado por testes imunológicos, não

treponêmicos e treponêmicos. Esta é dividida em recente (menos de 2 anos de infecção) e tardia (mais de 2 anos de infecção). Apesar da sífilis latente ser assintomática, podem surgir sintomas de sífilis secundária e/ou terciária. É necessário um histórico de relação sexual desprotegida e suspeita por parte do profissional de saúde para que haja a solicitação de exames diagnósticos nesse estágio (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

1.2. Agente etiológico da sífilis

O agente etiológico da sífilis é o *Treponema pallidum*, uma bactéria gram negativa, de micromorfologia espiralada, a qual auxilia nos movimentos característicos do microrganismo, facilitando a penetração nos tecidos do paciente (JEPSEN et al., 1968; HORVATH, 2011).

O médico Fritz Richard Schaudinn, da Prússia, isolou o *T. pallidum* pela primeira vez em 2 de fevereiro de 1905, na Academia Real Prussiana de Ciências, e denominando então, como *Spirochaetta pallida*. Porém, em 14 de outubro de 1905, o médico propôs a definição de gênero e espécie, definindo-o como *T. pallidum* (SOUZA, 2005).

A patogenicidade de *T. pallidum* é desencadeada pelos fatores de virulência, por exemplo, a adesão realizada por proteínas específicas denominadas adesinas; a forma espiroqueta e flagelos, uma membrana constituída por cardiolipina. Em relação ao hospedeiro, a manifestação no sistema imunológico dá-se pela imunidade humoral; os anticorpos específicos detectam o agente, porém não impedem a progressão da doença. Já a imunidade celular, ocorre pela hipersensibilidade tardia (SMAJS et al., 2012).

1.3. Líquido Cefalorraquidiano (LCR) e Neurosífilis

Commar e colaboradores (2009) definiram que o Líquido Cefalorraquidiano (LCR) é um fluido localizado entre as meninges, no espaço intracraniano, de coloração transparente, e tem como característica baixo teor de células e proteínas. A sua função é fornecer nutrientes, proteger as células cerebrais e atuar como amortecedor para córtex cerebral e medula espinhal.

O LCR é considerado um material biológico, onde a presença de anticorpos ou antígenos não é comum e por isso quando há suspeita da doença é realizada a punção na região lombar para diagnóstico de doenças neurais, como meningite,

neurossífilis, neurotoxoplasmose. A punção lombar é realizada entre a 3ª e a 5ª vértebra lombar, e são retirados três frascos estéreis sem anticoagulante, sendo 1 tubo para microbiologia, 1 para sorologia e 1 para bioquímica (DIMAS e SOHLER, 2008). O material coletado é enviado para o laboratório em até 30 minutos após a coleta, pois a amostra está propícia a ter alterações morfológicas das hemácias e leucócitos, diminuição da glicose, aumento da proliferação bacteriana e desnaturação proteica após duas horas da coleta. (MELO et al., 2003).

Nos casos de neurosífilis, a infecção manifesta-se espontaneamente e pode persistir como meningite sífilítica assintomática ou evoluir para formas sintomáticas da doença. Na fase inicial da doença, que ocorre entre 5 a 12 anos após a infecção primária da sífilis, as alterações patológicas estão limitadas à infiltração perivascular das meninges por linfócitos e plasmócitos, designando-se por sífilis meningovascular.

Com essa informação e estudos de Livramento (1977), infere-se que no LCR há um baixo teor proteico, devido a barreira hematoliquórica. Entretanto, nos casos de neurosífilis, há um aumento das imunoglobulinas passando pela barreira, tais como IgG, IgM e IgA, onde estas imunoglobulinas no LCR são produzidas no próprio sistema nervoso central em casos de neurosífilis. (LIVRAMENTO, 1977).

1.4. Diagnóstico laboratorial da sífilis

Para o diagnóstico da sífilis no soro existem os testes treponêmicos e os testes não treponêmicos.

Os testes não treponêmicos auxiliam na detecção de anticorpos denominados anti-cardiolipinas, os quais não são específicos para os antígenos do *T.pallidum*, sendo quatro os tipos disponíveis: VDRL, RPR-corado, USR e TRUST (LARSEN et al., 1998). Os testes treponêmicos, detectam anticorpos específicos para os antígenos do *T. pallidum*, sendo os mais utilizados o FTA-Abs, ELISA, quimioluminescência e mais recentemente o teste rápido treponêmico (LARSEN et al., 1998).

1.4.1. Testes não treponêmicos

Os testes não treponêmicos podem ser qualitativos ou quantitativos. O teste não treponêmico qualitativo indica somente a presença ou ausência de anticorpo

específico para o antígeno da sífilis na amostra. O quantitativo determina a titulação de anticorpos presente na amostra do paciente. A titulação de anticorpos é importante para auxiliar no diagnóstico e monitorar a resposta do paciente ao tratamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Seguindo as normas de diagnóstico de sífilis pelo ministério da saúde existem quatro tipos de testes: VDRL, RPR, USR e TRUST (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

O teste de VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) baseia-se em uma suspensão antigênica composta por uma solução alcoólica contendo cardiolipina, colesterol e lecitina purificada que utiliza soro inativado como amostra, cuja leitura deve ser realizada em microscópio. Já o RPR, o TRUST e o USR são modificações do VDRL que visam aumentar a estabilidade da suspensão antigênica, e permitir a leitura do resultado a olho nu (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Os componentes da suspensão antigênica (colesterol, lecitina e cardiolipina) ligam-se ao acaso resultando na formação de estruturas denominadas micelas. Os anticorpos não treponêmicos, chamados reaginas, quando presentes nas amostras, ligam-se às cardiolipinas das micelas. Estas ligações com várias micelas resultam em uma floculação. Nesses testes são detectados anticorpos IgM e IgG contra o material lipídico liberado pelas células danificadas em decorrência da sífilis e possivelmente contra a cardiolipina liberada pelos treponemas (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

Estes anticorpos não são produzidos exclusivamente em contato com o patógeno, por esta razão são denominados inespecíficos. Eles podem surgir em outros agravos que também levam a destruição celular, gerando resultados falso-positivos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

É fundamental ao realizar o teste qualitativo não treponêmico, que a amostra sempre seja testada pura e, concomitante com uma diluição 1:8, de importância para a visualização do efeito prozona. Este ocorre na fase secundária, onde o soro não diluído mostra-se não reagente, e o soro diluído 1/8 reage. Ocorre devido a desproporção na quantidade de antígenos e anticorpos (STEINER e RUDOLPH, 1995; LARSEN et al., 1998).

1.4.2. Testes treponêmicos

Para a realização do teste treponêmico, são utilizadas células lisadas de *T.pallidum* ou antígenos treponêmicos recombinantes que detectam os anticorpos

específicos (geralmente IgM e IgG) contra componentes celulares dos treponemas, e uma vez que o paciente teve contato com o antígeno, o teste treponêmico será positivo por toda a vida. Os testes treponêmicos realizados para confirmar o diagnóstico da sífilis, são FTA-Abs, ELISA e teste rápido treponêmico e seus resultados em geral são expressos de forma qualitativa. (LARSEN et al., 1998).

1.4.2.1. Teste Rápido Treponêmico

O teste rápido Treponêmico é um teste cujo princípio metodológico é de imunocromatografia de fluxo lateral, que permite detectar anticorpos IgG e IgM. Este teste utiliza antígenos do *T.pallidum* e um conjugado composto por antígenos recombinantes de *T.pallidum* que são ligados a um agente revelador (Abon, 2015).

No dispositivo do teste treponêmico há duas regiões, denominadas de “T” (Teste), que corresponde a área onde estão fixados os antígenos do *T. pallidum*, e outra denominada de “C” (Controle), que é o controle da reação. Quando anticorpos anti *T. pallidum* estão presentes na amostra, eles se ligam ao conjugado e migrarão cromatograficamente para a região “T”, revelando uma linha colorida. Desse modo, um teste considerado reagente é quando são visualizadas as linhas de “T” e do “C” da reação. O teste treponêmico é considerado negativo quando ocorre a visualização de uma única linha na região “C” (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2016).

2. OBJETIVO

Sabendo-se da importância do diagnóstico da neurosífilis, da necessidade de confirmação de um resultado positivo em teste não treponêmico com um teste treponêmico nas amostras de LCR, e que as imunoglobulinas IgG e IgM anti *Treponema pallidum* podem ser produzidas no sistema nervoso central, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desempenho de um teste rápido para sífilis, como método confirmatório treponêmico, para auxiliar o diagnóstico de neurosífilis no líquido cefalorraquidiano (LCR), uma vez que qualquer teste capaz de detectar anticorpos IgG e IgM específicos pode ser utilizado como teste confirmatório para o diagnóstico de neurosífilis.

Além disso, avaliamos a correspondência entre os resultados de RPR-corado em amostras já conhecidas e positivas de LCR e o teste rápido treponêmico.

O soro dos pacientes foi também examinado com ambos testes sorológicos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Seleção das amostras

No total, foram utilizadas 30 amostras, já dosadas, de pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão, obtidas nos períodos de 2016 até 2018, as quais estavam armazenadas a -20°C na soroteca do Laboratório de Sorologia.

A seleção das amostras de LCR baseou-se na hipótese diagnóstica dos pacientes como neurosífilis, selecionando-se também os resultados das amostras de soro dos respectivos pacientes, também já dosadas.

As amostras foram divididas em dois grupos: Grupo 1, contendo aquelas que apresentaram resultados negativos no LCR, pelo teste não treponêmico, composto por 15 amostras de LCR com os respectivos 15 resultados das amostras dos soros correspondentes; e Grupo 2, contendo aquelas que apresentaram resultados positivos no LCR, pelo teste não treponêmico, com diluição maior que 1/1, composto por 15 amostras de LCR com os respectivos 15 resultados das amostras dos soros correspondentes. Os soros das amostras dos dois grupos foram anteriormente analisados com o teste de RPR-corado (não treponêmico) e pelo teste rápido treponêmico quando positivos, também pelo método de Elisa.

3.2. Preparo das Amostras

Amostras de LCR foram anteriormente coletadas em tubos Vacuette[®], sem anticoagulante e sem gel separador para a realização dos testes e então armazenadas a -20°C, na soroteca do Laboratório de Sorologia. No momento do uso, as amostras de LCR foram descongeladas à temperatura ambiente para a realização do teste rápido treponêmico.

3.3 Teste rápido Treponêmico no LCR

É um teste imunocromatográfico, onde antígenos do *T. pallidum* e um conjugado composto por antígenos recombinantes do mesmo são ligados a um agente revelador.

Para a execução dos testes treponêmicos no LCR, foi utilizado o kit Syphilis Ultra Rapid Test Strip Abon[®] (Inverness Medical, Hong-Kong, China) (o mesmo

utilizado nas dosagens anteriores nos soros positivos), recomendado para amostras de sangue total, soro e plasma.

Para a realização do testes foram utilizadas 30 fitas, devidamente identificadas de acordo com os critérios do fabricante. Em cada uma das fitas, foram adicionados 25µL dos LCR dos respectivos pacientes, e 25µL do tampão “Wash Buffer”, parte do kit da Abon. As amostras foram incubadas nas fitas por 10 minutos a temperatura ambiente. Após esse período foram realizadas as leituras sendo considerados negativos os resultados que apresentaram somente leitura da área Controle e positivos os resultados que apresentaram leitura das áreas Controle e Teste.

3.4. Teste não treponêmico

A execução anterior dos testes não treponêmicos, no soro e no LCR, foi utilizado anteriormente o kit RPR-corado Laborclin. Para isso, foram utilizadas placas de Klyne[®] 60x80cm com 12 escavações (Perfecta, São Paulo, Brasil). Para as dosagens no soro foram pipetados 50µL das amostras puras e 22µL da suspensão antigênica de RPR-corado contendo o corante vermelho de toluidina, presente no kit, submetidos a agitação por 8 minutos. As leituras dos resultados foram feitas macroscopicamente, sendo consideradas negativas as amostras que não apresentaram floculação e positivas as amostras que apresentaram qualquer grau de floculação. Concomitantemente, nas amostras de soros foram realizadas em outra placa de Kline[®] as diluições a 1/8 com solução salina a 0,9% para possível visualização do efeito prozona. Para as amostras consideradas positivas, foram realizadas novas diluições a partir de 1/2 também com solução salina a 0,9% em placa de Kline[®].

Para as dosagens anteriores no LCR, preparou-se uma suspensão antigênica com 50% de solução salina a 10% e 50% da suspensão antigênica de RPR-corado contendo o corante vermelho de toluidina. A suspensão foi homogeneizada suavemente por rotação durante 5 minutos. Em seguida, em uma placa de Kline[®], foram adicionados 50µL das amostras de LCR, e 22µL da suspensão antigênica acima referida, submetidos a agitação durante 8 minutos.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dentre as amostras testadas com hipótese diagnóstica para neurosífilis e com resultados positivos, houve prevalência de 73,33% (11) do sexo masculino, com idade média de 47 anos. Dentre as 4 mulheres com hipóteses diagnósticas para neurosífilis e resultados positivos, a média de idade foi de 57 anos, sendo que 60% dos pacientes testados e com resultados positivos têm idade acima de 50 anos, sugerindo que a sífilis também vem sendo adquirida por pessoas idosas. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Neurosífilis e outras infecções do sistema nervoso central podem ser detectadas por meio de anticorpos IgG e IgM no LCR particularmente se produzida localmente.

Os kits utilizados no presente trabalho têm sua utilização recomendada para dosagens em amostras de plasma e soro, e os reagentes capazes de detectar tanto as imunoglobulinas do tipo IGM quanto as do tipo IGG. Dessa maneira, infere-se que possam ser utilizados para a testagem de amostras de LCR.

Neste estudo, dos 15 pacientes com resultados negativos no soro com o teste não treponêmico (RPR-corado), as testagens das amostras de LCR apresentaram resultados também negativos para todos os 15 pacientes, tanto no RPR-corado quanto no teste rápido treponêmico. (Figura 1 e tabela 1)

Dos 15 pacientes com hipótese diagnóstica para neurosífilis, todos os 15 possuíam resultados positivos no soro tanto com o teste não treponêmico (RPR-corado) quanto com o teste rápido treponêmico. As testagens das amostras de LCR apresentaram resultados positivos para todos os 15 pacientes tanto no RPR-corado quanto no teste rápido treponêmico. (Figura 2 e tabela 2).

Dessa maneira, de acordo com os resultados obtidos, podemos afirmar que amostras de LCR podem ser testadas utilizando-se tanto o RPR-corado quanto o teste rápido treponêmico.

NEGATIVA



FIGURA 1
Fonte: autoria própria

POSITIVA



FIGURA 2
Fonte: autoria própria

TABELA 1 - Resultados do Teste Rápido Treponêmico obtidos nas amostras previamente negativas com o teste RPR-corado, apresentando os dados obtidos no soro e no líquido, além da faixa etária, sexo e hipótese diagnóstica dos pacientes.

Amostras Negativas	Sexo		Idade (anos)	Título		Hipótese diagnóstica	Teste Rápido	
	Masculino	Feminino		Soro	Líquor		Positivo	Negativo
1	-	SIM	60	-	-	Neurossífilis	-	SIM
2	-	SIM	55	-	-	Neurossífilis	-	SIM
3	SIM	-	58	-	-	Neurossífilis	-	SIM
4	SIM	-	31	-	-	Sífilis ocular	-	SIM
5	SIM	-	35	-	-	Neurossífilis	-	SIM
6	SIM	-	53	-	-	Neurossífilis	-	SIM
7	SIM	-	39	-	-	Neurossífilis	-	SIM
8	SIM	-	28	-	-	Neurossífilis	-	SIM
9	-	SIM	68	-	-	Neurossífilis	-	SIM
10	-	SIM	77	-	-	Neurossífilis	-	SIM
11	-	SIM	28	-	-	Neurossífilis	-	SIM
12	-	SIM	60	-	-	Neurossífilis	-	SIM
13	SIM	-	18	-	-	Neurossífilis	-	SIM
14	SIM	-	21	-	-	Neurossífilis	-	SIM
15	SIM	-	26	-	-	Sífilis	-	SIM

TABELA 2 – Resultados do Teste Rápido Treponêmico obtidos nas amostras previamente positivas com o teste RPR-corado, apresentando os dados obtidos no soro e no líquido, além da faixa etária, sexo e hipótese diagnóstica dos pacientes.

Amostras positivas	Sexo		Idade (anos)	Título		Hipótese diagnóstica	Teste Rápido	
	Masculino	Feminino		Soro	Líquor		Positivo	Negativo
1	SIM	-	58	1/16	1/4	Neurossífilis	Sim	-
2	SIM	-	59	1/8	1/2	Neurossífilis	Sim	-
3	SIM	-	58	1/2	1/1	Neurossífilis	Sim	-
4	SIM	-	58	1/8	1/2	Sífilis ocular	Sim	-
5	SIM	-	35	1/128	1/1	Neurossífilis	Sim	-
6	SIM	-	53	1/32	1/4	Neurossífilis	Sim	-
7	SIM	-	39	1/32	1/8	Neurossífilis	Sim	-
8	SIM	-	28	1/256	1/4	Neurossífilis	Sim	-
9	-	SIM	73	1/128	1/4	Neurossífilis	Sim	-
10	-	SIM	77	1/256	1/4	Neurossífilis	Sim	-
11	-	SIM	28	1/64	1/2	Neurossífilis	Sim	-
12	-	SIM	50	1/128	1/4	Neurossífilis	Sim	-
13	SIM	-	79	1/512	1/1	Neurossífilis	Sim	-
14	SIM	-	21	1/128	1/1	Neurossífilis	Sim	-
15	SIM	-	30	1/32	1/2	Sífilis	Sim	-

A justificativa do fabricante Laborclin para a não recomendação do kit RPR-corado para detecção de anticorpos não treponêmicos no LCR é devido à

dificuldade de visualização da floculação a olho nu, e, conseqüentemente, difícil leitura, recomendando para as dosagens no LCR, o kit RPR BRÁS, cuja leitura é realizada em microscópio. Entretanto, neste estudo, não encontramos esta dificuldade de leitura, destacada pelo fabricante, ressaltando a pequena quantidade de amostras, que também foram pré-selecionadas de acordo com resultados prévios como RPR-corado e com hipótese diagnóstica.

Neste estudo, encontramos que em amostras de LCR, mesmo os resultados com positividade no RPR-corado apenas na diluição 1/1, apresentaram resultados positivos no teste rápido treponêmico, segundo a tabela 2, onde constam os dados das amostras. Isto sugere que baixos títulos, considerados falso-positivos em amostras de soro, examinadas com RPR-corado são viáveis em se tratando de LCR.

Em adição, os resultados demonstraram que, tanto o kit RPR-corado, e do teste rápido treponêmico, apresentaram resultados das dosagens no LCR concordantes com as amostras de soro, e com a hipótese diagnóstica, confirmando, assim tanto a possibilidade de utilização dos kits RPR-corado e teste rápido treponêmico, para o exame de LCR.

Dessa maneira, de acordo com as fórmulas de especificidade, sensibilidade, valor preditivo positivo e valor preditivo negativo, expostas a seguir, foram realizados os respectivos cálculos que apresentaram valores de 100% para especificidade, 100% para sensibilidade, 100% para valores preditivos positivos e 100% para valores preditivos negativos.

Abon TESTE RÁPIDO TREPONÊMICO	Acurácia Diagnóstica (Pacientes positivos e negativos para ensaio RPR-CORADO)		Total
	Positivo	Negativo	
Positivo	15	0	15
Negativo	0	15	15
Total	15	15	30

Sensibilidade = $100 \times \text{Verdadeiro Positivo} / (\text{Verdadeiro Positivo} + \text{Falso Negativo})$

Sensibilidade = $100 \times (15 / (15 + 0))$

Sensibilidade = 100×1

Sensibilidade = 100%

Especificidade = $100 \times \text{Verdadeiro Negativo} / (\text{Falso Positivo} + \text{Verdadeiro Negativo})$

Especificidade = $100 \times (15 / (0 + 15))$

Especificidade = 100×1

Especificidade = 100%

Valor Preditivo Positivo (VPP)

VPP = $100 \times \text{Verdadeiro Positivo} / (\text{Verdadeiro Positivo} + \text{Falso Positivo})$

VPP = $100 \times 15 / (15 + 0)$

VPP = 100×1

VPP = 100%

Valor Preditivo Negativo (VPN)

VPN = $100 \times \text{Verdadeiro Negativo} / (\text{Verdadeiro Negativo} + \text{Falso Negativo})$

VPN = $100 \times 15 / (15 + 0)$

VPN = 100×1

VPN = 100%

TABELA 3 – Resultados de Sensibilidade, Especificidade, VPP e VPN obtidos com a comparação do teste RPR-corado com o Teste rápido treponêmico.

	Resultado	Aceitabilidade
Sensibilidade	100%	Aceitável
Especificidade	100%	Aceitável
Valor Preditivo Positivo	100%	Aceitável

Valor Preditivo Negativo	100%	Aceitável
--------------------------	------	-----------

6. CONCLUSÃO

O teste rápido treponêmico apresentou desempenho satisfatório, com 100% de sensibilidade e de especificidade, em amostras de LCR, apresentando VPP e VPN também de 100%, sendo capaz de detectar os anticorpos específicos mesmo em baixas diluições positivas no RPR-corado. Dessa maneira, podemos concluir que o Teste Rápido Treponêmico pode ser utilizado como um método confirmatório treponêmico para amostras de LCR, auxiliando na confirmação da hipótese diagnóstica de neurosífilis.

7. REFERÊNCIAS

1. MINISTÉRIO DA SAÚDE. MINISTÉRIO DA SAÚDE SIFILIS SPOT. 2015. Disponível em: < <http://portalarquivos.saude.gov.br/campanhas/sifilis/>>. Acesso em: 29 jan. 2019.
2. MINISTÉRIO DA SAÚDE. BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO – SÍFILIS. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. 2017. Disponível em: < <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/novembro/13/BE-2017-038-Boletim-Sifilis-11-2017-publicacao-.pdf> >. Acesso em: 29 jan. 2019.
3. JEPSEN, O.B.; HOUGEN, K.H.; BIKCH-ANDERSEN, A. Electron microscopy of *Treponema pallidum* nichols. **Acta Pathologica Microbiologica Scandinavica**, v.74, n.2, p.241-258, 1968.
4. HORVÁTH, A. Biology and Natural History of Syphilis. **Sexually Transmitted Infections and Sexually Transmitted Diseases**, p.129-141, 2011.
5. SOUZA, E. M. Há 100 anos, a descoberta do *Treponema pallidum*. **An Bras Dermatol**, v. 80, n. 5, p. 547-548, 2005.
6. ŠMAJS, D.; NORRIS, S. J.; WEINSTOCK, G. M. Genetic diversity in *Treponema pallidum*: implications for pathogenesis, evolution and molecular diagnostics of syphilis and yaws. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 12, n. 2, p. 191-202, 2012.

7. COMAR, S. R. et al. Análise citológica do líquido cefalorraquidiano. **Estudos de Biologia**, v. 31, n. 73/75, 2009.
8. DIMAS, L. F.; PUCCIONI-SOHLER, M. Exame do líquido cefalorraquidiano: influência da temperatura, tempo e preparo da amostra na estabilidade analítica. **J Bras Patol Med Lab**, v. 44, n. 2, p. 97-106, 2008.
9. MELO, C.L.; MARTINS, A.M.C; MARTINS, R.D.; QUEIROZ, M.G.R. Análise laboratorial do líquido cefalorraquidiano. **RBAC**. 2003;35(3):109-12.
10. LIVRAMENTO; J.A. Imunoglobulinas que atravessam a barreira hematoliquórica. **SCIELO**. 1977
11. MANUAL TÉCNICO PARA DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS, 2016. Disponível em: <https://www.pncq.org.br/uploads/2016/Qualinews/Manual_T%C3%A9cnico_para_o_Diagn%C3%B3stico_da_S%C3%ADfilis%20MS.pdf>. Acesso em: 29 jan. 2019.
12. LARSEN, S. A. et al. A manual of tests for syphilis. Washington: **APHA**, 1998. 361 p.
13. STEINER, B. M.; RUDOLPH, A. H. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. **Clinical Microbiology Reviews**, [S.l.], v. 8, n. 1, p. 1-21, Jan. 1995.
14. Laborclin. 2015
15. Abon 2015