

Utilidad de las pruebas moleculares y serológicas para el diagnóstico de la sífilis primaria de hasta tres semanas de evolución

Benefit of molecular and serological tests for the diagnosis
of primary syphilis of up to three weeks' duration

Brenda Rodríguez González¹ <https://orcid.org/0009-0001-6520-5803>

Arianna Amarilis Rojas Perelló² <https://orcid.org/0000-0001-8377-2484>

Orestes Blanco González² <https://orcid.org/0000-0001-9356-6043>

Islay Rodríguez González^{2*} <https://orcid.org/0000-0002-0723-4454>

¹Industrial Biotecnológico CIGB-Mariel. La Habana, Cuba.

²Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: islay@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La infección por *Treponema pallidum* se diagnostica fundamentalmente por pruebas serológicas, pero estas tienen sensibilidad baja en estadios tempranos de la enfermedad, durante los que la prueba de reacción en cadena de la polimerasa resulta sensible y específica.

Objetivo: Describir la positividad molecular y serológica en muestras clínicas de pacientes con sífilis primaria temprana.

Métodos: Se compararon los resultados de las pruebas serológicas treponémicas y no treponémicas y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real, para la detección de *Treponema pallidum* en suero y exudados de lesiones ulceradas

de hasta tres semanas de evolución, de 33 pacientes cubanos con sospecha de sífilis primaria.

Resultados: El 57,6 % (19/33) de los pacientes en estudio tuvo sífilis demostrada por pruebas serológicas o por prueba de reacción en cadena de la polimerasa. La concordancia entre estos ensayos fue baja (69,7 %, 23/33).

Conclusiones: La prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real y las pruebas serológicas son herramientas aplicables para la detección de la sífilis primaria temprana, sin que ello implique que ambas deban ser positivas.

Palabras clave: sífilis; *Treponema pallidum*; prueba de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real; serología.

ABSTRACT

Introduction: *Treponema pallidum* infection is primarily diagnosed via serological tests; however, these exhibit low sensitivity during the early stages of the disease, whereas the polymerase chain reaction test proves both sensitive and specific during this period.

Objective: To describe molecular and serological positivity in clinical samples from patients with early primary syphilis.

Methods: Results from treponemal and non-treponemal serological tests were compared with those from real-time polymerase chain reaction testing for the detection of *Treponema pallidum* in serum and exudates from ulcerative lesions of up to three weeks' duration, in 33 Cuban patients with suspected primary syphilis.

Results: Fifty-seven-point six percent (57.6% (19/33)) of the study patients had syphilis confirmed by serological tests or real-time polymerase chain reaction. The concordance between these assays was low (69.7%, 23/33).

Conclusions: Real-time polymerase chain reaction and serological tests are applicable tools for detecting early primary syphilis, although a positive result in both is not required.

Keywords: syphilis; *Treponema pallidum*; real-time polymerase chain reaction (PCR); serology.

Recibido: 06/06/2025

Aceptado: 10/09/2025

Introducción

La sífilis, causada por *Treponema pallidum*, es una infección de transmisión sexual (ITS) curable; sin embargo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima una aparición mundial anual de 6,3 millones de casos nuevos en hombres y mujeres entre 15 y 49 años.⁽¹⁾ En Cuba es reconocida como un problema grave de salud con una tasa de incidencia (por 100 000 habitantes) que se incrementa de 12,6 en 2009 a 45,2 en 2017, disminuye hasta 34,4 en 2021 y se incrementa de nuevo en 2023 a 81,0.⁽²⁾

Su diagnóstico se basa en datos epidemiológicos, hallazgos clínicos y resultados de las pruebas de laboratorio, que varían de acuerdo con la etapa clínica de la enfermedad.⁽³⁾

Las pruebas serológicas son las más utilizadas para la confirmación de casos, aunque presentan sensibilidad baja sobre todo en estadios tempranos de la infección, aun ante la presencia de lesiones ulceradas genitales o extragenitales.⁽⁴⁾ En este punto, las herramientas moleculares como la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, del inglés *Polymerase Chain Reaction*) y sus variantes desempeñan un papel fundamental en el diagnóstico directo, al aportar valores excelentes de sensibilidad y especificidad analíticas.^(5,6)

En un estudio previo realizado en Cuba se detectan más de la mitad de los casos positivos a sífilis primaria mediante PCR, y se demuestra una baja concordancia entre los resultados obtenidos por este método y las pruebas serológicas. Sin embargo, como en este se utilizan muestras de exudados de lesiones ulceradas de tiempos diferentes de evolución clínica, no es posible discernir la influencia de esta variable en la coincidencia baja de los resultados obtenidos por ambos tipos de pruebas.⁽⁷⁾

En respuesta a esta interrogante, en el estudio cuyos resultados se comparten en la presente comunicación, se persiguió describir la positividad molecular y serológica en muestras clínicas de pacientes con sífilis primaria temprana.

Se realizó una investigación descriptiva de una serie de 33 pacientes en el Laboratorio Nacional de Referencia de Treponemas y Patógenos Especiales del

Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (LNR-TPE/IPK), en la que se incluyeron las muestras de suero y de lesiones ulceradas de hasta tres semanas de evolución de estos, recibidas desde enero de 2018 hasta junio de 2022.

Para el diagnóstico serológico se empleó la combinación de las pruebas *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) Plus (Centis, Cuba) y hemaglutinación de *T. pallidum* (TPHA) (Centis, Cuba), siguiendo las instrucciones del fabricante. Para el diagnóstico molecular se empleó la PCR en tiempo real (PCR-TR) utilizando como diana el gen *poIA*.⁽⁵⁾ Se informaron positivas a sífilis aquellas muestras para las que se obtuvo una VDRL reactiva/TPHA positiva o un resultado positivo por PCR-TR, al constatar la curva sigmoideal característica de amplificación con un valor umbral del número de ciclos (*Ct*, de las siglas en inglés de *cycle threshold*) superior a 20.

Los resultados de laboratorio se introdujeron en una base de datos con el empleo de Excel (Microsoft Office). Se determinó la frecuencia de sífilis, según la combinación de los diagnósticos molecular y serológico, así como por cada uno de ellos de manera individual. Además, se calcularon la media y mediana de los títulos de anticuerpos por VDRL y de los tiempos de evolución de la enfermedad.

Se analizó la correlación entre los títulos de anticuerpos por VDRL y los días de evolución de las lesiones usando el coeficiente de Pearson, mediante el paquete estadístico *IBM SPSS Statistics* versión 21. Se consideraron estadísticamente significativas aquellas variables con $p \leq 0,05$. Se determinó el coeficiente de concordancia Kappa entre los resultados obtenidos por las pruebas serológicas y la PCR-TR.

Mediante la PCR-TR y las pruebas serológicas se obtuvo una positividad de 57,6 % (19/33) de los pacientes. De ellos, el 42,4 % resultó positivo por la PCR-TR e igual proporción por las pruebas serológicas. Para el 27,2 % (9/33) de las muestras con resultados positivos y el 42,4 % (14/33) con resultados negativos se obtuvo concordancia. La discrepancia entre los métodos fue de 30,3 % (10/33 muestras), con una concordancia moderada del índice de Kappa ($K = 0,3797$; IC 95% 0,0608-0,6986; $p = 0,0292$) (tabla 1).

Tabla 1 - Resultados de la PCR-TR en muestras de exudados de lesiones y de la combinación de las pruebas serológicas en los pacientes con sospechas de sífilis primaria (IPK, enero/2018-junio/2022)

PCR-TR		Pruebas serológicas (VDRL plus + TPHA)		
		Positiva	negativa	total
	positiva	9*	5**	14
	negativa	5**	14*	19
	Total	14	19	33

Leyenda: *concordancia entre las pruebas, **discrepancia entre las pruebas.

La discrepancia entre los resultados moleculares y serológicos puede deberse a disímiles factores en dependencia de la combinación resultante.

En el caso de los pacientes con PCR-TR positiva y serología negativa ($n = 5$), puede deberse a que estos se encontraban en la etapa pre-serológica de la infección, para la que se describe una duración de hasta 15 días después de la aparición del chancro. En este estudio, la mediana de los tiempos entre la aparición de las lesiones y el momento de toma de las muestras fue de 15 días (rango 3-21 días). Durante este periodo, las pruebas serológicas no resultan reactivas ya que se trata de una infección muy reciente y los niveles de anticuerpos no alcanzan los valores de corte de estos ensayos.^(10,11)

El tratamiento previo con antibióticos, unido a la disfunción inmunitaria del paciente, puede mitigar la respuesta serológica a *T. pallidum*.⁽¹²⁾ De estos pacientes solo uno recibió autotratamiento previo, pero fue con un antimicótico (ketoconazol); no existe evidencia que asocie el uso de este medicamento con la mitigación de la respuesta inmune.

Los valores elevados de Ct en la PCR-TR pueden significar niveles bajos de concentración de *T. pallidum*.⁽¹³⁾ El 80 % (4/5) de las muestras de exudados presentan valores de Ct elevados (≥ 30); esto indica *a priori* una cantidad inicial menor de copias del gen de interés en la muestra por presentar una carga bacteriana baja en la lesión (sitio de entrada de la bacteria). Si se añade a ello que en esta etapa la diseminación del patógeno en sangre es baja, la carga antigénica entonces también será baja para justificar una respuesta inmune insuficiente para ser detectada por las técnicas serológicas empleadas.

Entre los pacientes con sífilis considerados negativos por la combinación de los resultados serológicos, 2/5 resultaron serodiscrepantes por presentar VDRL reactiva y TPHA negativa; esto podría estar dado por la seroconversión más tardía de la TPHA respecto a la VDRL;⁽¹⁴⁾ ninguno resultó VDRL no reactiva y TPHA positiva (no antecedentes de sífilis previa y tratada).

En relación con los resultados negativos por PCR y positivos por serología (n = 5), se puede pensar que los pacientes presentan sífilis en un estadio más avanzado (no sífilis primaria) y la etiología de las úlceras actuales no es treponémica. Existen otros patógenos como causas importantes de la úlcera anogenital, no investigados en este estudio. En una investigación realizada en Cuba, el 50 % (17/34) de los pacientes con estos resultados fueron positivos por PCR para infecciones por el virus del herpes tipo dos y el 5,9 % (2/34) por *Chlamydia trachomatis*.⁽⁷⁾ Por ello, la necesidad de realizar PCR para otros agentes etiológicos cuando se detecten pacientes con úlceras genitales o extragenitales.

Los resultados del PCR negativos y serología positiva podrían deberse también a reacciones de serorresistencia por sífilis tratada (en los casos con títulos bajos por VDRL), o falsos positivos por VDRL en pacientes con antecedentes de sífilis tratada y lesión no treponémica.⁽⁷⁾ Los resultados por VDRL se alteran por embarazo, uso de drogas, infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), entre otros factores,⁽¹⁵⁾ mientras la reactividad de TPHA persiste de manera indefinida después de un episodio inicial de sífilis, por lo que no se consideran marcadores de infección activa por sí solas. El 80 % (4/5) de los individuos del estudio con estos resultados refirieron historia previa de sífilis y estaban infectados con el VIH; el paciente restante (1/5) presentaba un título de anticuerpos por VDRL alto (64), lo que sugiere una etapa más avanzada de la enfermedad.

Los títulos de anticuerpos por VDRL plus para las muestras de suero que mostraron reactividad (n = 16) de los 19 pacientes en los que se diagnosticó sífilis, oscilaron entre débil reactivo y 256 (tabla 2), con una mediana de 16 y una media de 11. Estos no correlacionaron con los días de evolución de las lesiones (Coeficiente de correlación de Pearson = -0,171 con $p = 0,543$). Ello sugiere que la respuesta de anticuerpos es independiente del tiempo de evolución de la lesión. Resulta difícil precisar el momento exacto de inicio de la infección porque a este le antecede un período de incubación que oscila entre diez y 90 días.⁽⁸⁾ Estos resultados se corresponden con los reportados en estudios precedentes.⁽⁹⁾

Tabla 2 - Distribución de los resultados (títulos de anticuerpos) por VDRL Plus en los pacientes con diagnóstico de sífilis (n = 19) y su correspondencia con la positividad por PCR-TR (IPK, enero/2018-junio/2022)

	Resultado por VDRL Plus				
	NR	DR-4	8-32	≥64	Total
No. muestras de sueros (%)	3 (15,8)	6 (31,6)	6 (31,6)	4 (21)	19 (100)
No. muestras de exudados con PCR-TR positiva	3	4	4	3	14

Leyenda: NR: No reactivo; DR: Débil reactivo.

De los cinco pacientes con diagnóstico de sífilis que presentaron resultados reactivos por VDRL, pero negativos por PCR, la reactividad se correspondió con títulos de DR, 2, 16, 32 y 64.

La frecuencia elevada de infección por *T. pallidum* en muestras de lesiones ulceradas de hasta tres semanas de evolución, y en especial de aquellos pacientes con resultados seronegativos y serodiscrepantes, evidencia la utilidad de la PCR en esta etapa clínica temprana, resultado no descrito en la literatura científica revisada, lo que avala su uso en el diagnóstico y la confirmación de la sífilis.

Cuba dispone de laboratorios de biología molecular en todas las provincias, que pudieran emplearse en el diagnóstico de sífilis temprana y de otras ITS que cursan con úlceras genitales y extragenitales.

Los resultados de esta investigación sugieren la necesidad de considerar tanto los resultados de las pruebas serológicas como de la PCR-TR para la confirmación certera de un caso de sífilis primaria temprana, sospechada por la clínica y la epidemiología, sin que esto implique que ambas deban ser positivas.

Referencias bibliográficas

1. WHO. More than 1 million new curable sexually transmitted infections every day; 2019 [acceso 02/05/2022]. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/06-06-2019-more-than-1-million-new-curable-sexually-transmitted-infections-every-day>

2. MINSAP. Anuario estadístico de salud 2023. Cuba: Dirección de Registros Médicos y Estadísticas de Salud; 2024 [acceso 02/05/2022]. Disponible en: <https://instituciones.sld.cu/iccc/2024/10/03/anuario-estadistico-de-salud-cuba-2023/>
3. Kojima Y, Furubayashi K, Kawahata T, Mori H, Komano J. Circulation of Distinct *Treponema pallidum* Strains in Individuals with Heterosexual Orientation and Men Who Have Sex with Men. *J Clin Microbiol*. 2019;57(1):e01148-18. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01148-18>
4. Vrbová E, Mikalova L, Grillova L, Pospisilova P, Strnadel R, Dastychova E, et al. A retrospective study on nested PCR detection of syphilis treponemes in clinical samples: PCR detection contributes to the diagnosis of syphilis in patients with seronegative and serodiscrepant results. *PLoS ONE*. 2020;15(8):e0237949. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0237949>
5. Gayet-Ageron A, Sednaoui P, Lautenschlager S, Ferry T, Toutous-Trellu L, Cavassini M, et al. Use of *Treponema pallidum* PCR in testing of ulcers for diagnosis of primary syphilis. *Emerg Infect Dis*. 2015;21(1):127-9. DOI: <https://doi.org/10.3201/eid2101.140790>
6. Pinto M, Antelo M, Ferreira R, Azevedo J, Santo I, Borrego MJ, et al. A retrospective cross-sectional quantitative molecular approach in biological samples from patients with syphilis. *Microb. Pathog.* 2017;104:296-302. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.01.059>
7. Noda AA, Rodríguez I, Grillova L, Bosshard PP, Lienhard R. Accuracy of PCR and serological testing for the diagnosis of primary syphilis: Both tests are necessary. *Int J STD AIDS*. 2019;30(11):1087-94. DOI: <https://doi.org/10.1177/0956462419859764>
8. Hook EW. Syphilis. *Lancet*. 2017;389(10078):1550-7. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32411-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32411-4)
9. Talwar, S., M. A. Tutakne y V. D. Tiwari. VDRL titres in early syphilis before and after treatment. *Genitourin Med*. 1992;68(2):120-2. DOI: <https://doi.org/10.1136/sti.68.2.120>
10. Aragão C, Casal D, Oliveira da Silva M, Brasil I, Cunha E, Oliveira T. Molecular detection of *Treponema pallidum* sp. *pallidum* in blood samples of VDRL seroreactive women with lethal pregnancy outcomes: A retrospective observational study in northern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2011;44(4):451-6. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0037-86822011005000047>

11. Janier M, Unemo M, Dupin N, Tiplica GS, Potočník M, Patel R. 2020 European guideline on the management of syphilis. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2021;35(3):574-88. DOI: <https://doi.org/10.1111/jdv.16946>
12. Shields M, Guy RJ, Jeoffreys NJ, Finlayson RJ, Donovan B. A longitudinal evaluation of *Treponema pallidum* PCR testing in early syphilis. *BMC Infect Dis*. 2012;12:353. DOI: <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-353>
13. Leslie DE, Azzato F, Karapanagiotidis T, Leydon J, Fyfe J. Development of a real-time PCR assay to detect *Treponema pallidum* in clinical specimens and assessment of the assay's performance by comparison with serological testing. *J Clin Microbiol*. 2007;45(1):93-6. DOI: <https://doi.org/10.1128/JCM.01578-06>
14. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(1):1-21. DOI: <https://doi.org/10.1128/CMR.8.1.1>
15. Kingston M, Apea V, Evans C, Fifer H, Foster K, Patrick P. BASHH UK guidelines for the management of syphilis 2024. *Int J STD AIDS*. 2024;35(14):1142-60. DOI: <https://doi.org/10.1177/09564624241280406>

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.