

Εργαστηριακή Διάγνωση της Σύφιλης



Ε. Παπαδογεωργάκη

- Η Σύφιλη είναι λοιμώδης νόσος χρόνιας διαδρομής με ποικιλία συστηματικών εκδηλώσεων. Χαρακτηριστικό της νόσου είναι οι μεγάλες λανθάνουσες περιόδους υποκλινικής νόσησης

- Οφείλεται στο *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*
- Τάξη : Spirochaetales
- Οικογένεια : Spirochaetaceae
- Γένος : *Treponema*
- Είδος : - *T.pallidum* υποείδος *pallidum* → Σύφιλη
 - *T.pallidum* υποείδος *endemicum* →
Ενδημική Σύφιλη
 - *T.pallidum* υποείδος *pertenue* → Yaws
 - *T.pallidum* υποείδος *carateum* → Pinta

Χαρακτηριστικά του *T. pallidum* subsp. *pallidum*

- Σπειροειδές με 6 -14 κανονικές βαθειές σπείρες
- Διάμετρος 0.18 μm , μήκος 6 - 20 μm
- Μαστίγια στα δύο άκρα και σε όλο το μήκος του περιπλασματικού χώρου \rightarrow κίνηση γρήγορη γύρω από τον άξονά του
- Δεν καλλιεργείται in vitro
- Σταθερό γονιδίωμα
- Ελάχιστα γονίδια συμμετέχουν στη βιοσύνθεση θρεπτικών στοιχείων

Μετάδοση

Οριζόντια (επίκτητη σύφιλη)

- με την σεξουαλική επαφή
- με επαφή με ενεργείς βλάβες της στοματικής κοιλότητας και της περιγεννητικής χώρας
- με λάθος χειρισμό μολυσματικού υλικού

Κάθετα (συγγενής σύφιλη)

- μέσω του πλακούντα από την έγκυο στο νεογνό

Ταξινόμηση επίκτητης σύφιλης

● Πρώιμη

- Πρώτο στάδιο
- Δεύτερο στάδιο
- Πρώιμη λανθάνουσα περίοδος

} 2 χρόνια

● Όψιμη

- Όψιμη λανθάνουσα περίοδος
- Τρίτο στάδιο
 - α. Κομμωματώδης
 - β. Καρδιαγγειακή
 - γ. Νευροσύφιλη

Ταξινόμηση επίκτητης σύφιλης

- Έλκος → σιωπηρή περίοδος 2 – 10 εβδομάδων → δεύτερο στάδιο με ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις 4 – 12 εβδομάδων μέχρι την ύφεση των συμπτωμάτων → λανθάνουσα περίοδος χωρίς κλινικά συμπτώματα. Όλοι οι ασθενείς σε λανθάνουσα περίοδο δεν εξελίσσονται κατά τον ίδιο τρόπο
- 35% των ασθενών σε όψιμη λανθάνουσα → τρίτο στάδιο
- Οι υπόλοιποι παραμένουν σε όψιμη λανθάνουσα εφ' όρου ζωής χωρίς κλινικά συμπτώματα

Κλινική εικόνα

- ⦿ Ανώδυνο μονήρες έλκος που ορορροεί σε σκληρή βάση με σύστοιχη λεμφαδενίτιδα
- ⦿ Άτυπες ρυπαρές πολλαπλές επώδυνες βλάβες
- ⦿ Συφιλιδική βαλανίτιδα του Follmann
- ⦿ Χρόνος επώασης 2 έως 10 εβδομάδες

Εργαστηριακή διάγνωση της σύφιλης

- ⦿ Αναζήτηση του τρεπονήματος στις βλάβες του δέρματος, των βλεννογόνων ή των διογκωμένων συστοίχων λεμφαδένων
- ⦿ Προσδιορισμός τρεπονημικών και μη τρεπονημικών αντισωμάτων στον ορό και το ΕΝΥ του ασθενούς

Αναζήτηση του τρεπονήματος στις βλάβες δέρματος, βλεννογόνων ή λεμφαδένων

- ⦿ Μικροσκόπηση σε σκοτεινό οπτικό πεδίο
- ⦿ Άμεσος ανοσοφθορισμός σε :
 - υλικό από την βλάβη
 - ιστούς
- ⦿ Ανοσοϊστοχημεία
- ⦿ Εφαρμογή PCR ή Real Time - PCR

Μικροσκόπηση σε σκοτεινό οπτικό πεδίο

- ⦿ Αποκαλύπτει την χαρακτηριστική κίνηση
- ⦿ Εντός 20 min από τη λήψη
- ⦿ Προσοχή στις προσμίξεις ερυθρών αιμοσφαιρίων και υπολειμμάτων ιστών
- ⦿ Προσοχή στον τοπικό καθαρισμό
- ⦿ Συστηματική μικροσκόπηση και εμπειρία

Μικροσκόπηση σε σκοτεινό οπτικό πεδίο

- Η ανεύρεση του τρεπονήματος **επιτρέπει** την άμεση διάγνωση. Διαφοροδιάγνωση από σαπροφυτικά τρεπονήματα. Ευαισθησία 80%
- Το αρνητικό παρασκεύασμα **δεν αποκλείει** την διάγνωση
- **Ψευδώς αρνητικό** παρασκεύασμα :
 - μικρή ποσότητα τρεπονημάτων στο δείγμα
 - αρχόμενη επούλωση της βλάβης
 - παρουσία ερυθρών, ιστών, φυσαλλίδων αέρος

Μορφολογία τρεπωναδίων

Παθογόνο αίτιο	Εντόπιση	Αριθμός σπειρών	Μήκος (μm)	Βάθος σπειρών (μm)	Κίνηση
<i>T. pallidum</i> subsp <i>pallidum</i>	Δέρμα Βλεννογόνοι	6-14	6-20	0,5 – 0,07 Βαθειές	Δίκην τριμπουσόν γρήγορη, μπορεί να κινείται χωρίς να αλλάζει θέση.
<i>T. refringens</i>	Βλεννογόνος γεννητικών οργάνων	2-3	5-8	0,4 – 0,6 Αβαθείς	Πολύ γρήγορη ώστε φαίνεται ευθεία.
<i>T. phagedenis</i>	Βλεννογόνος γεννητικών οργάνων	10-12	10-12	0,4 – 0,6 Αβαθείς	Αργή
<i>T. denticola</i>	Στοματικός βλεννογόνος	6-8	6-16	0,4 – 0,6 Βαθειές	Αργή έως γρήγορη

Μικροσκόπηση σε σκοτεινό οπτικό πεδίο



Άμεσος ανοσοφθορισμός (DFA – Tr)

- ⦿ Δεν προϋποθέτει ζώντα τρεπονήματα
- ⦿ Χρησιμοποιεί μονοκλωνικά αντισώματα
- ⦿ Ενδείκνυται για βλάβες της στοματικής κοιλότητας και της περιπρωκτικής χώρας
- ⦿ Επί προσφάτων βλαβών ευαισθησία 100%



Άμεσος ανοσοφθορισμός (DFAT – Tr) και Ανοσοϊστοχημεία (IHC)

- ⦿ Χρησιμοποιούνται σε παρασκευάσματα ιστών βλαβών δέρματος, ομφαλίου λώρου, πλακούντα, εγκεφάλου, γατρεντερικού σωλήνα
- ⦿ Διάγνωση όψιμης λανθάνουσας σύφιλης ενηλίκων, όψιμης συγγενούς σύφιλης, σε υπό επούλωση βλάβες

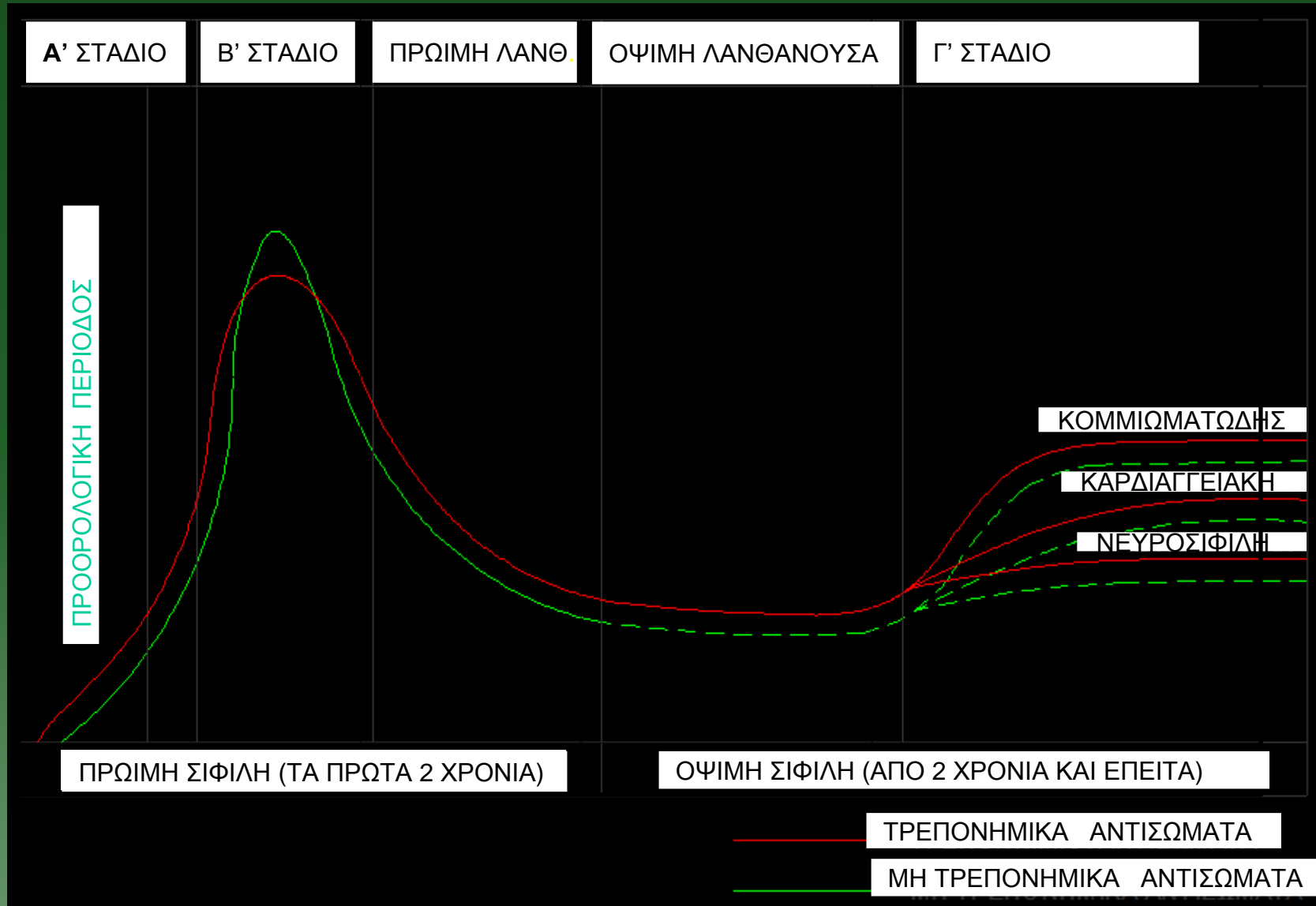
Ανοσιακή απάντηση

- ⦿ Αναπτύσσονται
 - Μη ειδικά μη τρεπονημικά αντισώματα
 - Τρεπονημικά αντισώματα
- ⦿ Δεν προστατεύουν από την αναμόλυνση

Προσδιορισμός αντισωμάτων

- Οροαρνητικό παράθυρο 30 - 35 ημερών από την μόλυνση
- Συμβάλλουν στη διάγνωση των σταδίων της νόσου
- Οι μη τρεπονημικές μέθοδοι είναι απαραίτητες και για την θεραπευτική παρακολούθηση του ασθενούς

Προσδιορισμός Αντισωμάτων κατά την Φυσική Πορεία της Σύφιλης



Μη τρεπονημικές αντιδράσεις

- ◎ **VDRL*** (**V**enereal **D**isease **R**esearch **L**aboratory)
- ◎ **RPR** (**R**apid **P**lasma **R**eagin)
- ◎ **USR** * (**U**nheated **S**erum **R**eagin)
- ◎ **TRUST** (**T**oluidin **R**ead **U**nheated **S**erum **T**est)

- ◎ Χρησιμοποιούν ως αντιγόνο σύμπλεγμα καρδιολιπίνης
- ◎ Είναι όλες κροκυδοαντιδράσεις
- ◎ Ποιοτικές και ποσοτικές

* Μικροσκοπικές (X 10)

Μη τρεπονημικές αντιδράσεις

- ⦿ Εύκολες στην εκτέλεσή τους για μεγάλο αριθμό δειγμάτων
- ⦿ Αρνητικές στην πολύ πρώιμη επίκτητη σύφιλη
- ⦿ Θετικοποιούνται εντός δύο (2) εβδομάδων από την εμφάνιση του έλκους και σε 4 – 6 εβδομάδες από την ημέρα της μόλυνσης

Μη τρεπονημικές αντιδράσεις – ασθενής χωρίς θεραπεία

- ⊙ Θετικοποιούνται εντός δύο εβδομάδων από την μόλυνση
- ⊙ Υψηλός τίτλος (1/512) στο δεύτερο στάδιο
- ⊙ Θετικές σε χαμηλούς τίτλους (1/16) στην πρώιμη λανθάνουσα
- ⊙ Όψιμη λανθάνουσα , τρίτο στάδιο : ποικίλη ευαισθησία
- ⊙ Κομμωματώδης μορφή : θετικές
- ⊙ Καρδιαγγειακή και νευροσύφιλη : πιθανόν αρνητικές

Μη τρεπονημικές αντιδράσεις – ασθενής υπό θεραπεία

- Εάν η θεραπεία αρχίσει πριν την θετικοποίησή τους → ουδέποτε θετικοποιούνται
- Εάν η θεραπεία αρχίσει στο τέλος του πρώτου σταδίου → αρνητικοποιούνται εντός του πρώτου έτους
- Εάν η θεραπεία αρχίσει στο δεύτερο στάδιο → αρνητικοποιούνται εντός δύο ετών
- Λανθάνουσα, τρίτο στάδιο: δύσκολα αρνητικοποιούνται
- Αύξηση τίτλου κατά 4 ή περισσότερες φορές μετά την θεραπεία → υποτροπή ή αναμόλυνση ή αποτυχία θεραπείας

Τρεπονημικές αντιδράσεις

- ◉ **FTA – Abs**(Fluorescent Treponemal Antibody **A**bsorption)
- ◉ **FTA - Abs – DS** (Fluorescent Treponemal Antibody **A**bsorption **D**ouble **S**taining)
- ◉ **EIA IgG** και **IgM**
- ◉ **TPHA** (Treponema **P**allidum **H**aemagglutination **A**ssay)
- ◉ **MHA – TP**(**M**icro **H**aemagglutination **A**ssay for antibodies to Treponema **P**allidum)
- ◉ **TPPA** (Treponema **P**allidum **P**article **A**gglutination test)

Χρησιμοποιούν αντιγόνο που παράγεται είτε μετά από πειραματική λοίμωξη πειραματοζώων με το παθογόνο στέλεχος Nichols είτε ως ανασυνδυασμένο

Τρεπονημικές αντιδράσεις

- Επιβεβαιώνουν ή αποκλείουν τα αποτελέσματα των μη τρεπονημικών αντιδράσεων
- Καθορίζουν την διάγνωση στην όψιμη λανθάνουσα και το τρίτο στάδιο
- Δεν επηρεάζονται από την θεραπεία
- Παραμένουν εφ'όρου ζωής θετικές ανεξάρτητα από τη δραστηριότητα της νόσου

Ψευδώς θετικές αντιδράσεις των ορολογικών μεθόδων (I)

Νόσος	Μη τρεπτονημικές	Τρεπτονημικές
Αυτοάνοσα	Ναι	Ναι
Ελονοσία	Ναι	Όχι
Πρόσφατοι εμβολιασμοί	Ναι	Όχι
Δερματοπάθειες	Ναι	Ναι
Καρδιαγγειακές παθήσεις	Ναι	Ναι
Φυματίωση	Ναι	Όχι
Λέπρα	Ναι	Όχι
Ενδοφλέβια χρήση ναρκωτικών	Ναι	Όχι
Ιώσεις		

Ψευδώς θετικές αντιδράσεις των ορολογικών μεθόδων (II)

Νόσος	Μη τρεπτονημικές	Τρεπτονημικές
Εγκυμοσύνη	Ναι	Όχι
HIV λοίμωξη	Ναι	Όχι
Άλλα STD	Ναι	Όχι
Μεγάλη ηλικία	Όχι	Ναι
Πολλαπλές μεταγγίσεις	Ναι	Όχι
Νόσος Lyme	Όχι	Ναι
Ενδημικές τρεπτονηματώσεις	Ναι	Ναι
Τεχνικά σφάλματα	Ναι	Ναι

Ευαισθησία και ειδικότητα των ορολογικών αντιδράσεων

Είδος	Ευαισθησία (%)				Ειδικότητα (%)
	Πρώτο στάδιο	Δεύτερο στάδιο	Πρώιμη Λανθάνουσα	Ώσιμη	
Μη τρεπνημικές VDRL RPR card USR TRUST	78 (74-87)	100	95 (88-100)	71 (37-94)	98 (96-99)
	86 (77-100)	100	98 (95-100)	73	98 (93-99)
	80 (72-88)	100	95 (88-100)		99
	85 (77-86)	100	98 (95-100)		99 (98-99)
Τρεπνημικές FTA-ABS FTA-ABS-DS TP-PA IgG ΕΑ	84 (70-100)	100	100	96	97 (94-100)
	80 (69-90)	100	100		98 (97-100)
	88 (86-100)	100	100		96 (95-100)
	92 (88-97)	100	99 (96-100)	100	99 (98-100)

Συγγενής Σύφιλη

- ⦿ Προκύπτει σε οποιαδήποτε στιγμή της εγκυμοσύνης με κάθετη μετάδοση
- ⦿ Κάθετη μετάδοση σε έγκυες χωρίς θεραπεία* :
 - 70 – 100 % στο πρώτο στάδιο
 - 67% στο δεύτερο στάδιο
 - 40 – 80% στην πρώιμη λανθάνουσα
 - 10% στην όψιμη λανθάνουσα

*Hollier LM et al: Obstet Gynecol 2001; 97: 947 - 953

Συγγενής Σύφιλη

- 60% των νεογνών είναι ασυμπτωματικά
- Διάγνωση στηρίζεται στα :
 - ιστορικό της μητέρας
 - τρεπτονημικές και μη τρεπτονημικές αντιδράσεις μητέρας και νεογνού
 - κλινικά και ακτινολογικά ευρήματα νεογνού
 - άμεση μικροσκοπική εξέταση στο ρινικό έκκριμα νεογνού

Συγγενής Σύφιλη

- Τα τρεπονημικά και μη τρεπονημικά IgG αντισώματα διέρχονται τον πλακούντα
- Αξιολογείται μόνον ο τετραπλάσιος τίτλος αντισωμάτων στον ορό του νεογνού σε σχέση με την μητέρα
- Ο προσδιορισμός ποτέ στο αίμα ομφαλίου λώρου
- IgM αντισώματα στον ορό του νεογνού* → λοίμωξη
- Προσδιορισμός VDRL, λευκώματος και λευκών στο ENY
- Δείκτες θεραπείας : VDRL ορού και ENY

*FTA- Abs IgM, EIA IgM, Immunoblot IgM

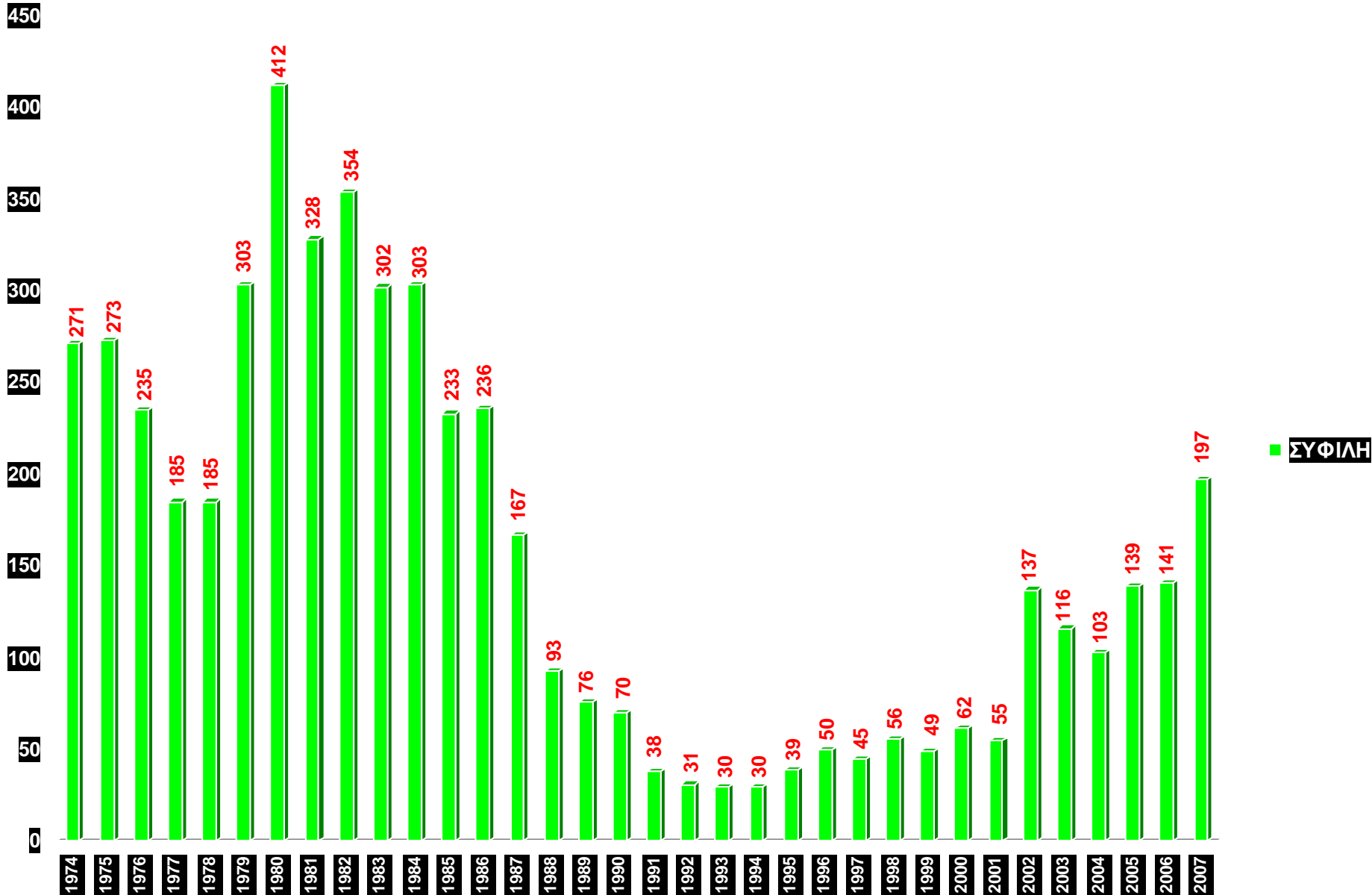
Συγγενής Σύφιλη – Παρακολούθηση νεογνού

- VDRL κάθε 2 – 3 μήνες
- Ελαττούται στο 1^ο τρίμηνο, αρνητικοποιείται στους 6 μήνες
- Τίτλος σταθερός ή αυξανόμενος μετά τους 6 – 12 μήνες → επανάληψη θεραπείας
- Τρεπονημικά αντισώματα σε ηλικία > 18 μηνών → ΣΣ
- Παθολογικά ευρήματα από το ΕΝΥ → έλεγχος κάθε 6 μήνες

Σύφιλη και HIV λοίμωξη

- ⦿ Ασυμφωνία εργαστηριακών και κλινικών ευρημάτων
- ⦿ Εάν οι ορολογικές είναι αρνητικές και υπάρχει η κλινική υποψία → αναζήτηση *T.pallidum* σε βλάβες ιστών και ΕΝΥ
- ⦿ Έλεγχος ορού και ΕΝΥ μετά θεραπεία στους **3, 6, 9, 12, 24** μήνες
- ⦿ Ευρήματα ΕΝΥ συμβατά με νευροσύφιλη συνήθως σε HIV ασθενείς με **CD4 < 350 κύτταρα/ml και VDRL >1/32**

Επίκτητη Σύφιλη (Πρώιμη) Αρχεία Νοσοκομείου « Α. Συγγρός » 1974 - 2007



Νοσοκομείο «Α.Συγγρός», Αθήνα
 Εργαστήριο Αναφοράς STD's και AIDS
 Περίοδος 1995-2001

Μη θεραπευθείσα Σύφιλη (Διάγνωση πρώτη φορά): 735 περιπτώσεις
 Α και Β Στάδιο : 185 Λανθάνουσα: 543

ΕΤΟΣ	Πρώιμη				Ώσιμη		
	Α Στάδιο	Β Στάδιο	Λανθάνουσα	Σύνολο	Λανθάνουσα (A.F)*	Γ Στάδιο	Σύνολο
1995	9	14	16	39	32	1	33
1996	7	18	25	50	43	(-)	43
1997	8	17	20	45	34	(-)	34
1998	11	19	26	56	46	2	48
1999	10	15	24	49	40	2	42
2000	9	21	32	62	98	(-)	98
2001	10	17	28	55	79	2	81
Total	64	121	171	356	372	7	379

* A.F. Accidental finding

Απουσία κλινικών συμπτωμάτων και ιστορικού σύφιλης

Μη τρεπονημικές	Τρεπονημικές	Διάγνωση
VDRL	FTA-Abs EIA TRHA	
+	+ +	Λανθάνουσα Σύφιλη
+	- -	Ψευδώς θετική VDRL

Συμπεράσματα

- ◎ Η διάγνωση της σύφιλης στηρίζεται στην έγκαιρη εργαστηριακή διερεύνηση και εκτίμηση της κλινικής εικόνας
- ◎ Συνήθη αίτια μη έγκαιρης διάγνωσης :
 - Λήψη αντιβιοτικών
 - Σύντομη διάρκεια και ήπια κλινικά συμπτώματα πρώτου και δευτέρου σταδίου
 - Διαγνωστικό σφάλμα
- ◎ Συνήθης μη διαγνωσθείσα μορφή η λανθάνουσα σύφιλη

- Όλοι οι ασθενείς που έχουν μολυνθεί με το *T.pallidum* θα μεταπέσουν σε λανθάνουσα σύφιλη αν δεν θεραπευθούν ή θεραπευθούν ατελώς
- Όλοι οι ασθενείς που είναι σε λανθάνουσα σύφιλη δεν εξελίσσονται με τον ίδιο τρόπο
- Δεν υπάρχουν προγνωστικοί δείκτες ώστε να προβλέπεται η εξέλιξη σε λανθάνουσα σύφιλη