



## ARTIGO ORIGINAL

# Detecção imuno-histoquímica de *Treponema pallidum* em amostras de pele com correlações clínicas e histopatológicas e análise crítica do Warthin-Starry<sup>☆,☆☆</sup>



Mariana Freitas de Assis Pereira Rosa <sup>id a,\*</sup>, Leonardo Pereira Quintella <sup>id b</sup>, Luiz Claudio Ferreira <sup>id b</sup> e Tullia Cuzzi <sup>id c</sup>

<sup>a</sup> Programa de Pós-Graduação em Anatomia Patológica, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>b</sup> Serviço de Anatomia Patológica, Instituto Nacional de Doenças Infecciosas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>c</sup> Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Recebido em 14 de dezembro de 2021; aceito em 2 de fevereiro de 2022

## PALAVRAS-CHAVE

Diagnóstico;  
Histologia;  
Imuno-histoquímica;  
Sífilis;  
*Treponema pallidum*

## Resumo

**Fundamentos:** A sífilis, em suas diferentes fases, pode ser diagnóstico difícil na área clínica e histopatológica.

**Objetivos:** Avaliar a detecção e a distribuição tecidual de *Treponema pallidum* nas lesões de pele de sífilis.

**Método:** Estudo cego de acurácia diagnóstica foi realizado com imuno-histoquímica e impregnação por prata de Warthin-Starry nas amostras de pele de pacientes com sífilis e outras doenças. Os pacientes foram atendidos em dois hospitais terciários entre os anos de 2000 e 2019. Razões de prevalência (RP) e intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados para avaliar associação entre positividade da imuno-histoquímica e variáveis clínicas-histopatológicas.

**Resultados:** Trinta e oito pacientes com sífilis e suas 40 amostras de biópsias foram incluídas para o estudo. Trinta e seis amostras de pele formaram os controles sem sífilis. A técnica de Warthin-Starry foi incapaz de demonstrar de maneira acurada a bactéria em todas as amostras. A imuno-histoquímica mostrou espiroquetas apenas em amostras de pele de pacientes de sífilis (24/40) com sensibilidade de 60% (95% IC 44,8-75,2). A especificidade foi de 100% e a acurácia de 78,9% (95% IC 69,8-88,1). A maioria dos nossos casos teve espiroquetas tanto na derme quanto na epiderme, com alta carga bacteriana.

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.02.008>

☆ Como citar este artigo: Rosa MFAP, Quintella LP, Ferreira LC, Cuzzi T. Immunohistochemical detection of *Treponema pallidum* in skin samples with clinical and histopathological correlations and Warthin-Starry staining critical analysis. An Bras Dermatol. 2023;98:480–6.

☆☆ Trabalho realizado no Hospital Clementino Fraga Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro e Instituto Nacional de Doenças Infecciosas Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

\* Autor para correspondência.

E-mail: [marianafaprosa@ufRJ.br](mailto:marianafaprosa@ufRJ.br) (M.F.A.P. Rosa).

**Limitações do estudo:** As correlações entre imuno-histoquímica e características clínico-histopatológicas foram observadas, mas foram limitadas estatisticamente em decorrência do pequeno tamanho da amostra.

**Conclusão:** Espiroquetas foram prontamente vistas no protocolo de imuno-histoquímica, o que pode contribuir para o diagnóstico de sífilis em amostras de biópsias cutâneas. Por outro lado, a técnica de Warthin-Starry mostrou ser de nenhum valor prático.

© 2023 Sociedade Brasileira de Dermatologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## Introdução

A sífilis é infecção sexualmente transmissível (IST) curável, em reemergência global nos últimos anos,<sup>1</sup> e um grande desafio de saúde pública, particularmente em grupos com comportamento sexual de alto risco. No Brasil, a frequência da sífilis adquirida tem aumentado progressivamente nos últimos 10 anos. Esse aumento atingiu 30,2% em um único ano, entre 2017 e 2018. Entre 2010 e 2018, a taxa de detecção de sífilis em grávidas aumentou de 3,5 a 21,5 casos por mil nascidos vivos.<sup>2,3</sup>

A doença é causada pela bactéria espiroqueta não cultivável *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*. O diagnóstico requer correlação entre dados clínicos, incluindo infecções prévias e exposição recente, e testes laboratoriais. O método diagnóstico mais útil para sífilis é o teste sorológico. No entanto, considerando as manifestações clínicas multifacetadas, o exame histopatológico é muito importante quando a sífilis não é considerada inicialmente.

*Treponema pallidum* é classicamente reportado como sendo identificado pelas técnicas de impregnação por prata como Warthin-Starry, Levaditi ou Dieterle modificada por Steiner. Entretanto, fundos de marcação inespecífica ou artefactual de elementos teciduais, como fibras reticulares e melanina, representam dificuldades de interpretação que podem originar resultados falso-positivos ou falso-negativos.<sup>4-7</sup> Recentemente, a marcação por imunoperoxidase com anticorpo policlonal anti-*Treponema pallidum* tem mostrado ser um método sensível e útil para realçar e identificar a espiroqueta.<sup>6-11</sup> Este estudo foi realizado para avaliar a contribuição da imuno-histoquímica (IHQ) e técnica de Warthin-Starry (WS) na visualização da espiroqueta em amostras de biópsias de pele. A correlação dessa visualização com achados clínicos e histopatológicos também foi investigada, a fim de definir o desempenho esperado em diferentes cenários.

## Métodos

Um estudo de acurácia diagnóstica foi conduzido usando IHQ e técnica de WS para detecção de espiroquetas nas amostras de biópsias de pele. Dados clínicos e sorológicos de pacientes vistos em dois hospitais terciários no Rio de Janeiro entre os anos de 2000 e 2019 foram recuperados de registros médicos. Os pacientes foram classificados com sífilis quando os achados clínicos foram consistentes e os testes sorológicos foram positivos (*Veneral Disease Research Laboratory Test* [VDRL] com títulos maiores que 1/8 ou teste treponêmico positivo), ou VDRL foi reagente no líquido em qualquer titulação no momento da biópsia de pele e da

investigação diagnóstica. Os pacientes com uma ou mais amostras de pele foram incluídos. Um grupo controle foi formado por amostras de pele de pacientes com testes sorológicos não reagentes para sífilis e diagnosticados com outras dermatoses que poderiam ser consideradas nos diagnósticos diferenciais clínicos e histopatológicos da sífilis.

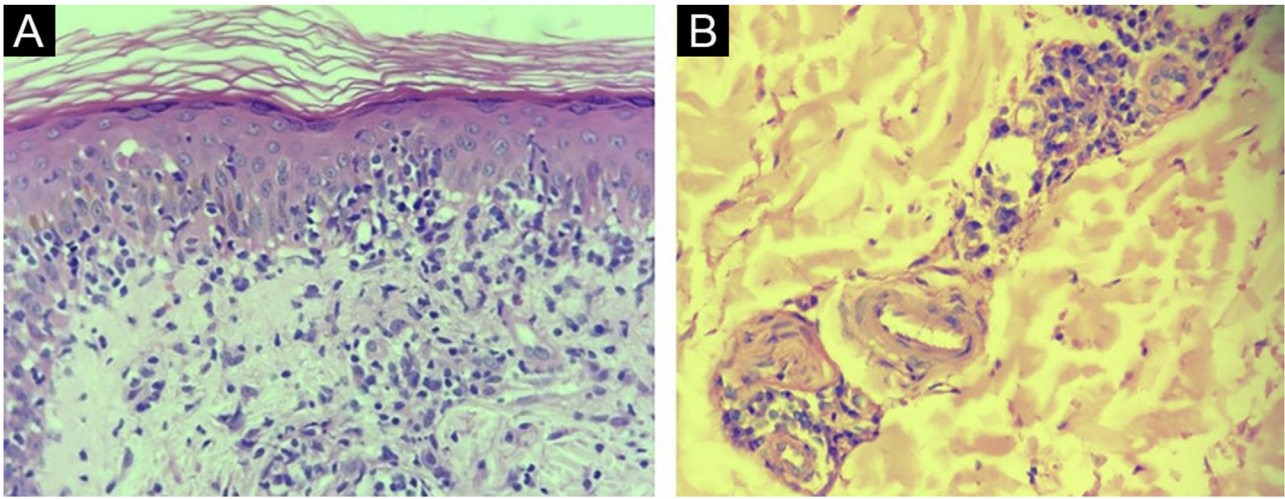
Cortes histológicos de 4 µm de espessura foram obtidos de blocos de parafina para coloração de hematoxilina & eosina e WS, de acordo com protocolo de Luna.<sup>12</sup> Os laudos histopatológicos foram revisados e as lâminas, reavaliadas. Padrão de reação inflamatória, distribuição do infiltrado, hiperplasia endotelial e semiquantificação dos plasmócitos foram considerados na avaliação das amostras de pele de pacientes com sífilis. Plasmócitos foram codificados como ++/++ quando compunham mais de 30% do infiltrado; +/++, menos do que 30%; e zero quando eram ausentes ou raros.

Cortes histopatológicos adicionais foram obtidos para o estudo imuno-histoquímico realizado com pré-tratamento de recuperação de epítipo induzido pelo calor, anticorpo primário policlonal contra *T. pallidum* (BIOCARE Medical, Califórnia, EUA) em diluição de 1:200 e sistema de detecção polimérica (Novolink Max Polymer Detection System, Leica Biosystems, Illinois, EUA). A análise IHQ foi cega para o diagnóstico e realizada simultânea e consensualmente por dois patologistas com ampla experiência em diagnóstico histopatológico e imuno-histoquímico de doenças infecciosas, em microscópio óptico Nikon *dual head* E200. A análise da carga bacteriana foi feita com escala semiquantitativa considerando (3+) numerosas bactérias em todos os campos; (2+) numerosas bactérias em alguns campos; e (1+) raras bactérias.

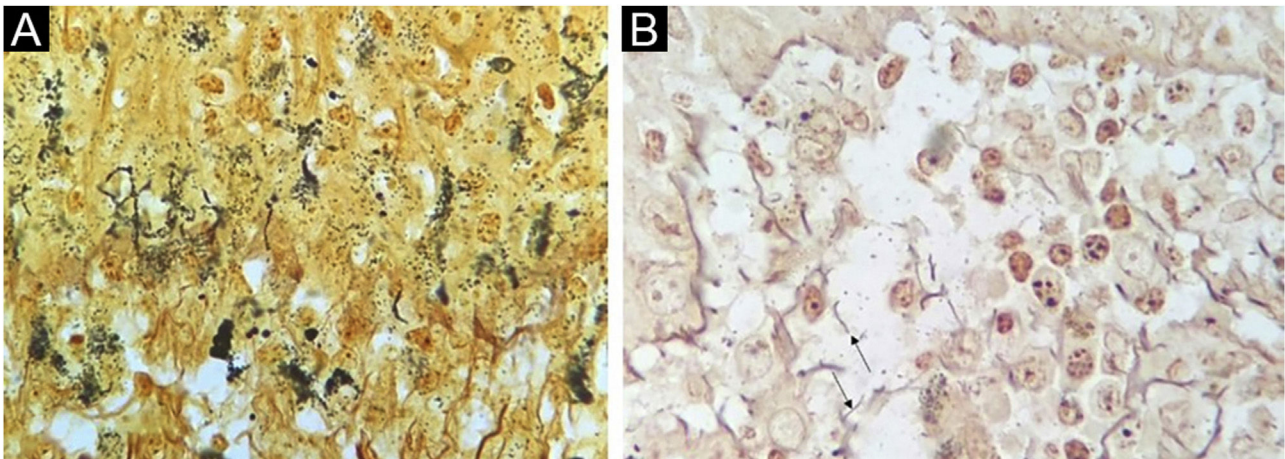
As análises estatísticas foram realizadas usando o *software* SPSS versão 20. Razões de prevalência (RP) e seus respectivos intervalos de confiança (IC) de 95% foram calculados para medir a associação entre a positividade da IHQ e as variáveis clínico-histopatológicas. Os testes de Qui-quadrado ( $\chi^2$ ) e exato de Fisher foram usados para determinar a significância estatística. O nível de significância de 0,05 foi definido.

## Resultados

Trinta e oito pacientes (29 homens e 9 mulheres) com idades entre 19 e 66 anos (média: 42 anos, mediana: 39 anos) com sífilis e suas 40 amostras de pele foram incluídos no estudo. A sorologia anti-HIV foi positiva em 22 pacientes; 10 pacientes demonstravam carga viral > 1.000 cópias/mL; sete pacientes apresentavam contagem de CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup>, e seis pacientes tinham ambos. As lesões de pele eram predominantes nos membros superiores (32/38). Vinte e seis



**Figura 1** Pele, achados histopatológicos. (A) Dermite de interface (Hematoxilina & eosina, 400 ×). (B) Hiperplasia endotelial e plasmócitos em abundância ao redor dos vasos dérmicos (Hematoxilina & eosina, 400 ×).



**Figura 2** (A) Marcação de fundo da camada basal (Warthin-Starry, 1000 ×). (B) Estruturas inespecíficas na derme (setas, Warthin-Starry, 1.000 ×).

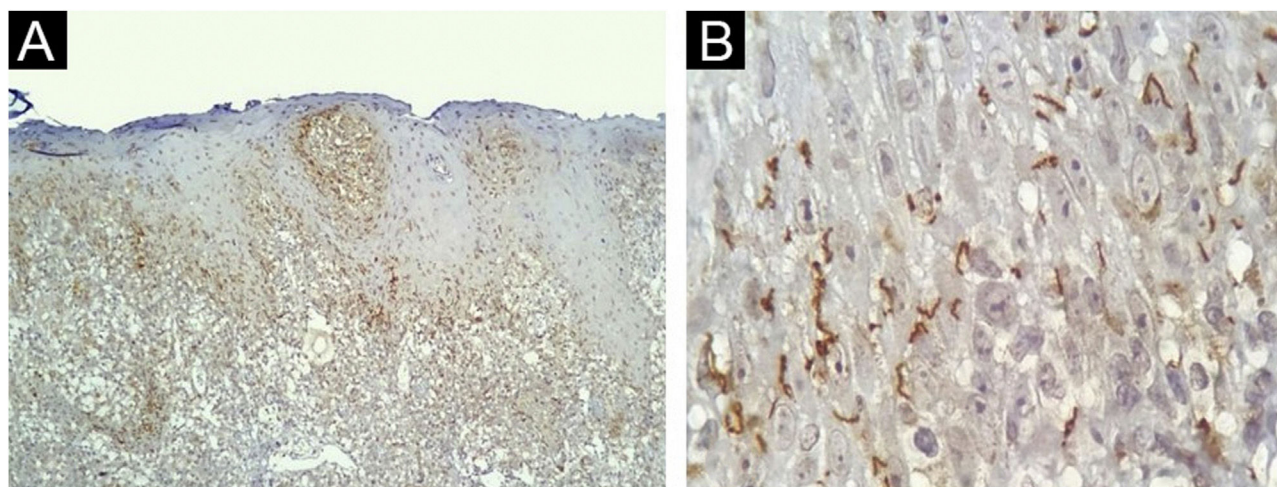
pacientes exibiam lesões papulares, e 22 em placas. Outras lesões de pele descritas foram exantemas (10/38), nódulos (10/38) e pústulas ou crostas (8/38). Vinte e nove amostras (72,5%) vieram de pacientes com sífilis secundária.

Os laudos histopatológicos de 30/40 (75%) amostras de pacientes com sífilis foram considerados compatíveis com o diagnóstico. Farmacodermia, psoríase, síndrome de Reiter e xantogranuloma foram outros diagnósticos histopatológicos sugeridos. Em cinco laudos (12,5%), nenhuma sugestão de diagnóstico histopatológico foi feita. Os padrões de reação tecidual mais comuns foram dermatite perivascular superficial e profunda e de interface (27,5%), e o achado mais comum foi hiperplasia endotelial (75%) – (fig. 1).

Vinte e seis amostras de pele formaram o grupo controle e eram de pacientes diagnosticados com outras dermatoses (10 farmacodermias, 10 com psoríase, quatro de lúpus eritematoso, quatro eczemas, duas de hanseníase, duas eritrodermias, duas vasculites, uma síndrome de Sweet, e uma líquen plano).

A impregnação pelo WS foi negativa ou inconclusiva em todas as amostras. Um fundo com impregnação de estruturas inespecíficas e de melanina nos dendritos dos melanócitos tornou impossível identificar definitivamente as espiroquetas (fig. 2).

A IHQ foi positiva em 24 das 40 amostras de pele de pacientes com sífilis, e foi negativa em todas as 36 amostras do controle sem sífilis, produzindo sensibilidade de 60% (95% IC 44,8-75,2), especificidade de 100%, valor preditivo positivo de 100%, valor preditivo negativo de 69,2% (95% IC 56,7-81,8). A acurácia do teste foi de 78,9% (95% IC 69,8-88,1). Os diagnósticos histológicos propostos nas amostras positivas de IHQ foram sífilis (17/24); farmacodermia apenas (4/24); farmacodermia e sífilis como hipótese adicional (2/24); síndrome de Reiter (1/24); e nenhuma sugestão histopatológica foi feita em duas amostras. A maioria dos nossos casos apresentava espiroquetas tanto na derme (fig. 3A) quanto na epiderme (fig. 3B). A tabela 1 demonstra os resultados da IHQ.



**Figura 3** Pele, achados imuno-histoquímicos. (A) Espiroquetas na dermoepidêmica e derme papilar (imuno-histoquímica com anticorpo anti-*Treponema pallidum*, 100 ×). (B) Detalhe da localização das espiroquetas na epiderme baixa (imuno-histoquímica com anticorpo anti-*Treponema pallidum*, 1.000 ×, ver texto para detalhes técnicos).

**Tabela 1** Distribuição e carga bacteriana das espiroquetas nas amostras de pele positivas na imuno-histoquímica com anticorpo anti-*T. pallidum*

Localização	n (%) Total (n = 24)
Epiderme e derme	18 (75,0)
Derme (apenas)	5 (20,8)
Epiderme (apenas)	1 (4,2)
Localização epidérmica	19 (79,1)
Basal e suprabasal	9 (37,5)
Basal (apenas)	4 (16,6)
Basal, suprabasal e porções altas	3 (12,5)
Suprabasal (apenas)	2 (8,3)
Basal e porções altas	1 (4,2)
Localização dérmica	23 (95,8)
Extracelular, no infiltrado inflamatório	21 (87,5)
Parede de vasos dérmicos	20 (83,3)
Intracelular, no infiltrado inflamatório	18 (75,0)
Epitélio anexial	10 (41,6)
Dentro do vaso dérmico	2 (8,3)
Perianexial	4 (16,6)
<b>Carga bacteriana</b>	
+3	15 (62,5)
+2	3 (12,5)
+1	6 (25,0)

Os resultados da revisão dos dados clínicos e dos achados histopatológicos e suas correlações com a IHQ são apresentados nas tabelas 2 e 3. A IHQ foi frequentemente positiva nas amostras de pacientes com sífilis secundária (RP = 1,441) ou com sífilis terciária (RP = 1,286), com sorologia anti-HIV não reagente (RP = 1,444) ou em imunossupressão pelo HIV com CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup> e CV > 1.000 cópias/mL (RP = 1,133). Os resultados positivos também foram mais prevalentes em amostras com dermatite perivascular superficial, profunda e de interface (RP = 1,582) ou com plasmócitos abundantes ++/++ (RP = 1,547). Amostras com dermatite perivascular

superficial e profunda (RP = 0,304) ou plasmócitos +/++ (RP = 0,619) apresentaram mais resultados negativos na IHQ. Entretanto, essas associações não foram consideradas significantes ( $p > 0,05$ ).

## Discussão

Uma descrição clínica e histopatológica dos casos de sífilis e estudo de acurácia diagnóstica da IHQ com anticorpo anti-*T. pallidum* foi realizada. Nosso estudo mostrou alta frequência de sífilis adquirida em homens (76,3%), assim como reportado pela literatura,<sup>1-3</sup> especialmente com relatos entre homens que fazem sexo com homens.<sup>1,13</sup> Sífilis também foi observada em adolescentes e pacientes mais velhos, grupos comumente considerados sem risco ou com baixo risco para a infecção. A fase secundária da doença foi predominante, provavelmente em decorrência da alta frequência de biópsias de pele realizadas nessa fase.

A dermatite de interface associada à dermatite perivascular superficial e profunda (27,5%) e à dermatite perivascular superficial e profunda e perianexial (20%) destacou a mistura de padrões de reação tecidual já reportada.<sup>14</sup> Hiperplasia endotelial também foi frequente (75%), como nos estudos anteriores.<sup>14,15</sup> Plasmócitos foram raros ou ausentes em sete amostras de pele (17,5%), concordando com relatos da literatura de escassez e ausência de plasmócitos em até 25%-33% das amostras.<sup>16-18</sup>

As espiroquetas e sua morfologia típica foram facilmente visualizadas pelo método imuno-histoquímico. Resultados semelhantes são relatados com os mesmos anticorpos,<sup>9</sup> ou anticorpos semelhantes.<sup>6,8</sup> A IHQ como teste diagnóstico forneceu diagnóstico específico de sífilis em 60% dos casos, número que se aproxima de estudos anteriores (71%-100% de sensibilidade).<sup>6,9</sup> Não foi possível determinar a positividade pela técnica de Warthin-Starry (WS). Quatresooz e Piérard, em 2009, mostraram achados semelhantes com resultados inconclusivos ou negativos com a técnica WS devido ao fundo de melanina na epiderme e fibrilas de reticulina na derme.<sup>9</sup> Outros autores, entretanto, encontraram taxas de sensibilidade de 9% e 60% em amostras de pele.<sup>8,10</sup>

**Tabela 2** Associação entre resultados da imuno-histoquímica com anticorpo anti-*T. pallidum* e variáveis clínicas de pacientes com sífilis

Variáveis clínicas	Amostras de pele (n = 40) (%)	IHQ (n = 40) (%)		RP (95% IC)	p-valor <sup>a</sup>
		Positiva (n = 24) (60,0)	Negativa (n = 16) (40,0)		
<i>Sífilis secundária</i>					
Sim	29 (72,5)	19 (47,5)	10 (25,0)	1,441 (0,716-2,900)	0,213 <sup>b</sup>
Não	11 (27,5)	5 (12,5)	6 (15,0)	0,694 (0,345-1,396)	
<i>Sífilis secundo-terciária</i>					
Sim	4 (10,0)	3 (7,5)	1 (2,5)	1,286 (0,685-2,413)	0,471 <sup>b</sup>
Não	36 (90,0)	21 (52,5)	15 (37,5)	0,778 (0,414-1,460)	
<i>Sífilis terciária</i>					
Sim	1 (2,5)	0 (0,0)	1 (2,5)	NA	NA
Não	39 (97,5)	24 (60,0)	15 (37,5)		
<i>Sífilis maligna precoce</i>					
Sim	3 (7,5)	1 (2,5)	2 (5,0)	0,536 (0,106-2,709)	0,348 <sup>b</sup>
Não	37 (92,5)	23 (57,5)	14 (35,0)	1,865 (0,369-9,423)	
<i>Sífilis indeterminada</i>					
Sim	3 (7,5)	1 (2,5)	2 (5,0)	0,536 (0,106-2,709)	0,348 <sup>b</sup>
Não	37 (92,5)	23 (57,5)	14 (35,0)	1,865 (0,369-9,423)	
<i>Coinfecção HIV</i>					
Sim	22 (55,0)	11 (27,5)	11 (27,5)	0,692 (0,417-1,149)	0,154
Não	18 (45,0)	13 (32,5)	5 (12,5)	1,444 (0,870-2,397)	
<i>CD4 &lt; 200 células/mm<sup>3</sup></i>					
Sim	7 (17,5)	4 (10,0)	3 (7,5)	0,943 (0,469-1,895)	0,592 <sup>b</sup>
Não	33 (82,5)	20 (50,0)	13 (32,5)	1,061 (0,528-2,132)	
<i>CV &gt; 1.000 cópias</i>					
Sim	10 (25,0)	6 (15,0)	4 (10,0)	1,000 (0,557-1,794)	0,64 <sup>b</sup>
Não	30 (75,0)	18 (45,0)	12 (30,0)	1,000 (0,557-1,794)	
<i>CD4 &lt; 200 e CV &gt; 1.000 cópias</i>					
Sim	6 (15,0)	4 (10,0)	2 (5,0)	1,133 (0,602-2,132)	0,544 <sup>b</sup>
Não	34 (85,0)	20 (50,0)	14 (35,0)	0,882 (0,469-1,660)	

IHQ, imuno-histoquímica; CV, carga viral HIV; RP, razão de prevalência; 95% IC, intervalo de confiança de 95%; NA, não aplicável, poucos casos.

<sup>a</sup> p-valor por teste Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ).

<sup>b</sup> Teste exato de Fisher.

As espiroquetas podem predominar na derme<sup>6</sup> ou na epiderme de lesões de pele da sífilis secundária.<sup>7,8</sup> A maioria dos nossos casos apresentava espiroquetas tanto na derme quanto na epiderme, e a alta carga bacteriana (3+) foi predominante. Esses resultados indicam que os micro-organismos ainda estão difusamente disseminados na pele durante a fase secundária da doença.

Na epiderme, as espiroquetas localizaram-se principalmente na camada basal ou suprabasal, e em 62,5% das amostras não foram observadas na parte mais alta, ao contrário dos resultados de Phelps et al., que raramente observaram espiroquetas nas porções mais baixas da epiderme.<sup>8</sup> O achado de espiroquetas no epitélio folicular e ao redor dos anexos em 58,3% das amostras positivas apoiam ainda mais a teoria de epiteliotropismo do micro-organismo.<sup>7</sup>

As alterações vasculares são componentes importantes da resposta inflamatória tecidual na sífilis. Hiperplasia endotelial foi achado comum e evidente, e numerosas espiroquetas imunomarcadas foram detectadas nas paredes

dos vasos. Martin-Ezquerria et al. também encontraram um padrão vasculotrópico – porém, principalmente nas lesões de sífilis primária.<sup>7</sup>

Nenhuma correlação significativa entre IHQ e características clínicas ou histopatológicas foi observada. No entanto, a prevalência de resultados positivos pela IHQ foi alta em amostras de pacientes sem coinfeção pelo HIV (RP = 1,444) e naqueles com imunossupressão pelo HIV com CD4 < 200 células/mm<sup>3</sup> e CV > 1,000 cópias/mL (RP = 1,133). Esses resultados sugerem que a infecção pelo HIV por si só não teve impacto principal na detecção de espiroquetas, mas o estado de imunossupressão pode influenciar a disseminação de espiroquetas nas amostras de sífilis. Similar aos nossos achados, pesquisas anteriores reportaram alta carga bacteriana em amostras de pele de pacientes com contagem de CD4 < 250 células<sup>10</sup> ou em estados de imunossupressão associados com sífilis maligna precoce.<sup>11</sup>

As amostras cutâneas de sífilis com dermatite perivascular superficial e profunda e de interface e com

**Tabela 3** Associação entre resultados da imuno-histoquímica com anticorpo anti-*T. pallidum* e alterações histopatológicas nas amostras de pele de pacientes com sífilis

Amostras de pele (n = 40) (%)	IHQ (n = 40) (%)		RP (95% IC)	p-valor <sup>a</sup>
	Positiva (n = 24) (60,0)	Negativa (n = 16) (40,0)		
<i>Padrões de reações teciduais perivasculares superficiais apenas</i>				
Sim	7 (17,5)	3 (7,5)	0,673 (0,276-1,646)	0,273 <sup>b</sup>
Não	33 (82,5)	21 (52,5)	1,485 (0,608-3,628)	
<i>Dermatite perivascular superficial</i>				
Sim	1 (2,5)	0	NA	NA
Não	39 (97,5)	24 (60,0)	15 (37,5)	
<i>Dermatite perivascular superficial e de interface</i>				
Sim	4 (10,0)	2 (5,0)	0,818 (0,297-2,255)	0,529 <sup>b</sup>
Não	36 (90,0)	22 (55,0)	1,222 (0,443-3,369)	
<i>Dermatite perivascular superficial, espongíótica e psoriasiforme</i>				
Sim	1 (2,5)	1 (2,5)	NA	NA
Não	39 (97,5)	23 (57,5)	16 (40,0)	
<i>Dermatite psoriasiforme e de interface</i>				
Sim	1 (2,5)	0	NA	NA
Não	39 (97,5)	24 (60,0)	15 (37,5)	
<i>Padrões de reações teciduais perivasculares superficiais e profundas</i>				
Sim	33 (82,5)	21 (52,5)	1,485 (0,608-3,628)	0,273 <sup>b</sup>
Não	7 (17,5)	3 (7,5)	0,673 (0,276-1,646)	
<i>Dermatite perivascular superficial e profunda</i>				
Sim	5 (12,5)	1 (2,5)	0,304 (0,052-1,786)	0,073 <sup>b</sup>
Não	35 (87,5)	23 (57,5)	3,286 (0,560-19,276)	
<i>Dermatite perivascular superficial, profunda e perianexial</i>				
Sim	3 (7,5)	2 (5,0)	1,121 (0,482-2,606)	0,652 <sup>b</sup>
Não	37 (92,5)	22 (55,0)	0,892 (0,384-2,073)	
<i>Dermatite perivascular superficial, profunda e de interface</i>				
Sim	11 (27,5)	9 (22,5)	1,582 (1,010-2,477)	0,083 <sup>b</sup>
Não	29 (72,5)	15 (37,5)	0,632 (0,404-0,990)	
<i>Dermatite perivascular superficial, profunda, de interface e perianexial</i>				
Sim	8 (20,0)	5 (12,5)	1,053 (0,573-1,934)	0,601 <sup>b</sup>
Não	32 (80,0)	19 (47,5)	0,950 (0,517-1,746)	
<i>Dermatite de interface e nodular</i>				
Sim	1 (2,5)	1 (2,5)	NA	NA
Não	39 (97,5)	23 (57,5)	16 (40,0)	
<i>Dermatite perivascular superficial, profunda, de interface e psoriasiforme</i>				
Sim	2 (5,0)	0	NA	NA
Não	38 (95,0)	24 (60,0)	14 (35,0)	
<i>Dermatite perivascular superficial, profunda, de interface, perianexial e psoriasiforme</i>				
Sim	2 (5,0)	2 (5,0)	NA	NA
Não	38 (95,0)	22 (55,0)	16 (40,0)	
<i>Dermatite espongíótica, de interface e nodular</i>				
Sim	1 (2,5)	1 (2,5)	NA	NA
Não	39 (97,5)	23 (57,5)	16 (40,0)	
<i>Melanóforos</i>				
Sim	20 (50,0)	11 (27,5)	0,845 (0,508-1,410)	0,519
Não	20 (50,0)	13 (32,5)	1,182 (0,709-1,969)	
<i>Plasmócitos ++/++</i>				
Sim	19 (47,5)	14 (35,0)	1,547 (0,917-2,610)	0,093
Não	21 (52,5)	10 (25,0)	0,646 (0,383-1,090)	
<i>Plasmócitos +/-++</i>				
Sim	14 (35,0)	6 (15,0)	0,619 (0,321-1,194)	0,104
Não	26 (65,0)	18 (45,0)	1,615 (0,838-3,116)	
<i>Ausência de plasmócitos</i>				
Sim	7 (17,5)	4 (10,0)	0,943 (0,469-1,895)	0,601
Não	33 (82,5)	20 (50,0)	1,061 (0,528-2,132)	
<i>Granulomas</i>				
Sim	17 (42,5)	11 (27,5)	1,145 (0,693-1,891)	0,601
Não	23 (57,5)	13 (32,5)	0,874 (0,529-1,443)	
<i>Hiperplasia endotelial</i>				
Sim	30 (75,0)	18 (45,0)	1,000 (0,557-1,794)	0,640 <sup>b</sup>
Não	10 (25,0)	6 (15,0)	1,000 (0,557-1,794)	

IHQ, imuno-histoquímica; (++/++), > 30% do infiltrado inflamatório; (+/++), < 30% do infiltrado inflamatório; RP, razão de prevalência; IC 95%, intervalo de confiança de 95%; NA, não aplicável, poucos casos.

<sup>a</sup> p-valor por Qui-Quadrado ( $\chi^2$ ).

<sup>b</sup> Teste exato de Fischer.

plasmócitos visíveis no infiltrado (++) mostraram alta prevalência de resultados positivos na IHQ em comparação com amostras sem esses achados (RP=1,582; RP=1,547, respectivamente). Ao contrário, amostras com dermatite perivascular superficial e profunda (RP=0,304) ou poucos plasmócitos (+/++; RP=0,619) sugerem que mesmo com resultados negativos na IHQ, o diagnóstico da sífilis não pode ser excluído.

## Conclusão

A detecção de antígenos no protocolo de IHQ realçou espiroquetas de *Treponema pallidum* e possibilitou diagnóstico indubitável de sífilis nas amostras teciduais. A impregnação por WS foi considerada ineficiente na detecção da bactéria e não ofereceu nenhuma contribuição para o diagnóstico específico da doença.

## Comitês éticos

Os comitês éticos do Hospital Clementino Fraga Filho (HUCFF) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) e do Instituto Nacional de Doenças Infecciosas Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Brasil, aprovaram o estudo. Os comitês dispensaram informe de consentimento porque nenhuma informação de identificação pessoal foi incluída no conjunto de dados usado para análise.

## Suporte financeiro

Nenhum.

## Contribuição dos autores

Mariana Freitas de Assis Pereira Rosa: Concepção e o desenho do estudo; levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; análise estatística; redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

Leonardo Pereira Quintella: Concepção e o desenho do estudo; levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; análise estatística; redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

Luiz Claudio Ferreira: Levantamento dos dados; obtenção, análise e interpretação dos dados.

Tullia Cuzzi: Concepção e o desenho do estudo; levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; análise estatística; redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; obtenção, análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

## Conflito de interesses

Nenhum.

## Referências

1. Stamm LV. Syphilis: Re-emergence of an old foe. *Microb Cell*. 2016;3:363–70.
2. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sífilis 2019: Boletim Epidemiológico. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2019.
3. [indicadorestifilis.aids.gov.br/](http://indicadorestifilis.aids.gov.br/) [Internet]. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Indicadores e dados básicos da sífilis nos municípios brasileiros. [cited 2021 Apr 6]. Available from: <http://indicadorestifilis.aids.gov.br/>.
4. Garvey W. Silver impregnation techniques to identify spirochetes and other bacteria. *J Histotechnol*. 1996;19:203–9.
5. Kiernan JA. Silver staining for spirochetes in tissues: Rationale, difficulties, and troubleshooting. *Lab Med*. 2002;33:705–8.
6. Hoang MP, High WA, Molberg KH. Secondary syphilis: A histologic and immunohistochemical evaluation. *J Cutan Pathol*. 2004;31:595–9.
7. Martín-Ezquerria G, Fernandez-Casado A, Barco D, Jucglà 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.
8. Phelps RG, Knispel J, Tu ES, Cernainu G, Saruk M. Immunoperoxidase technique for detecting spirochetes in tissue sections: Comparison with other methods. *Int J Dermatol*. 2000;39:609–13.
9. Quatresooz P, Piérard GE. Skin homing of *Treponema pallidum* in early syphilis: An immunohistochemical study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2009;17:47–50.
10. Rosa G, Procop GW, Schold JD, Piliang MP. Secondary syphilis in HIV positive individuals: correlation with histopathologic findings CD4 counts, and quantity of treponemes in microscopic sections. *J Cutan Pathol*. 2016;43:847–51.
11. Cid PM, Cudós ES, Zamora Vargas FX, Merino MJB, Pinto PH. Pathologically confirmed malignant syphilis using immunohistochemical staining: Report of 3 cases and review of the literature. *Sex Transm Dis*. 2014;41:94–7.
12. Luna LG. *Manual of Histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology* 3. ed. New York: McGraw-Hill; 1969. p. 238–40.
13. Luppi CG, Gomes SEC, Silva RJC, Ueno AM, Santos AMK, Tayra A, et al. Fatores associados à coinfeção por HIV em casos de sífilis adquirida notificados em um Centro de Referência de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids no município de São Paulo, 2014. *Epidemiol Serv Saúde*. 2018;27:e20171678.
14. Jeerapaet P, Ackerman AB. Histologic Patterns of Secondary Syphilis. *Arch Dermatol*. 1973;107:373–7.
15. Flamm A, Parikh K, Xie Q, Kwon EJ, Elston DM. Histologic features of secondary syphilis: A multicenter retrospective review. *J Am Acad Dermatol*. 2015;73:1025–30.
16. Abell E, Marks R, Jones EW. Secondary syphilis: a clinic-pathological review. *Br J Dermatol*. 1975;93:53–61.
17. Carlson JA, Dabiri G, Cribier B, Sell S. The immunopathobiology of syphilis: The manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *Am J Dermatopathol*. 2011;33:433–60.
18. Patterson JW. *Weedons's Skin Pathology* 4. ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2016. p. 674–8.