

ORIGINAL

Valoración anatomopatológica e inmunohistoquímica frente a *Treponema pallidum* en 42 biopsias con sospecha clinicopatológica de sífilis

Cristian Perna^{a,*}, Jesús Cuevas^a, David Hardisson^b, Eugenia García Fernández^a,
Maria José Beato^b y Félix Contreras^b

^a Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario de Guadalajara, Universidad de Alcalá de Henares, Guadalajara, España

^b Servicio de Anatomía Patológica, Hospital Universitario La Paz, Instituto de Investigación Hospital Universitario La Paz (idiPaz), Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España

Recibido el 4 de marzo de 2011; aceptado el 4 de abril de 2011

PALABRAS CLAVE

Sífilis;
Inmunohistoquímica;
Treponema pallidum

Resumen La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual que aún es relativamente frecuente y cuyo diagnóstico se ha basado tradicionalmente en pruebas serológicas. La histopatología de sus lesiones, especialmente en la sífilis secundaria, puede ser muy variable. La detección de *Treponema pallidum* en biopsias se ha realizado hasta fechas recientes mediante técnicas de impregnación argéntica, que presentan escasa sensibilidad. Desde hace unos años se dispone de detección inmunohistoquímica frente a espiroquetas. Éste es un trabajo de revisión de 42 biopsias con sospecha clínica y/o anatomopatológica de sífilis en los que se valoran sus hallazgos morfológicos e inmunohistoquímicos, con especial orientación al secundarismo luético, que mostró una positividad inmunohistoquímica del 83,3%.

© 2011 SEAP y SEC. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Syphilis;
Immunohistochemistry;
Treponema pallidum

Pathological and immunohistochemical evaluation of *Treponema pallidum* in 42 biopsies from cases of suspected syphilis

Abstract Syphilis is a sexually transmitted disease which is still common. Traditionally, serology has been the diagnostic gold standard. The pathology of the lesions, especially those of secondary syphilis, can vary. Spirochetes (*Treponema pallidum*) can be detected with silver staining, but with only low sensitivity. Since the 1990s, immunohistochemistry against *Treponema* has been available. The pathology and immunohistochemistry of 42 biopsies from patients with a possible clinical diagnosis of syphilis were examined. In secondary syphilis, treponemas were detected in 83.3% of the cases using immunohistochemistry.

© 2011 SEAP y SEC. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: cristianperna@yahoo.es (C. Perna).

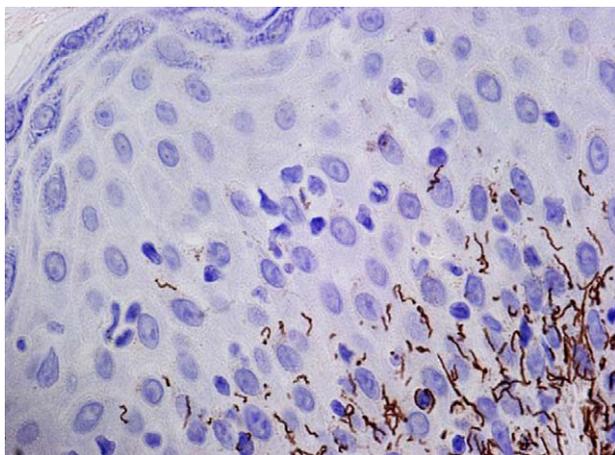


Figura 1 Inmunohistoquímica frente a *Treponema*. Epidermis de paciente afecto de sífilis secundaria, en la que se observan abundantes espiroquetas de 1-2 micrómetros de grosor y 10-12 micrómetros de longitud.

Introducción

La sífilis es una enfermedad de transmisión sexual causada por la espiroqueta *Treponema pallidum* (TP), aún muy frecuente en países en desarrollo y que ha aumentado su incidencia en los últimos años en los países desarrollados. Su diagnóstico está basado en pruebas serológicas treponémicas (TP-PA, FTA-ABS) o no treponémicas (RPR, VDRL), que continúan siendo el «gold standard»^{1,2}. Estas pruebas presentan una sensibilidad que es cercana al 100% en la sífilis secundaria, pero que es menor en las fases tempranas o latentes de la enfermedad y en los pacientes inmunodeprimidos. Sin embargo, y aunque el clínico sospeche sífilis como diagnóstico más probable, el resultado de las pruebas de laboratorio puede no existir en el momento en que el patólogo se enfrenta a la biopsia.

En el pasado, la detección histopatológica del *Treponema pallidum* se realizaba con tinciones de impregnación argéntica como Warthin-Starry. Estas técnicas han sido difíciles de interpretar, ya que presentan abundante fondo y tienen muchos falsos negativos cuando el número de treponemas es escaso³.

Afortunadamente para los patólogos, desde hace unos años se dispone de una detección inmunohistoquímica (IHQ) de *Treponema pallidum*^{3,4} (fig. 1). En este estudio se presenta la valoración histopatológica e IHQ de 42 biopsias con sospecha clinicopatológica de sífilis.

Material y método

Se revisaron los archivos del Hospital La Paz de Madrid entre los años 1970 y 2005 y se estudiaron un total de 42 biopsias. Todas ellas presentaban una mayor o menor sospecha clínica y/o patológica de enfermedad luética. Las biopsias se fijaron, procesaron y tiñeron con técnicas convencionales. El diagnóstico se efectuó basándose exclusivamente en las características anatomopatológicas que se visualizaron con hematoxilina-eosina. Asimismo, se recuperaron del archivo los bloques de parafina. Sobre los bloques se realizó IHQ frente a *Treponema* (Antitreponema policlonal, Biocare Medical). Las biopsias de piel con sospecha de sífilis secundaria fueron reevaluadas antes de la realización de la IHQ por los dos dermatopatólogos expertos coautores de este manuscrito, y posteriormente clasificadas en tres patrones anatomopatológicos: A. Afectación epidérmica (generalmente psoriasiforme) con infiltrado inflamatorio superficial (generalmente con patrón liquenoide). B. Afectación epidérmica con infiltrados inflamatorios superficiales, perianexiales y profundos. C. Infiltrados inflamatorios superficiales y profundos de variable densidad sin alteración en la epidermis o con mínima alteración epidérmica (fig. 2).

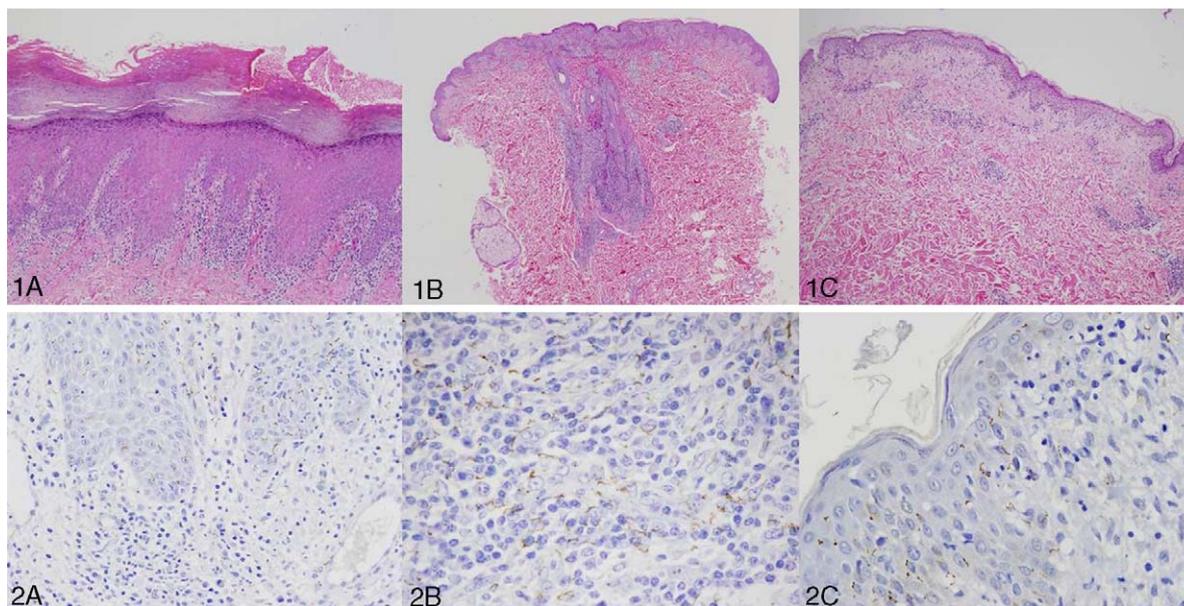


Figura 2 Patrones anatomopatológicos de sífilis secundaria (hematoxilina-eosina e inmunohistoquímica frente a *Treponema*). Izquierda, patrón A, con afectación liquenoide psoriasiforme de la epidermis; centro, patrón B, con afectación superficial y profunda perianexial; derecha, patrón C, con mínima afectación epidérmica y ligera inflamación perivascular.

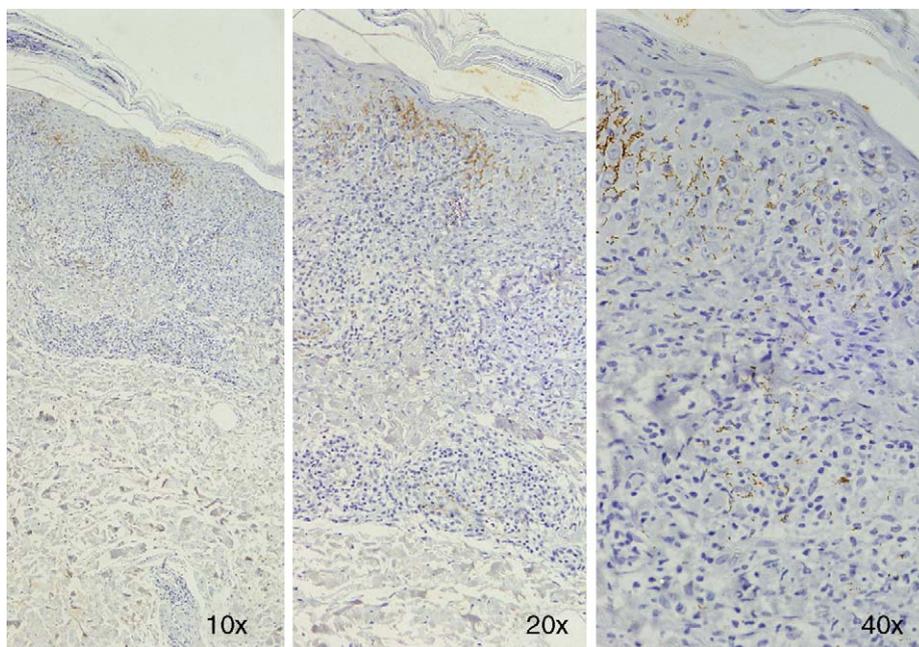


Figura 3 Inmunohistoquímica de valor 3. Los treponemas son ya visibles con el objetivo de 10x.

La IHQ fue graduada semicuantitativamente de 0 a 3 dependiendo de si la inmunotinción era negativa (valor 0), presentaba treponemas únicamente visibles a gran aumento (valor 1) o mostraba inmunotinción clara ya en el objetivo de 20x (valor 2) o de 10x (valor 3) (fig. 3).

Resultados

De las 42 biopsias, 30 correspondieron a piel no genital (con sospecha de sífilis secundaria); 4 a piel genital (con sospecha de chancro sifilítico); 3 a ganglios linfáticos, y 5 a placentas (tabla 1).

En cuanto a las 30 biopsias con sospecha clinicopatológica de secundarismo luético, en 18 casos el único diagnóstico por parte del dermatólogo fue el de sífilis secundaria. Todas ellas tenían pruebas serológicas de sífilis positiva. De esas

18 biopsias, 16 tuvieron diagnóstico anatomopatológico de sífilis tanto en el momento del diagnóstico como posteriormente al ser visualizadas de forma retrospectiva por dermatopatólogos expertos. La histopatología demostró en la mayor parte de las biopsias las características típicas de la sífilis secundaria. El 77,7% de las biopsias (14/18) mostró afectación epidérmica psoriasiforme o liquenoide con inflamación. Este mismo porcentaje se repitió tanto con las características del infiltrado inflamatorio rico en células plasmáticas como también con los fenómenos de vasculopatía con presencia de endotelios prominentes (fig. 4). Sólo 5 casos (27,7%) demostraron claramente espiroquetas con técnica de Warthin Starry. El 83,3% (15/18) mostró treponemas mediante IHQ.

Los patrones anatomopatológicos A, B y C se observaron en 9, 5 y 4 casos, respectivamente. Los patrones A y B pre-

Tabla 1 Distribución de los casos estudiados y positividad de la técnica inmunohistoquímica

Tipo biopsia	Diagnóstico clínico de sífilis	Diagnóstico anatomopatológico de sífilis	IHQ+
<i>Sífilis secundaria</i>	27	19	18
Único diagnóstico	18	16	15
Posibilidad clínica	9	7-2 ^a	2
<i>Sin clínica de sífilis</i>	(3)	3	1
<i>Chancro</i>	4	4	3
<i>Ganglio linfático</i>	0	3	3
<i>Placenta</i>	5	0	0

Los 3 casos entre paréntesis (3) corresponden a las sífilis secundarias sospechadas únicamente por el patólogo.

^a Serie de sífilis sospechada por patólogos generales (7 casos) y dermatopatólogos (2 casos).

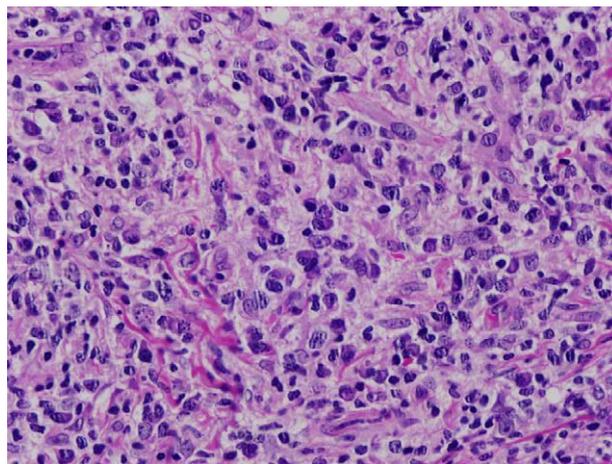


Figura 4 Sífilis secundaria. Inflamación rica en células plasmáticas y vasculopatía con endotelios prominentes.

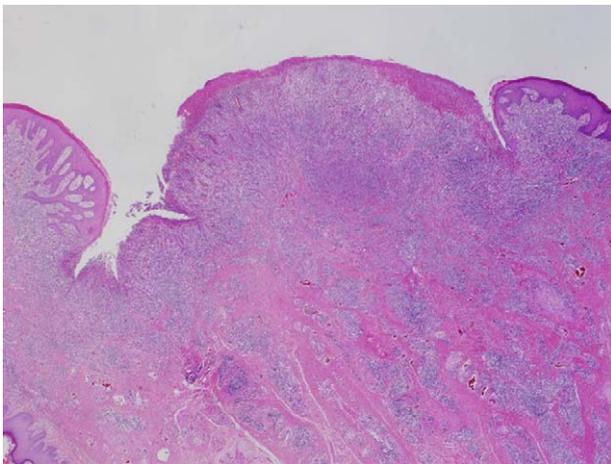


Figura 5 Chancro sifilítico localizado en la vulva (hematoxilina-eosina).

sentaron respectivamente una media de inmunotinción de 2,3 y 2,5 sobre un máximo de 3. El patrón C mostró únicamente una media de 1,5 sobre 3. En casi todos los casos se observaron treponemas afectando tanto a la epidermis (patrón epiteliotropo) (fig. 2, 2a y 2c) como localizados en las paredes de estructuras vasculares y alrededor de las mismas (patrón vasculotrópico) (fig. 2, 2b).

En 9 de los 30 pacientes se apuntó clínicamente la sospecha de sífilis entre otras posibilidades clínicas, como la pitiriasis liquenoide, la papulosis linfomatoide o el lupus eritematoso, y no se informaba de serología luética positiva (tabla 1). Siete de estos 9 casos tuvieron un diagnóstico anatomopatológico compatible con sífilis en el momento de la elaboración del informe. Sin embargo, retrospectivamente sólo 2 de esos 7 casos fueron orientados como enfermedad luética cuando los cortes con hematoxilina-eosina fueron revisados por dermatopatólogos expertos. Sólo estos dos últimos casos mostraron inmunotinción positiva. Los últimos tres casos del total de 30 tuvieron únicamente la sospecha de sífilis por parte del patólogo general en el momento del diagnóstico, y sólo uno de ellos resultó positivo con IHQ.

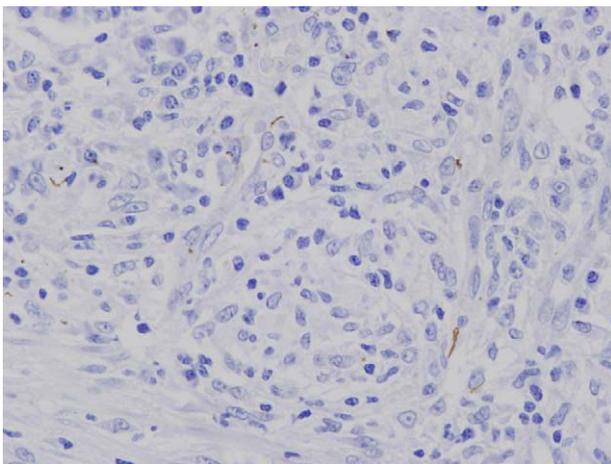


Figura 6 Inmunohistoquímica frente a *Treponema pallidum* en chancro sifilítico. Escasa presencia de espiroquetas, sólo visibles a grandes aumentos.

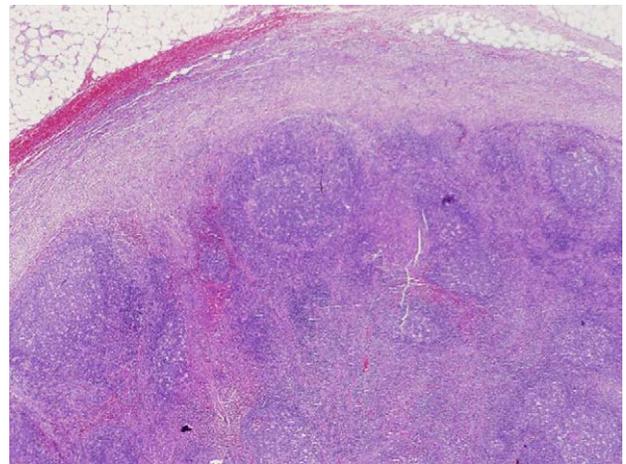


Figura 7 Linfadenitis luética en adenopatía inguinal. Hiperplasia folicular y marcada capsulitis fibrosante.

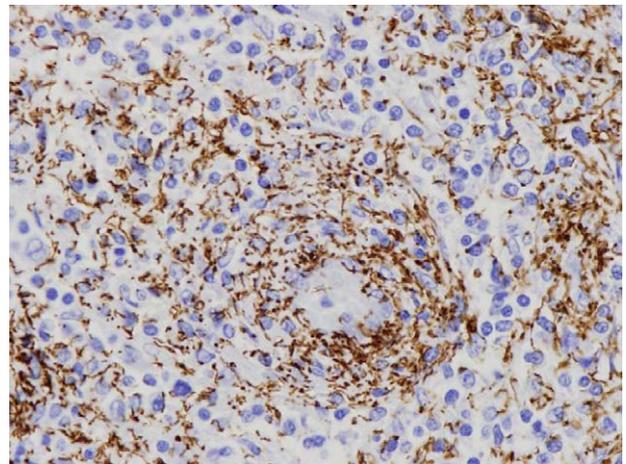


Figura 8 Inmunohistoquímica frente a *Treponema* en ganglio linfático con linfadenitis luética. Abundantes espiroquetas en la pared y alrededor de las estructuras vasculares.

Sólo disponíamos de 4 chancros en nuestro archivo (fig. 5). Tres de ellos resultaron positivos con la IHQ y mostraron disposición perivascular de los treponemas, con media de 1,3 sobre 3 (fig. 6).

Los tres casos de ganglios linfáticos correspondían a casos antiguos con sospecha de linfoma inguinal. En los tres casos el diagnóstico anatomopatológico fue de sífilis, mostrando las preparaciones una hiperplasia linfoide muy marcada con capsulitis fibrosante rica en células plasmáticas (fig. 7). Los tres casos mostraron positividad IHQ (+3, +2 y +1, respectivamente) (fig. 8).

Las placentas de los casos diagnosticados clínicamente como sífilis congénita no mostraron lesiones morfológicas, salvo un caso con villitis y funisitis. Ninguna de ellas mostró positividad IHQ frente a *Treponema*.

Discusión

La lesión cutánea o mucosa de la sífilis primaria (chancro) se localiza casi siempre en la zona genital (95%). Suele curar en 4 a 6 semanas, deja cicatriz y casi siempre se

acompaña de linfadenopatía regional. Su histopatología es similar a la de la sífilis secundaria, aunque con mayor tendencia a ulcerarse⁵. En estas biopsias es muy importante la determinación IHQ de *Treponema pallidum*, porque las pruebas serológicas pueden ser negativas. Algunos estudios describen una positividad de hasta el 100%⁵, doblando la sensibilidad de las tinciones argénticas, y en ellos los treponemas se disponen tanto a nivel epitelial como a nivel dérmico, con una marcada tendencia a tener patrón vasculotrópico. Nuestra casuística es escasa, con 3 de 4 casos positivos y una inmunotinción sorprendentemente escasa y de distribución predominantemente perivascular (fig. 6).

Sin tratamiento, pasadas 4-8 semanas de la curación del chancro se produce la afectación cutánea de la sífilis secundaria, que permanece durante varias semanas. Es un cuadro con gran variedad tanto clínica como anatomopatológica. Es típico que en el estudio microscópico exista hiperplasia epidérmica psoriasiforme, espongirosis, alteración vacuolar basal y edema de dermis papilar⁶. Puede haber excoriaciones, pústulas y paraqueratosis. Sin embargo, en ocasiones la epidermis es prácticamente normal. La dermis presenta inflamación linfoide rica en células plasmáticas, con densidad variable, y con un patrón superficial liquenoide o difuso. La inflamación se dispone con tendencia perivascular y perianexial y ocasionalmente el infiltrado es granulomatoso. Se ha descrito escasez de células plasmáticas en el 25 al 33% de los casos, lo que coincide con nuestra casuística³. La alteración vasculopática se ha cifrado entre el 50 y el 70% de los casos⁵, y es algo superior en nuestros casos. El 30-50% de los casos suele mostrar positividad de *Treponema pallidum* con tinción de Warthin Starry o Dieterle^{4,5}, ligeramente superior al 27% de nuestros casos. La PCR suele ser positiva únicamente en el 40 al 80% de los trabajos publicados^{2,3}. Nosotros no tenemos experiencia con esta técnica.

En la bibliografía, la IHQ muestra positividad en el 70 al 92% de los casos^{3,5,7,8}. El 83,3% de nuestros casos de sífilis secundaria con serología luética positiva presentó positividad IHQ. El patrón anatomopatológico superficial (A) demostró abundantes treponemas (media de 2,3 sobre 3), con disposición preferente epiteliotrópica. También se observaron, aunque en menor número, espiroquetas en la dermis papilar y en localización perivascular del plexo vascular superficial. El patrón morfológico B, con inflamación dérmica más extensa, mostró aún mayor densidad treponémica (2,5 sobre 3), con una distribución similar al patrón A pero con mayor afectación de los anejos cutáneos. Los casos de diagnóstico anatomopatológico más difícil, con escasa o nula alteración epidérmica (patrón C), presentaron una densidad IHQ menor de treponemas (media, 1,5). Con esto se concluye que, como es lógico, la presencia de bacterias es proporcional a la inflamación y al daño epitelial encontrado. Sin embargo, es en las biopsias con poca alteración morfológica y/o en las que la sífilis es sólo una posibilidad clínica entre varias cuando es más importante poner de manifiesto a la bacteria. Esto es aún más cierto cuando es un patólogo general el que se enfrenta a la biopsia. De hecho, sólo 2 de los 7 casos en los que los patólogos generales sugirieron sífilis secundaria fueron refrendados por la IHQ.

Algunos autores describen en la sífilis primaria un patrón IHQ de disposición treponémica mixto epiteliotrópico y vasculotrópico, y en la sífilis secundaria exclusivamente

epiteliotrópico⁵. Nuestra experiencia es que si bien es en la epidermis donde se encuentra un mayor número de espiroquetas, éstas también aparecen con tendencia perivascular e incluso en las propias paredes vasculares.

La sífilis puede acompañarse de linfadenopatía regional (generalmente inguinal) que rara vez se biopsia. Sin embargo, hemos tenido acceso a tres casos antiguos en los que clínicamente se sospechaba un proceso linfoproliferativo. Mostraron la típica imagen de la linfadenitis luética, con marcada hiperplasia folicular, «capsulitis» inflamatoria y fibrosante, abundantes células plasmáticas y vasculopatía⁹. La densidad de espiroquetas llega a ser impresionante, con marcada tendencia vasculotrópica (fig. 8).

La afectación placentaria de la sífilis congénita suele tener alteración de la madurez vellositaria, con vellosidades grandes e hipercelulares y acompañadas de villitis aguda y crónica, proliferación vascular y funisitis¹⁰. Nuestro único caso con alteraciones morfológicas no mostró positividad con IHQ.

Este estudio se ha realizado con el material obtenido del archivo histórico, y casi todas estas biopsias se realizaron entre 1970 y 1989. Sin embargo, es importante comentar que la conservación antigénica es muy buena. Cabe pensar que la IHQ debe presentar resultados incluso mejores en la práctica cotidiana.

En conclusión, la IHQ frente a *Treponema* puede ser muy útil en la confirmación o exclusión del diagnóstico de sífilis, especialmente cuando existe sospecha clínica. Actualmente la sífilis está aumentando su incidencia y es interesante tener este marcador en un servicio de anatomía patológica. La densidad treponémica es muy variable, proporcional a la inflamación y al daño epitelial visualizado. Por tanto, habrá casos en los que basta una visión a poco aumento para identificar la espiroqueta, y casos en los que se requiere una búsqueda cuidadosa de la misma a grandes aumentos.

Responsabilidades éticas

Protección de personas y animales. Los autores declaran que para esta investigación no se han realizado experimentos en seres humanos ni en animales.

Confidencialidad de los datos. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Derecho a la privacidad y consentimiento informado. Los autores declaran que en este artículo no aparecen datos de pacientes.

Bibliografía

1. Manavi K, Young H, McMillian A. The sensitivity of syphilis assays in detecting different stages of early syphilis. *Int J STD AIDS*. 2006;17:768-71.
2. Behrhof W, Springer E, Brauning W, Kirkpatrick JC, Weber A. PCR testing for *Treponema pallidum* in paraffin-embedded skin biopsy specimens: test design and impact on the diagnosis of syphilis. *J Clin Pathol*. 2008;61:390-5.
3. Hoang MP, High WA, Molberg KH. Secondary syphilis: a histologic and immunohistochemical evaluation. *J Cutan Pathol*. 2004;31:595-9.

4. Lee WS, Lee MG, Chung KY, Lee JB. Y. Detection of *Treponema pallidum* in tissue: a comparative study of the avidin-biotin-peroxidase complex, indirect immunoperoxidase, FTA-ABS complement techniques and the darkfield method. *Yonsei Med J.* 1991;32:335–41.
5. Martín-Ezquerria G, Fernández-Casado A, Barco D, Jucglá A, Juanpere-Rodero N, Manresa JM, et al. *Treponema pallidum* distribution patterns in mucocutaneous lesions of primary and secondary syphilis: an immunohistochemical and ultrastructural study. *Hum Pathol.* 2009;40:624–30.
6. Crowson AN, Magro C, Mihm M. Treponemal diseases. En: Elder D, Elenitsas R, Jaworsky C, editores. *Lever's histopathology of the skin.* 8th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams and Wilkins; 1997.
7. Buffet M, Grange PA, Gerhardt P, Carlotti A, Calvez V, Bianchi A, et al. Diagnosing *Treponema pallidum* in secondary syphilis by PCR and immunohistochemistry. *J Invest Dermatol.* 2007;127:2345–50.
8. Sangüeza OP, Fleet SL, Requena L. Update on the histologic findings of cutaneous infections. *Adv Dermatol.* 2000;16:361–423.
9. Choi YJ, Reiner L. Syphilitic lymphadenitis: immunofluorescent identification of spirochetes from imprints. *Am J Surg Pathol.* 1979;3:553–5.
10. Genest DR, Choi-Hong SR, Tate JE, Qureshi F, Jacques SM, Crum C. Diagnosis of congenital syphilis from placental examination: comparison of histopathology, Steiner stain, and polymerase chain reaction for *Treponema pallidum* DNA. *Human Pathol.* 1996;27:366–72.