

# Reatividade do anticorpo IgM anti-*Treponema pallidum* na soroconversão e na resposta sorológica ao tratamento de sífilis

Primeira submissão em 27/07/11  
Última submissão em 12/07/12  
Aceito para publicação em 13/11/12  
Publicado em 20/12/12

## *IgM antibody reactivity to Treponema pallidum in seroconversion and in the serologic response to syphilis treatment*

Neuza Satomi Sato<sup>1</sup>; Lia Carmen Monteiro da Silva Zerbini<sup>2</sup>; Carmen Silvia de Melo<sup>3</sup>; Edilene Perez Real da Silveira<sup>3</sup>; Patricia Mantovani<sup>4</sup>; Maria Cláudia Nascimento<sup>5</sup>; Mirthes Ueda<sup>6</sup>

unitermos	resumo
Sífilis	<p><b>Introdução:</b> A utilidade da detecção de anticorpos da imunoglobulina da classe M (IgM) no diagnóstico da sífilis tem sido discutida há tempos. <b>Objetivo:</b> No presente estudo foi analisada a ocorrência de anticorpo IgM anti-<i>T. pallidum</i> (Tp-IgMAc) nas amostras de pacientes com sífilis recente, na fase de soroconversão e no monitoramento da resposta sorológica pós-tratamento. <b>Métodos:</b> Amostras séricas de 11 indivíduos. <b>Resultados:</b> Na soroconversão, o Tp-IgMAc foi detectado nas amostras de 10 indivíduos, e em um paciente a reatividade IgM ocorreu anteriormente ao <i>Venereal Disease Research Laboratory</i> (VDRL). A sororreversão foi evidenciada nas amostras de três pacientes com sífilis secundária tratada, e em um indivíduo com reinfecção. <b>Conclusão:</b> A detecção de Tp-IgMAc mostrou ser um potencial marcador diagnóstico de sífilis ativa e o desempenho do ensaio imunoenzimático de captura de IgM (ELISA-IgM) para o monitoramento pós-tratamento foi similar ao da VDRL.</p>
<i>Treponema pallidum</i>	
IgM	
Soroconversão	
Sororreversão	

## abstract

**Introduction:** The appropriateness of IgM antibody detection in the diagnosis of syphilis has been extensively discussed. **Objective:** This study aimed at assessing the detection of anti-*T. pallidum* IgM antibody (TP-IgMAb) in serum samples from patients with recent syphilis in seroconversion and in the monitoring of post-treatment serological response. **Methods:** Serum samples from 11 individuals. **Results:** At seroconversion, positive TP-IgMAb was detected in 10 samples and IgM reactivity previous to Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) was detected in one sample. Seroreversion was found in samples from three treated patients with secondary syphilis and in one individual with reinfection. **Conclusion:** TP-IgMAb detection proved to be a potential diagnostic marker for active syphilis, and IgM capture enzyme linked immunosorbent assay (ELISA-IgM) performance was similar to VDRL in post-treatment monitoring.

## key words

*Syphilis*  
*Treponema pallidum*  
*IgM antibody*  
*Seroconversion*  
*Seroreversion*

1. Doutora em Análises Clínicas pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo (FCF-USP); pesquisadora científica do Instituto Adolfo Lutz (IAL).
2. Biomédica; assistente de pesquisa do IAL.
3. Mestra em Saúde Pública pela Faculdade de Saúde Pública da USP (FSP-USP); pesquisadora científica do IAL.
4. Farmacêutica; supervisora do Setor de Bioquímica e Urgência do Instituto de Assistência Médica do Servidor Público Estadual.
5. Doutora em Medicina pela USP; pesquisadora líder da Faculty of Infectious Disease and Tropical Diseases, London School of Hygiene and Tropical Medicine, UK.
6. Doutora em Imunologia pelo Instituto de Ciências Biomédicas da USP (ICB-USP); pesquisadora científica do IAL.

## Introdução

A detecção de marcadores imunológicos é uma ferramenta em potencial no diagnóstico de infecção por *T. pallidum*. Os ensaios sorológicos convencionais baseiam-se na detecção de anticorpos não treponêmicos ou cardiolípidicos, como triagem, e de anticorpos treponêmicos como testes confirmatórios. Os testes cardiolípidicos, apesar de demonstrarem menor sensibilidade e especificidade, são empregados no monitoramento terapêutico por apresentarem boa correlação com a doença em atividade e tornarem-se negativos após eficaz tratamento<sup>(1, 5)</sup>.

Estudos referentes à detecção de anticorpos da imunoglobulina da classe M (IgM) anti-*T. pallidum* (Tp-IgMAC) no imunodiagnóstico da sífilis têm sido conflitantes, dependendo do teste diagnóstico empregado.

Os ensaios de detecção de Tp-IgMAC, como o ensaio imunoenzimático de captura de IgM (ELISA-IgM), têm sido promissores no diagnóstico da sífilis congênita<sup>(12)</sup> e da primária<sup>(6-8)</sup> na constatação da primo e reinfeção<sup>(12)</sup> e no monitoramento terapêutico<sup>(9, 11)</sup>.

Neste estudo, foi avaliada a pesquisa de Tp-IgMAC nas amostras de pacientes com sífilis recente, na fase de soroconversão e na resposta sorológica pós-tratamento.

## Material e métodos

### Casuística

Foram analisadas as amostras estocadas, coletadas de 11 indivíduos do total de 1.059 participantes do Projeto Bela Vista, estudo de *coorte* de indivíduos homossexuais do sexo masculino ( $\geq 18$  anos) e não usuários de drogas, para investigar incidência da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e seus fatores determinantes. Esse estudo foi realizado de agosto de 1994 a dezembro de 1998, e os participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido. Na presente pesquisa, dos 11 indivíduos que apresentaram soroconversão na sorologia para sífilis, quatro foram monitorados pós-tratamento. As amostras de sangue foram coletadas no momento da adesão ao estudo (primeira amostra-tempo zero) e a cada seis meses ao longo do projeto<sup>(13)</sup>.

No período do estudo, dos 11 indivíduos analisados, quatro (3, 4, 7 e 8) não apresentaram sinais e sintomas de outras doenças sexualmente transmissíveis (DSTs). A uretrite não gonocócica (UNG) foi diagnosticada em dois

indivíduos (9 e 10), que foram tratados no período anterior à soroconversão para sífilis; um deles (1) apresentou escabiose genital concomitante à sífilis primária. Sorologia positiva para hepatite B foi detectada no indivíduo 5 na primeira consulta; a soroconversão para HIV foi observada no paciente 11 na amostra coletada na segunda consulta e ele também apresentou, concomitantemente, manifestações de impetigo, dermatite e urticária; e dois (2 e 6) relataram história de sífilis tratada há mais de cinco anos.

### Testes sorológicos para sífilis

As amostras foram analisadas por *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) (Behring, Germany) e fluorescent treponemal antibody – absorption (FTA-Abs) (Biolab-Mèrieux, Brasil) e, posteriormente, por hemaglutinação para *Treponema pallidum* (TPHA) (Organon-Teknica, Asko-Nobel e Netherland) e/ou TP-ELISA-imunoglobulinas totais (Randox Laboratories, UK), os quais foram executados seguindo-se as instruções das respectivas firmas fabricantes.

A pesquisa de Tp-IgMAC foi efetuada empregando-se o teste imunoenzimático de captura Captia Syphilis-M (Cenacor, EUA/Trinity Biotech), que foi realizado seguindo-se as recomendações da firma fabricante. Resumidamente, os anticorpos da classe IgM (IgMAC) são capturados pelos anticorpos anticadeia  $\mu$  de IgM humano, imobilizados nas superfícies das cavidades da placa. Os IgMAC específicos reagem com o complexo conjugado (constituído de anticorpo monoclonal antiantígenos específicos de *T. pallidum* marcado com biotina e estreptavidina conjugado à peroxidase). A enzima ligada à placa é revelada pelo substrato cromogênico tetrametilbenzidina (TMB). O anticorpo monoclonal anti-*T. pallidum* incluído no complexo conjugado, juntamente com o sistema de amplificação de sinal biotina/avidina-peroxidase, promove uma reação específica e de forte intensidade.

## Resultados

As características clínicas de sífilis dos 11 indivíduos estão descritas na **Tabela**. Dos 11 pacientes analisados, não houve confirmação clínica no 10 (sem retorno após a coleta da quarta amostra de sangue) e no 11 (soroconversão para HIV na segunda amostra de soro). Todos os pacientes, exceto o 11, apresentaram Tp-IgMAC positivo. Na amostra do paciente 8, a positividade do Tp-IgMAC ocorreu antes da reatividade nos VDRL e FTA-abs; a amostra coletada na

**Tabela** Reatividade dos testes sorológicos (soroconversão) realizados nas amostras coletadas de 11 pacientes com diagnóstico clínico em diferentes estágios da sífilis

Paciente	Estágio sífilis	Resultado do teste sorológico					Coleta da amostra (nº da consulta, tempo de participação no estudo)	Observação
		VDRL	IR-IgM	IR-Ig total	FTA-abs	TPHA		
1	Primária	N	0,39	0,86	N	/	3ª consulta; 27º mês	Diagnóstico de escabiose genital na 4ª consulta
		8	4,54	2,68	P	/	4ª consulta; 28º mês	
2	Primária oral	N	0,21	1,86	P	/	1ª consulta	História de sífilis tratada há cinco anos
		16	1,95	6,84	P	/	2ª consulta; 7º mês	
3	Primária	32	3,65	3,92	P	/	1ª consulta	Tratamento na 1ª consulta Novo tratamento na 2ª consulta
	Secundária	64	3,82	3,58	P	/	2ª consulta; 2º mês	
4*	Secundária	N	0,37	0,75	N	/	2ª consulta; 6º mês	
		64	6,21	2,57	P	/	3ª consulta; 15º mês	
5*	Secundária	N	0,42	1,57	N	N	2ª consulta; 6º mês	Sorologia positiva para hepatite B na 1ª consulta
		4	3,50	7,45	P	P	3ª consulta; 15º mês	
6*	Secundária	N	0,52	3,55	P	P	2ª consulta; 10º mês	História de sífilis tratada há 10 anos
		32	2,40	3,56	P	P	3ª consulta; 16º mês	
7	Secundária	4	4,60	1,76	N	N	3ª consulta; 11º mês	
		64	6,83	3,56	P	P	4ª consulta; 12º mês	
8	Secundária	N	6,15	2,99	N	/	1ª consulta	
		16	2,20	5,00	P	/	2ª consulta; 8º mês	
9*	Latente recente	1	1,55	2,39	N	/	3ª consulta; 12º mês	Diagnóstico de UNG e tratamento na 2ª consulta Diagnóstico de uretrite de repetição na 6ª consulta
		16	2,60	7,87	P	/	4ª consulta; 18º mês	
10	Sem diagnóstico clínico	N	0,49	0,76	N	/	3ª consulta; 20º mês	Diagnóstico de UNG e tratamento na 1ª consulta
		1	4,37	1,18	P	/	4ª consulta; 27º mês	
11	Sem diagnóstico de sífilis	N	0,31	1,41	N	/	1ª consulta	Diagnóstico de impetigo, dermatite e urticária na 2ª consulta, cuja amostra apresentou sorologia positiva para HIV
		4	0,69	2,39	P	/	2ª consulta; 7º mês	

VDRL: Venereal Disease Research Laboratory; IR: índice de reatividade; IgM: imunoglobulina da classe M; Ig: imunoglobulina; FTA-abs: fluorescent treponemal antibody – absorption; TPHA: hemaglutinação para *Treponema pallidum*; P: positivo; N: negativo; UNG: uretrite não gonocócica.

(\*) pacientes que receberam monitoramento pós-tratamento.

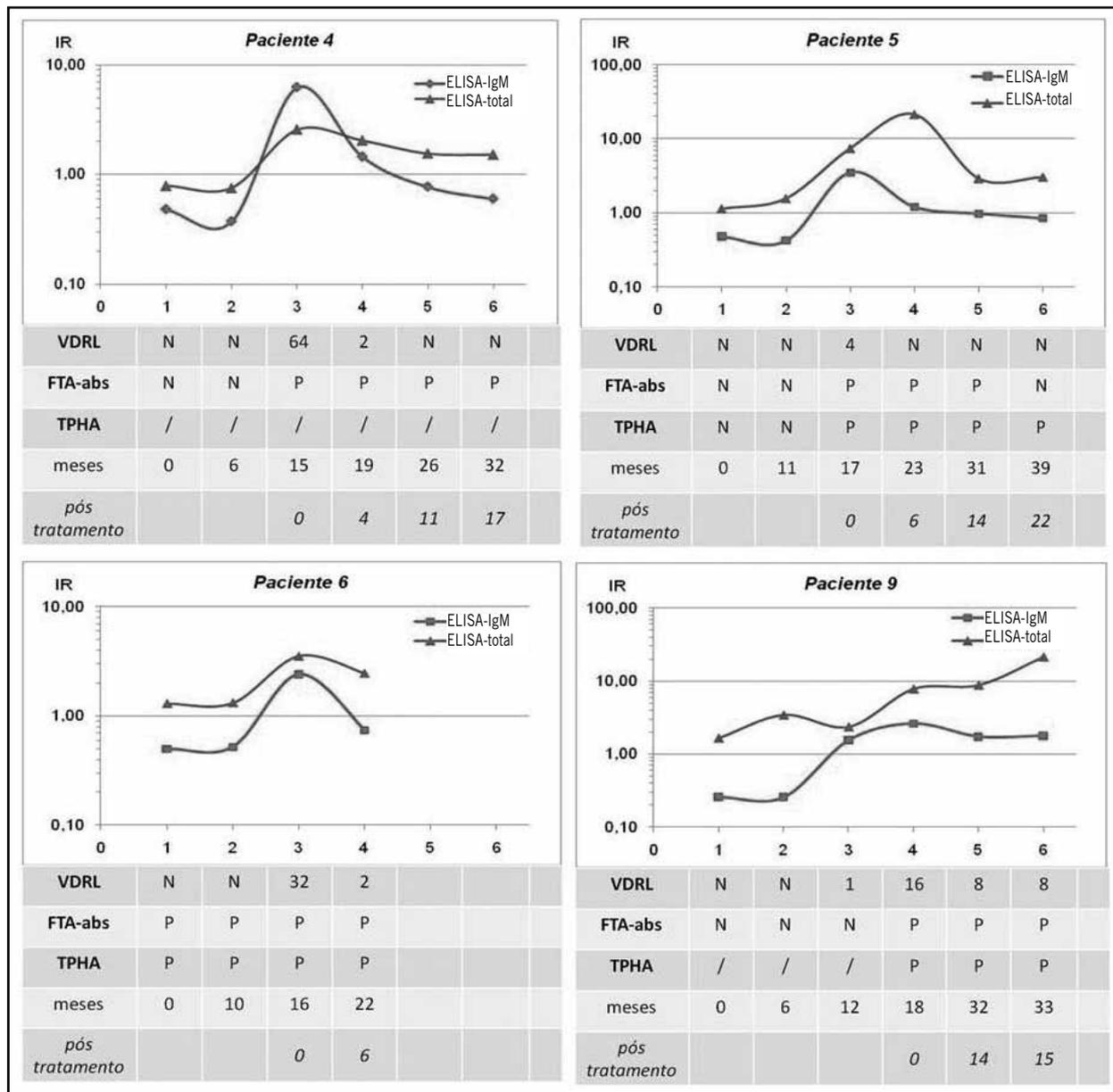
primeira consulta apresentou alta reatividade de Tp-IgMac (índice de reatividade (IR) = 6,15), oito meses antes da coleta da segunda amostra, na ocasião em que houve diagnóstico de sífilis secundária. A soroconversão nos VDRL e ELISA-IgM ocorreu antes da positividade nos FTA-abs e TPHA nos pacientes 7 e 9.

Os valores numéricos na coluna de VDRL representam o título da amostra positiva no teste; o IR demonstra os níveis de anticorpos detectados por meio do ELISA; a IgM e a imunoglobulina (Ig)-total foram expressas pelo IR, em que IR = 1 indica resultado positivo e IR < 1, resultado negativo. A (/) simboliza que o teste não foi realizado. O

número da consulta indica a consulta na qual a amostra foi coletada; o tempo de participação no estudo apresenta o período correspondente no momento da coleta da amostra, em número de meses; e a observação, informações sobre outras infecções, quando presentes.

O monitoramento pós-tratamento foi efetuado em quatro dos 11 pacientes analisados, cujos perfis de reatividade e soroconversão e a resposta sorológica pós-tratamento estão demonstrados na **Figura** abaixo.

A Figura apresenta os perfis de reatividade de anticorpos anti-*T. pallidum* detectados nas amostras de quatro pacientes no monitoramento pós-tratamento por meio



**Figura** – Perfil de anticorpos na soroconversão e no monitoramento pós-tratamento de pacientes com sífilis

IR: Índice de reatividade; IgM: imunoglobulina da classe G; ELISA-IgM: ensaio imunoenzimático de captura de IgM; VDRL: Venereal Disease Research Laboratory; FTA-abs: fluorescent treponemal antibody – absorption; TPHA: hemaglutinação para *Treponema pallidum*.

de ELISA. O ELISA Ig-total (triângulo) e o ELISA-IgM (quadrado) demonstram que as reatividades foram expressas em IR (razão densidade ótica observada na amostra/cut off da reação); valor IR > 1 indica resultado positivo e IR ≤ 1, resultado negativo. Os valores numéricos na coluna de VDRL representam o título de positividade da amostra no teste; as ( / ), teste não realizado; meses, período de tempo de participação no estudo; e pós-tratamento, número de meses após a terapêutica.

O diagnóstico clínico dos pacientes 4 e 5 foi supostamente de primo-infecção por não haver relato de história anterior de sífilis. O paciente 6 relatou história de sífilis tratada há 10 anos, sugerindo tratar-se de reinfecção. Para o paciente 9, não houve disponibilidade de informação de infecção prévia por *T. pallidum*.

Houve desistência do paciente 6 após o tratamento, contudo, pela ocorrência de queda de quatro títulos na VDRL no período de seis meses, há indicação de que o tratamento foi eficaz, considerando-se a reversão completa no ELISA-IgM pela amostra coletada nessa consulta.

De modo geral, a positividade de Tp-IgMAC foi concomitante com a VDRL reagentes. A sororreversão completa do Tp-IgMAC foi detectada entre seis e 14 meses pós-tratamento, exceto no paciente 9.

A resposta sorológica pós-tratamento avaliada na amostra coletada de paciente 9 não foi expressiva pela ausência de mudança significativa de reatividade na VDRL, cuja queda foi apenas de um título (de 16 para oito), e o ELISA-IgM permaneceu positivo mesmo após 15 meses pós-tratamento.

A sororreversão completa em ambos, VDRL e Elisa-IgM, foi verificada nos indivíduos 4 e 5. Neste, foi observada sororreversão no FTA-abs nos 22 meses pós-tratamento.

## Discussão

Embora não haja concordância quanto à utilidade de pesquisa de Tp-IgMAC no imunodiagnóstico da sífilis, os estudos recentes mostram que presença desse anticorpo é um marcador em potencial da doença ativa<sup>(8, 9, 11)</sup>.

No manual publicado pelo Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças, a pesquisa de Tp-IgMAC é recomendada na análise de amostras de pacientes com suspeita de sífilis primária quando a VDRL e o *rapid plasma reagin* (RPR) são negativos, bem como no monitoramento terapêutico<sup>(2)</sup>.

Na casuística analisada neste estudo, o perfil de reatividade das amostras do paciente 9 nos testes sorológicos foi

incomum. As amostras, coletadas no início da participação dos pacientes no estudo, foram reagentes somente no ELISA-Ig-total (TPHA não realizado); o ELISA-IgM tornou-se positivo, em baixo IR, somente na amostra da terceira visita (no 12º mês de acompanhamento). Na quarta consulta, a amostra de soro mostrou positividade em todos os testes sorológicos e o paciente foi diagnosticado como portador de sífilis latente recente e tratado; na amostra coletada aos 15 meses pós-tratamento, houve declínio de apenas um título na VDRL. Houve desistência deste paciente, o que impossibilitou o acompanhamento, e na averiguação nos 22º a 24º meses pós-tratamento, ocorreria queda de dois ou mais títulos no VDRL. Outrossim, Tp-IgMAC positivo poderia ser indicativo de paciente refratário ao tratamento. As reatividades sorológicas incomuns nas amostras desse paciente e sua resposta imune podem ser inferidas em algumas situações inerentes às características imunológicas/biológicas como causas desses resultados.

O monitoramento pós-tratamento é crucial, contudo há dificuldades em avaliar precisamente os dados, visto que muitos pacientes não cumprem o acompanhamento terapêutico completo<sup>(3, 4, 10)</sup>.

Apesar de limitado número de amostras analisadas neste estudo, os dados constatados são consistentes e condizentes com os relatados de outros investigadores<sup>(6, 9, 11)</sup>.

Os soros dos quatro voluntários, nos quais houve efetivo seguimento de tratamento, a reatividade do ELISA-IgM demonstrou desempenho igual ao da VDRL; a positividade de Tp-IgMAC ocorreu concomitantemente à reatividade na VDRL.

Este estudo apresenta limitações quanto à análise por testes estatísticos em virtude do pequeno número de amostras avaliadas.

Considerando-se os dados resultantes deste estudo, há indicação de que a pesquisa de Tp-IgMAC é relevante, sendo um marcador imunológico confiável de sífilis ativa.

## Agradecimentos

Ao Dr. José da Rocha Cavalheiro e à Dra. Mary Jane P. Spink, principais investigadores do Projeto Bela Vista, pela disponibilização dos dados do estudo de *coorte*, bem como à Dra. Gerusa Figueiredo, coordenadora da área clínica do Projeto Bela Vista. À Dra. S. R. Oliveira, do Centro de Referência e Treinamento em Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids (CRT-DST/Aids), pelas discussões a respeito do diagnóstico clínico dos pacientes.

## Referências

1. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Congenital syphilis – United States, 2003-2008. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, v. 59, p. 413-7, 2010.
2. FRENCH, P. *et al.* IUSTI: 2008 European guidelines on the management of syphilis. *Int J STD AIDS*, v. 20, p. 300-9, 2009.
3. GHANEM, K. G. *et al.* Serological response to syphilis treatment in HIV-positive and HIV-negative patients attending sexually transmitted diseases clinics. *Sex Transm Infect*, v. 83, p. 97-101, 2007.
4. GONZALEZ-LOPEZ, J. J. *et al.* Factors determining serologic response to treatment in patients with syphilis. *Clin Infect Dis*, v. 49, p. 1505-11, 2009.
5. LARSEN, S. A.; STEINER, B. M.; RUDOLPH, A. H. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev*, v. 8, p. 1-21, 1995.
6. LEFEVRE, J. C.; BERTRAND, M. A.; BAURIAUD, R. Evaluation of the captia enzyme immunoassays for detection of immunoglobulins G and M to *Treponema pallidum* in syphilis. *J Clin Microbiol*, v. 28, p. 1704-7, 1990.
7. MANAVI, K.; YOUNG, H.; MCMILLAN, A. The sensitivity of syphilis assays in detecting different stages of early syphilis. *Int J STD AIDS*, v. 17, p. 768-71, 2006.
8. MANAVI, K.; MCMILLAN, A. The outcome of treatment of early latent syphilis and syphilis with undetermined duration in HIV-infected and HIV-uninfected patients. *Int J STD AIDS*, v. 18, p. 814-8, 2007.
9. MCMILLAN, A.; YOUNG, H. Reactivity in the Venereal Diseases Research Laboratory test and the Mercia(R) IgM enzyme immunoassay after treatment of early syphilis. *Int J STD AIDS*, v. 19, p. 689-93, 2008.
10. ROMANOWSKI, B. *et al.* Serologic response to treatment of infectious syphilis. *Ann Intern Med*, v. 114, p. 1005-9, 1991.
11. ROTTY, J. *et al.* Preliminary assessment of *Treponema pallidum*-specific IgM antibody detection and a new rapid point-of-care assay for the diagnosis of syphilis in human immunodeficiency virus-1-infected patients. *Int J STD AIDS*, v. 21, p. 758-64, 2010.
12. SCHMIDT, B. L. *et al.* Specific IgM tests in syphilis diagnosis. *Hautarzt*, v. 45, p. 685-9, 1994.
13. ZERBINI, L. C. M. S. *et al.* Antibody production profile in individuals with seroconversion to syphilis in population enrolled in cohort study – Bela Vista project. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*, p. S65, 1999.

---

### Endereço para correspondência

Neuza Satomi Sato  
Centro de Imunologia  
Instituto Adolfo Lutz  
Av. Dr. Arnaldo, 355, 10º andar  
CEP: 01246-902 – Cerqueira César  
São Paulo-SP