



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
INSTITUTO MULTIDISCIPLINAR EM SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS

LORENA D'OLIVEIRA GUSMÃO

SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS EM MULHERES
ATENDIDAS EM UNIDADES DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO
MUNICÍPIO DE VITÓRIA DA CONQUISTA (BA)

Vitória da Conquista, BA

2016

LORENA D'OLIVEIRA GUSMÃO

**SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS EM MULHERES
ATENDIDAS EM UNIDADES DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO
MUNICÍPIO DE VITÓRIA DA CONQUISTA (BA)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia, como requisito para obtenção do título de Mestre em Biociências.

Orientador: Prof. Dr. Lucas Miranda Marques
Universidade Federal da Bahia – UFBA

Vitória da Conquista, BA

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

LORENA D'OLIVEIRA GUSMÃO

**SOROPREVALÊNCIA DE SÍFILIS EM MULHERES
ATENDIDAS EM UNIDADES DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO
MUNICÍPIO DE VITÓRIA DA CONQUISTA (BA)**

Esta dissertação foi julgada adequada à obtenção do grau de Mestre em Biociências e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade Federal da Bahia. Vitória da Conquista – BA, 18 de Abril de 2016.

Prof. Dr. Lucas Miranda Marques (orientador)

Universidade Federal da Bahia

Prof^a. Dr^a Tiana Baqueiro Figueiredo

Universidade Federal da Bahia

Prof. Dr. Márcio Vasconcelos Oliveira

Universidade Federal da Bahia

A minha mãe, irmãos, meu esposo a quem tanto amo, meus filhos queridos, minha avó e tias, minha sogra e a toda minha família que, com muito carinho e apoio, não mediram esforços para que vencesse mais esta etapa de minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos mais difíceis, me dar força para superar as dificuldades, mostrar os caminhos nos momentos incertos e me prover em todas as minhas necessidades.

Ao meu orientador Lucas, por acreditar em mim, me mostrar esse maravilhoso caminho da ciência, entender minhas limitações e dificuldades com muita paciência, fazendo parte desta caminhada ao meu lado, sempre disponível, partilhando experiência, sou realmente muito grata, as palavras não traduzem a realidade do meu sentimento.

A Márcio Vasconcelos primeiramente pelo incentivo e auxílio no primeiro passo, momento decisivo para o início desta caminhada, mais tarde como se não bastasse a doação também na fase experimental, compartilhando sua experiência, sempre com muita paciência e generosidade.

Aos meus amigos Hellen, Jannine, Nathan, Rafaela, Maiana, Carol e Caline por fazerem parte desta caminhada nos momentos bons e não tão bons, por serem exemplos a seguir, espero que sempre façam parte da minha vida.

À minha família, a qual amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo. Sem esta equipe este sonho não seria possível.

A Tereza Moraes e Monica Trindade pelo auxílio nos momentos iniciais, por contribuir para o futuro deste trabalho e para meu crescimento profissional e por serem também exemplos de profissionais a serem seguidos. A participação de vocês contribuiu muito para a realização deste trabalho.

Aos amigos do grupo de pesquisa que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando.

As minhas amigas e parceiras de laboratório Hellen e Jannine, que participaram diretamente deste trabalho e me ajudaram em momentos difíceis, um agradecimento especial.

Aos meus amigos e colaboradores nas etapas de laboratório Nathan, Flávia, Lucas, Yasmim, Jéssica, André e Suzi que estiveram ao meu lado dando força e apoio.

A Guilherme, Tássia e Nathan, por compartilhar os dados das pesquisas, sem os quais esta não teria se concretizado.

A Aline por auxiliar na construção deste estudo, pela colaboração, disponibilidade, paciência e humildade.

A todos os colegas do grupo de pesquisa, por me receberem tão bem, me ajudarem e participarem de alguma forma da construção deste trabalho.

A todos os amigos do IMS/ UFBA pelo carinho e apoio.

A família IESC pelo auxílio nos momentos em que precisei estar ausente, ou nos momentos em que a memória falhou.

A todos os colegas e professores da pós-graduação em Biociências pelo convívio e aprendizado.

A vida é construída nos sonhos e concretizada no amor.

Chico Xavier

RESUMO

GUSMÃO, L. O. **Soroprevalência de sífilis em mulheres atendidas em unidades de saúde da família do município de Vitória da Conquista (BA)**. 78 f. 2016. Dissertação (Mestrado em Biociências) – Instituto Multidisciplinar de Saúde, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, 2016.

A sífilis é uma doença grave, polimorfa, causada pelo *Treponema pallidum*, associada, na gravidez, a natimorto, morte fetal precoce, baixo peso ao nascer, parto prematuro, morte neonatal ou doença no recém-nascido. O diagnóstico ocorre por meio de provas sorológicas que detectam anticorpos. Estes podem ser inespecíficos, avaliados por meio de testes não treponêmicos, como RPR, e específicos, identificado pelos testes treponêmicos, como Imunocromatográfico e TPHA. Desse modo, a pesquisa apresentou como objetivo avaliar a soroprevalência da sífilis, comparar a especificidade, sensibilidade e taxa de concordância entre os testes sorológicos utilizados, descrever o perfil sócio demográfico e de saúde sexual da amostra e dosar as citocinas por ELISA no soro coletado em mulheres sexualmente ativas atendidas no município de Vitória da Conquista – BA. A amostra foi composta por 294 mulheres, a coleta de dados ocorreu em USFs do município de Vitória da Conquista - BA. Foram obtidos dados clínico-demográficos, e amostras de sangue para as análises sorológicas e dosagens das citocinas. Deste modo, identificou-se uma soroprevalência de 3,74% (11) para a doença, estas, foram submetidos à prova quantitativa, no qual, 4 (1,36%) apresentaram titulação treponêmica de 1:1, 2 (0,68%) titulação de 1:2; 1 (0,34%) titulação de 1:4 e 1 (0,34%) titulação de 1:32. Neste estudo, o teste não treponêmico RPR não apresentou uma boa sensibilidade, provavelmente, devido à baixa prevalência de titulações elevadas nas amostras reagentes. Apesar disto, comparado ao Imunocromatográfico, demonstrou concordância substancial pelo indicador Kappa (k). Quanto às características sócio demográficas obteve-se que: a faixa etária prevalente foi entre 26 e 35 anos (29,9%), residentes em sua maioria na zona urbana (75,5%), cor parda (57,86%) e primeiro grau incompleto (38,1). O perfil de saúde sexual revelou que a maioria das mulheres teve um parceiro sexual na vida (47,3%), não apresentava relacionamento estável (78,9%) e possuía vida sexual ativa (90,8%). Grande parte (63,3%) informou nunca ter feito uso de preservativos e apresentou história progressiva de ISTs (71,1%). Observou-se uma média de 3 gestações entre as estudadas, além de relato prévio de aborto (24,1%) e parto prematuro (5,1%), estas duas últimas, apesar da ausência de significância estatística, demonstraram tendência a serem possíveis fatores de risco, que poderiam ser mais facilmente evidenciadas em populações maiores. Dentre os fatores de risco avaliados no presente estudo, o único fator significativamente associado a sífilis foi idade ≥ 38 anos. No que concerne as citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF α quantificadas, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle. Possivelmente porque a produção das citocinas é transitória, dificultando a detecção no momento da pesquisa. O presente estudo evidenciou que as mulheres atendidas nas unidades básicas de saúde destacam-se enquanto população de alto risco para aquisição de ISTs em virtude provavelmente de acesso dificultado aos serviços de saúde e prática sexual insegura, evidenciada pelo baixo uso de preservativo e pela alta prevalência de sífilis na amostra, considerando a recomendação da OMS de 1% de prevalência da doença. Em relação aos testes laboratoriais, aponta-se a importância de se utilizar testes diagnósticos não treponêmicos para triagem e realizar exames confirmatórios treponêmicos, tendo em vista as diferentes sensibilidades dos testes, dependentes da fase da doença e da titulação de anticorpos presente.

Palavras-chave: *Treponema pallidum*. Sífilis. RPR.

Agência de fomento: FABESB/CNPQ.

ABSTRACT

GUSMÃO, L. O. **Seroprevalence of syphilis in women attending family health units of the municipality of Vitoria da Conquista (BA)**. 78 f. 2016. Dissertation (Masters in Bioscience) - Multidisciplinary Health Institute, Federal University of Bahia, Vitoria da Conquista, 2016.

Syphilis is a serious, polymorphous disease caused by *Treponema pallidum*, associated in pregnancy, stillbirth, early fetal death, low birth weight, premature birth, neonatal death or illness in the newborn. The diagnosis occurs through serological tests that detect antibodies. These can be non-specific, evaluated by nontreponemal tests such as RPR, and specific, identified by treponemal tests such as immunoassay and TPHA. Thus, research has to evaluate the seroprevalence of syphilis, compare the specificity, sensitivity and concordance rate among the serologic tests used to describe the profile socio-demographic and health sexual sample and dose the cytokines in sera collected in sexually active women attending the Vitoria of Conquista – BA municipality. The sample consisted of 294 women, data collection took place in Vitoria da Conquista – BA' USFs. Clinical and demographic data, and blood samples for serological analysis and cytokine measurements were obtained. Thus, to identify a seroprevalence of 3.74% (11) for the disease, they were subjected to quantitative test, in which 4 (1.36%) with titers of 1: 1, 2 (0.68 %) titrating 1: 2; 1 (0.34%) treponemal titer of 1: 4 and 1 (0.34%) 1:32 titration. In this study, the non-treponemal test RPR did not present a good sensitivity, probably due to the low prevalence high titres in samples reagents. Nevertheless, compared to immunoassay showed substantial agreement by the Kappa index (k). As for sociodemographic characteristics were obtained: a prevalent age group was between 26 and 35 years (29.9%), living mostly in urban areas (75.5%), brown color (57.86%) and incomplete primary education (38.1). The sexual health profile showed that most women have had a sexual partner in life (47.3%) had no stable relationship (78.9%) and had active sex life (90.8%). Most (63.3%) reported never having used condoms and most had a history of STIs (71.1%). There was an average of 3 between pregnancies studied, and abortion previously reported (24.1%) and preterm (5.1%), these last two, although not statistically significant, demonstrated a tendency to be possible risk factors, which could be more readily evident in larger populations. Among the risk factors assessed in this study, the only factor significantly associated with syphilis was age ≥ 38 years. Regarding IL-1 β cytokine, IL-6 and TNF α quantified, there was no statistically significant difference between the case and control groups. Possibly because the production of cytokines is transient, making it difficult to detect at the time of the survey. This study showed that women in basic health care units stand up as population at high risk of acquiring STIs due probably to difficult access to health services and unsafe sexual practices, evidenced by low condom use and the high prevalence syphilis in the sample, considering the WHO recommendation of 1% prevalence of disease. Regarding laboratory tests, it points out the importance of using nontreponemal diagnostic tests for screening and perform treponemal confirmatory tests, given the different sensitivities of the tests, depending on the stage of disease and titration of antibody.

Keywords: *Treponema pallidum*. Syphilis. RPR.

Funding agency: FAPESB / CNPQ

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
2	REFERENCIAL TEÓRICO	19
2.1	Infecções Sexualmente Transmissíveis	19
2.2	Sífilis	20
2.2.1	Perspectiva histórica	20
2.2.2	Características de <i>Treponema pallidum</i> subespécie <i>pallidum</i>	21
2.2.3	Sífilis: Classificação	25
2.2.3.1	Sífilis primária	25
2.2.3.2	Sífilis secundária	26
2.2.3.3	Sífilis latente	28
2.2.3.4	Sífilis terciária	28
2.2.4	Sífilis: Diagnóstico	29
2.2.5	Sífilis: Tratamento	32
3	OBJETIVOS	34
3.1	Objetivo geral	34
3.2	Objetivos específicos	34
4	MATERIAL E MÉTODOS	35
4.1	Casuística	35
4.2	Coleta das amostras	36
4.3	Ensaio sorológicos	36
4.3.1	RPR – Rapid Plasma Reagin	37
4.3.2	Imunocromatográfico para <i>Treponema pallidum</i>	38
4.3.3	TPHA - <i>Treponema pallidum</i> haemagglutination	39
4.4	Dosagem de citocinas no soro	39
4.5	Análises estatísticas	40
	REFERÊNCIAS	42
	CAPÍTULO 1	49
	CONSIDERAÇÕES FINAIS	70
	ANEXO 1	71
	ANEXO 2	72
	ANEXO 3	77

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura do envelope celular externo, espaço periplasmático e membrana citoplasmática de <i>Treponema pallidum</i>	22
Figura 2	Arquitetura 3-D de <i>Treponema pallidum</i>	23
Figura 3	Fluxograma do diagnóstico laboratorial da sífilis	32
Figura 4	Placa de Kline com 12 escavações	37
Figura 5	Demonstrativo da distribuição da amostra na placa durante a etapa quantitativa	38
Figura 6	Visualização microscópica da amostra após realização do RPR	38
Figura 7	Fita teste de Imunocromatográfico para <i>Treponema pallidum</i>	39
Figura 8	Placa de Hemaglutinação	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Relação entre doença e teste	56
Tabela 2	Soroprevalência da sífilis em mulheres atendidas nas unidades de saúde	57
Tabela 3	Resultados obtidos por meio dos testes RPR e Imunocromatográfico	58
Tabela 4	Distribuição dos títulos de RPR na população estudada	58
Tabela 5	Deteção de <i>Treponema pallidum</i> e sua relação com o perfil sociodemográfico e de saúde sexual da população de mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, 2016	59
Tabela 6	Perfil das mulheres caso e controle para sífilis em relação à presença de <i>Mollicutes</i> , <i>M. hominis</i> , <i>M. genitalium</i> , <i>Trichomonas vaginalis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Gardnerella vaginalis</i> ou <i>Chlamydia trachomatis</i> detectados por PCR convencional em amostras de swab vaginal de mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, em estudos correlatos, entre 2011 e 2013	60
Tabela 7	Associações das variáveis com a deteção de <i>Treponema pallidum</i> em mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, 2016, preditos por regressão logística, N = 294	61

LISTA DE SIGLAS

IST	Infecção sexualmente transmissível
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
WHO	World Health Organization
DV	Doença venérea
DST	Doença sexualmente transmissível
HSV	Herpes simplex virus
HPV	Papilomavírus humano
DIP	Doença inflamatória pélvica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
G	Guanina
C	Citosina
pb	Pares de bases
Mb	Megabases
RNA	Ácido ribonucleico
LPS	Lipopolissacarideo
Hly (A – C; III)	Hemolisina
Tpr (A – L)	Treponema pallidum repeat
CD4+	Grupamento de diferenciação 4
CD8+	Grupamento de diferenciação 8
CD 54+	Grupamento de diferenciação 54
CD 83+	Grupamento de diferenciação 83
IL – 1 β	Interleucina – 1 β
IL – 2	Interleucina – 2
IL – 6	Interleucina – 6
IL – 12	Interleucina – 12
IFN- γ	Interferon gama
FTA – abs	Fluorescent Treponemal Antibody Absorption
MMP – 1	Metaloproteinase 1
CDs	Células dendríticas
TPN 47	Lipoproteína 47
TPN 17	Lipoproteína 47
TLR2	Receptores do tipo Toll 2
TNF - α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
MHC	Complexo principal de histocompatibilidade
VDRL	Venereal Disease Research Laboratory
LCR	Líquido cefalorraquidiano
IgM	Imunoglobulina M
IgG	Imunoglobulina G
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
EIA	Imunoensaios enzimáticos
EQL	Ensaio imunológico quimioluminescente magnético
TPPA	Treponema pallidum particle agglutination assay
TPHA	Treponema pallidum haemagglutination
MHA – TP	Microhemaglutinação para Treponema pallidum
WB	Western blot
PCR	Polymerase Chain Reaction
CDC	Centro de controle de doenças

RPR	Rapid Test Reagin
BA	Bahia
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
USF	Unidade Saúde da Família
EPI	Equipamento de proteção individual
EDTA	Ácido etileno di-amino tetra acético
mL	Mililitro
µl	Microlitro
µm	Micrômetro
ORF	Open Reading Frame
CDC	Centers for Disease Control
3D	3 dimensões
kpb	Kilo base pairs
rpm	Rotações por minuto
nm	Nanômetro
IC	Intervalo de confiança
k	Kappa
OR	Odds Ratio
pg	Picogramas
ml	Mililitros

1 INTRODUÇÃO

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) abrangem uma série de agravos, de variada etiologia infecciosa, no qual a transmissão sexual é relevante do ponto de vista epidemiológico (DIEZ e DIAZ, 2011). São consideradas como um dos problemas de saúde mais comuns em todo o mundo, e estão entre as cinco categorias de doenças para as quais os adultos mais procuram cuidados de saúde (BRASIL, 2014). Estes agravos podem ter consequências graves, para além do impacto imediato da própria infecção. A transmissão das ISTs da mãe para o filho durante o período gestacional pode resultar em óbito fetal ou neonatal, baixo peso ao nascer e/ou prematuridade, septicemia, pneumonia, conjuntivite neonatal e ainda malformações congênitas. Além disso, algumas ISTs ainda podem aumentar o risco de aquisição do HIV em três vezes ou mais. Tanto as ISTs ulcerativas (sífilis, cancro mole e herpes), como as infecções não ulcerativas (gonorreia e clamídia), têm sido associadas a maiores taxas de transmissão e aquisição do HIV (BROTMAN, 2011). Segundo a OMS (2014), as ISTs são causadas por mais de 30 bactérias, vírus e parasitas diferentes que são disseminados principalmente pelo contato sexual, incluindo as vias, vaginal, anal e oral. Dentre as ISTs mais comuns encontramos a tracoma, gonorreia, sífilis e tricomoníase (SMAJS; NORRIS e WEINSTOCK, 2011).

A sífilis é uma moléstia sistêmica, que acomete exclusivamente o ser humano, conhecida desde o século XV. Seu agente etiológico, foi descoberto em 1905, por Fritz Schaudin e Paul Erich Hoffman, a quem deram o nome de *Treponema pallidum* (TAMPA et al., 2014, BRASIL, 2010). As principais vias de transmissão são sexual e vertical. Os sinais e sintomas da doença são variáveis e complexos. A sífilis é uma infecção de múltiplos estágios. A doença demonstra evolução que alterna períodos de atividade com características clínicas, imunológicas e histopatológicas específicas (sífilis primária, secundária e terciária) e períodos de latência (sífilis latente). A sífilis latente divide-se ainda em recente, que ocorre em menos de um ano após infecção, e tardia, no qual ocorre com mais de um ano de doença (AVELLEIRA e BOTTINO, 2006). Quando não tratada, a doença pode evoluir para formas mais graves, podendo acometer os sistemas nervoso, cardiovascular, respiratório e gastrointestinal (BRASIL, 2010).

As mulheres grávidas infectadas pela sífilis ainda podem transmitir a infecção ao feto. Aproximadamente 1,5 milhões de mulheres grávidas em todo o mundo estão infectadas com *Treponema pallidum* anualmente; se não tratada, 50% deles irá experimentar eventos

adversos. Sífilis na gravidez provoca morte fetal, prematuridade, baixo peso ao nascer, doença neonatal e infecções em recém-nascidos (MOURA, MELLO e CORREIA, 2015; WHO, 2015).

No Brasil em 2013 a prevalência de sífilis em gestantes foi de 0,74%. Para as regiões, a prevalência encontrada foi: 0,69% (Norte), 0,53% (Nordeste), 0,87% (Sudeste), 0,73% (Sul) e 0,85% (Centro-Oeste). Sendo que na Bahia o dado encontrado foi de 0,64% (BRASIL, 2013). No Brasil, recentemente os casos de sífilis aumentaram em 13 dos 14 estados que possuem dados disponíveis acerca da sífilis adquirida. Na comparação entre 2013 e 2014, os estados que registraram aumento foram o Acre (96,1%), Pernambuco (94,4%), Paraná (63,1%), Tocantins (60%), Bahia (47%), Santa Catarina (34,1%), Distrito Federal (22%), Mato Grosso do Sul (6%), Mato Grosso (4,1%) e Sergipe (3,8%). Espírito Santo e Rio Grande do Norte, só possuem dados até 2013, e o aumento registrado entre 2012 e 2013 foi de, respectivamente, 31% e 31,5%. O estado do Amazonas foi o único que registrou queda do número de casos. Entre 2013 e 2014, as ocorrências reduziram em 20,2%. Entretanto, ressalta-se que estes dados podem refletir subnotificação (CARVALHO e LENHARO, 2015).

Na Bahia, no primeiro semestre de 2015, foram registrados 733 casos de sífilis adquirida. Desse total, 430 foram mulheres e 303 homens. Com relação a sífilis congênita, foram 558 casos no estado somente no primeiro semestre, sendo 255 em Salvador, primeiro lugar em número de casos, 30 em Feira de Santana ocupando o segundo lugar e 24 casos em Ilhéus no terceiro lugar. Os dados ainda apontam aumento de 300% dos casos de sífilis congênita no estado nos últimos cinco anos, segundo dados da Secretária de Saúde do Estado da Bahia (SESAB) (GUERREIRO, 2015).

Desta maneira, no presente estudo, propusemo-nos avaliar a soroprevalência e comparar os ensaios sorológicos para detecção de *Treponema pallidum* em mulheres sexualmente ativas, com ou sem sinais e sintomas de distúrbios genitais atendidas nas Unidades Saúde da Família do município de Vitória da Conquista - Bahia. Além disso, esse trabalho também visou ainda contribuir para o conhecimento sobre a soroprevalência das sífilis e o perfil sociodemográfico e da saúde sexual da amostra estudada, comparar a especificidade, sensibilidade e taxa de concordância entre os testes sorológicos utilizados e comparar perfil de citocinas no soro de mulheres reagentes ou não reagentes para sífilis.

O objetivo deste foi propiciar informações demonstrativas da magnitude da sífilis na específica região, para, então, dispor de subsídios para o reconhecimento das dificuldades e falhas presentes e também para contribuir com os gestores no planejamento e monitoramento das estratégias adequadas a serem empreendidas. O tema abordado é de suma importância por contribuir para o preenchimento de lacunas no campo do diagnóstico, favorecendo a

identificação precoce da doença e a implementação imediata do tratamento, minorando os riscos de agravos e sequelas relacionadas e desta forma melhorando a assistência à saúde da população, trazendo importantes subsídios, não só para a formação acadêmica e profissional, mas para a sociedade como um todo.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Infecções Sexualmente Transmissíveis

Durante as últimas duas décadas, as doenças sexualmente transmissíveis passaram por importantes mudanças conceituais. Inicialmente, a mudança de nome de doenças venéreas (DV), do latim *venereus* relativo a Venus, deusa do Amor, para doenças sexualmente transmissíveis (DST). Posteriormente, passou-se a utilizar o termo Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs), por considerar que DST envolve apenas pacientes sintomáticos. Entretanto um grande número de pessoas infectadas por microrganismos transmitidos por via sexual apresenta-se assintomático. Por isso, o termo IST inclui esses dois aspectos (MALLA, 2012).

As Infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) são etiológica, clínica e epidemiologicamente diversificada, causadas por mais de 30 bactérias, vírus e parasitas diferentes, onde o modo epidemiologicamente importante de transmissão é a relação sexual ou contato genital íntimo (WHO, 2015; MURALIDHAR, 2015). Muitas ISTs, incluindo clamídia, gonorreia, hepatite B, HIV e sífilis, também podem ser transmitidas da mãe para o filho durante a gravidez e o parto. Oito dos agentes patogênicos estão ligados a uma maior incidência de infecções sexualmente transmissível. Destas, quatro são curáveis: sífilis, gonorréia, clamídia e tricomoníase. As outras quatro são infecções virais incuráveis: hepatite B, vírus do herpes simplex (HSV ou herpes), HIV, e vírus do papiloma humano (HPV) (WHO, 2015).

A cada ano, estima-se que 500 milhões de pessoas adquirem uma das IST curáveis (gonorreia, clamídia, sífilis e tricomoníase) (BRASIL, 2015). Apesar da vigilância, monitorização e múltiplas intervenções visando a prevenção, diagnóstico e tratamento, estas continuam sobrecarregar significativamente os recursos de saúde (PAUDYAL, 2015). As ISTs também aumentam significativamente o risco de aquisição e transmissão de HIV, isso porque os mesmos comportamentos e circunstâncias que geram riscos de contrair uma IST também geram maior risco de contrair o HIV. Além disso, ter uma lesão na pele de uma IST pode permitir que o HIV penetre mais facilmente no corpo. (ORTAYLI, 2014, CDC, 2014).

As ISTs também podem levar a complicações graves e sequelas de longo prazo, incluindo a doença inflamatória pélvica, gravidez ectópica, infertilidade, dor pélvica crônica e doença neurológica e cardiovascular em adultos, morte neonatal, parto prematuro, cegueira ou deficiência grave em lactentes, além disso, frequentemente ainda resultam em estigma,

estereótipos, vulnerabilidade e vergonha, e têm sido associadas a violência baseada no gênero (NEWMAN et al., 2015).

A sífilis na gestante pode ser causa de aborto, prematuridade, morte neonatal ou desenvolvimento da doença nos conceptos e resultar em sífilis congênita. A sífilis congênita pode ser transmitida por uma gestante portadora de sífilis anterior à gravidez ou pela infecção contraída durante ela. Quanto mais antiga for a doença materna, menor o risco de transmissão para o feto (CAVALCANTE e AMARAL, 2016). A notificação é obrigatória no caso de sífilis adquirida, sífilis em gestante e sífilis congênita, conforme a Portaria Ministerial nº 1271, de 06 de junho de 2014. A sífilis congênita é doença de notificação compulsória nacional desde o ano de 1986; a sífilis em gestantes, desde 2005; e a sífilis adquirida, desde 2010 (BRASIL, 2015).

2.2 Sífilis

2.2.1 Perspectiva histórica

A sífilis foi reconhecida pela primeira vez como uma doença quando se disseminou rapidamente por toda a Europa no final do século XV, e se tornou uma das infecções humanas mais prevalentes do mundo (WEINSTOCK, et al, 1998). A origem da sífilis tem sido assunto controverso e três hipóteses tentam explicar seu surgimento: (1) A hipótese pré-colombiana argumenta que a sífilis e outras doenças treponêmicas estavam presentes no Velho e Novo Mundo em tempos pré-colombianos, tendo sido diagnosticada no período como lepra (MELO et al., 2010). (2) Segundo a hipótese colombiana, a mais popular, os navegadores da frota de Colombo teriam trazido a doença do Novo Mundo em 1493 e esta, teria se espalhado por toda Europa em poucos anos. Essa hipótese encontra seus mais fortes defensores na paleontologia que afirmam a ausência de evidência esquelética de infecção por sífilis na Europa continental antes da jornada de Colombo, excluindo a Europa como o local de origem (TAMPA et al., 2014; GIACANI e LUKEHART, 2014). (3) A hipótese unitarista, afirma que as treponematoses sempre tiveram uma distribuição mundial, no qual cada grupo social tinha um tipo de treponematose adequado às suas condições geográficas, climáticas e seu estágio de desenvolvimento cultural. Assim, de acordo a esta hipótese, a boubá, bejel, pinta e a sífilis, são vistas como respostas adaptativas de *Treponema pallidum* as peculiaridades do meio ambiente, aspectos culturais e contato com outras populações (MELO et al., 2010). Apesar desta teoria de ter sido inicialmente apoiada pela aparente falta de diversidade genética e antigênica entre os treponemas humanos, foi progressivamente abandonada. A investigação genômica de um

número limitado de cepas existentes permitiu a identificação de assinaturas genéticas específicas das subespécies (GIACANI e LUKEHART, 2014).

O termo “sífilis” foi introduzido por Girolamo Fracastoro, um poeta de Verona, em sua obra “*Syphilis sive morbus gallicus*”, datada de 1530, que significa, “A sífilis ou a Doença Francesa”. A obra apresenta um personagem chamado Syphilus. No conto de Fracastoro, Syphilus, com raiva jurou não adorar Apolo, Deus do sol. Apolo fica ofendido e o amaldiçoa com uma doença chamada sífilis (IOMMI, 2010). O agente etiológico da sífilis, foi descoberto bem mais tarde, em 1905, por Fritz Schaudin e Paul Erich Hoffman, que analisaram uma amostra coletada de uma pápula localizada na vulva de uma mulher com sífilis secundária, e identificaram ao microscópio microrganismos espiralados, finos, que moviam-se para frente e para trás (KOHL e WINZER, 2005). O microrganismo foi chamado *Treponema* devido a sua semelhança a um fio torcido (SINGH E ROMANSWSKI, 1999). E o nome da espécie “*pallida*” foi usado considerando a dificuldade na coloração do microrganismo (CARLSON et al., 2011).

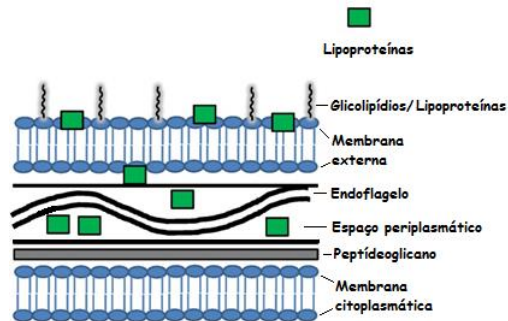
2.2.2 Características de *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*

Treponema pallidum subespécie *pallidum* é uma espiroqueta classificada sob o filo *Spirochaets*, ordem *Spirochaetales*, família *Spirochaetaceae*, e há mais três espécies conhecidas que causam doenças treponemais em humanos, tais como *T. pertenue*, que causa boubá, *T. carateum*, causador da pinta e *T. pallidum endemicum*, responsável por bejel ou sífilis endêmica. Destas, a sífilis é a única doença treponemal sexualmente transmissível (TAMPA et al., 2014; CENTURION – LARA et al., 2006; NORRIS, 1993).

A espiroqueta *T. pallidum* varia de 0,10 a 0,18 μm de diâmetro e de 6 a 20 μm de comprimento, tornando-se visível por microscopia de luz (SINGH E ROMANOWSKI, 1999). Considerando sua estrutura, este microrganismo é rodeado por uma membrana citoplasmática e delimitado por uma membrana externa ou envelope celular externo, entre as duas membranas, no espaço periplasmático, existe uma fina camada de peptidoglicano que fornece estabilidade estrutural e flexibilidade, além de albergar as organelas endoflagelares que se estendem a partir de ambas as extremidades para o meio do organismo (NORRIS et al., 1998; LAFOND E LUKEHART, 2006; LIU et al., 2010; SINGH E ROMANSWSKI, 1999; LUTHRA et al., 2015). A membrana externa de *T. pallidum* aparece como uma bicamada lipídica simples, frágil, que pode ser removida facilmente por centrifugação, o que sugere uma associação frouxa desta membrana flexível, com as estruturas subjacentes (LIU et al., 2011; LUTHRA et al., 2015).

As espiroquetas interagem com o hospedeiro através dos vários componentes estruturais, tais como lipoproteínas de superfície e glicolipídios que estão presentes principalmente na membrana externa, mas também podem ser encontradas em diferentes compartimentos celulares como na matriz extracelular e nos espaços periplasmáticos. A distribuição destas lipoproteínas varia entre as espiroquetas. As lipoproteínas pró-inflamatórias de *T. pallidum* estão localizadas abaixo da sua superfície celular e, portanto, não interagem diretamente com o sistema imune do hospedeiro. Desta forma *T. pallidum* integro desencadeia uma resposta inflamatória muito menos acentuada do que quando lisados (RADOLF, 1995; PEELING e HOOK, 2006; SALAZAR et al., 2007; KELESIDIS, 2014). A falta de antígenos de superfície pode ser uma importante estratégia nas infecções por *T. pallidum*. A relativa falta de proteínas, sugere que esta é uma característica que ajuda o organismo a evadir da resposta imune (CRUZ et al., 2012; WEINSTOCK et al., 1998). A estrutura do envelope celular externo, espaço periplasmático e membrana citoplasmática deste microrganismo está exposta abaixo, na figura 1.

Figura 1 – Estrutura do envelope celular externo, espaço periplasmático e membrana citoplasmática de *Treponema pallidum*.



Legenda: A membrana citoplasmática das espiroquetas está associada a parede da célula que consiste em peptidoglicano, além desta, ela também possui uma membrana exterior, que não é ligada à esta camada. O espaço periplasmático contém o flagelo. A distribuição de lipoproteínas varia entre as diferentes espiroquetas e podem estar presentes em diferentes compartimentos celulares: a membrana exterior, da matriz extracelular e os espaços periplasmáticos.

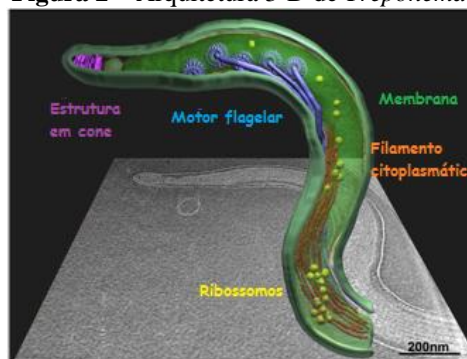
Fonte: Adaptado de Kelesidis (2014)

Os endoflagelos ou filamentos axiais conferem a capacidade das espiroquetas translocarem efetivamente em ambientes altamente viscosos do tipo gel, tal como o tecido conjuntivo, no qual as bactérias flageladas mais externamente são desaceleradas ou paradas, considera-se que a mobilidade provavelmente desempenhe um papel importante na difusão generalizada de infecções por espiroquetas e no estabelecimento da doença crônica (PAROLA, 1977; LIU et al., 2010). Em *T. pallidum*, os motores flagelares são ancoradas na membrana

citoplasmática em cada extremidade do cilindro de célula, e são dispostos em fila de tal modo que os ganchos flagelares estão a apontar na direção do meio do organismo. O movimento flagelar é alimentado por um motor rotativo embutido na membrana citoplasmática, mas os mecanismos precisos dessa rotação ainda necessita de mais aprofundados estudos (LIU et al., 2010). Acresce ainda que a camada de peptidoglicano, também serve como interface entre o cilindro rotativo e o flagelo. Sem esta, o corpo frágil do *T. pallidum* não seria capaz de suportar o atrito produzido pela rápida rotação flagelar (RADOLF, 1995; PEELING e HOOK, 2006; SALAZAR et al., 2007; KELESIDIS, 2014).

Geralmente localizada na extremidade de *T. pallidum*, externamente a camada de peptidoglicano, encontramos uma estrutura em forma de cone. Esta estrutura cônica está, por vezes, separada da extremidade por uma vesícula de membrana externa ou interna. A função e composição desta estrutura, é atualmente desconhecida, especula-se que pode estar associado a adesão celular ou a funções sensoriais (IZARD et al., 2009). A figura 3 mostra uma reprodução 3D de toda a estrutura morfológica da espiroqueta.

Figura 2 – Arquitetura 3-D de *Treponema pallidum*



Legenda: Arquitetura 3-D de *Treponema pallidum* gerada a partir de uma tomografia crio-eletrônica no qual a membrana externa aparece (verde claro), a membrana citoplasmática (verde), filamentos flagelares (azul), filamento citoplasmático (vermelho), a estrutura em forma de cone (magenta) e um grande complexo macromolecular (amarelo).

Fonte: Adaptado de LIU et al. (2010)

A sequência do DNA genômico do *T. pallidum subsp pallidum* (Nichols), descrita em 1998, é conhecida por ser pequena e compreende um cromossoma circular de 1.138 kpb (kilopares de bases), com uma composição de base de G + C de 52,8%. Existe um total de 1041 sequencias de codificação (Open Reading Frames – ORF), com uma dimensão média de 1023 pb, constituindo 92,2% do total do DNA genômico (WEINSTOCK et al., 1998). Dos 1.122 genes previsto, 1.068 genes são codificadores de proteínas, 54 de RNA e 9 são pseudogenes. Foram atribuídas funções putativas na maioria dos genes que codificam proteínas (61,6% de todos os genes), enquanto que 33,6% dos genes restantes possuem função

desconhecida (ZOBANÍKOVÁ et al., 2012). A sequência genômica desta espiroqueta não revela quaisquer fatores clássicos de virulência que poderiam ilustrar as manifestações clínicas da sífilis. *T. pallidum* carece de lipopolissacarídeo (LPS), de sistemas de secreção do tipo III e endotoxinas presentes nas membranas externas de diversas bactérias gram-negativas (LAFOND E LUKEHART, 2006). De modo inesperado foi observado pela análise genômica cinco genes (hlyA, hlyB, hlyC, hlyC e hlyIII) que codificam proteínas análogas às hemolisinas, no entanto, preparações recombinantes de algumas destas proteínas não revelaram atividades hemolíticas, desta forma, considera-se necessário verificar quais destas proteínas possuem de fato ação citolítica (LAFOND E LUKEHART, 2006; WEINSTOCK et al., 1998).

Seu genoma contém ainda uma grande família de genes tpr (*Treponema pallidum* repeat) que codificam proteínas, em sua maioria, da membrana externa, que podem funcionar como porinas e adesinas. Esta família é formada por 12 genes que são divididos em três subfamílias, com base na homologia da sequência de aminoácidos: (I) tprC, tprD, tprF, tprI; (II) tprE, tprG, tprJ, e (III) tprA, tprB, tprH, tprK, tprL. A função e localização celular destes genes ainda são desconhecidas, entretanto, observa-se que a maioria das proteínas codificadas induzem a uma resposta imune na sífilis experimental (WEINSTOCK et al., 1998; GIACANI et al., 2007). Os genes tpr são expressos de forma variável em diferentes treponemas e assim tem sido sugerido o seu papel também na persistência das infecções treponemais no hospedeiro imunocompetente. TprK é o gene mais variável dentro da cepa de tpr. A extrema variabilidade deste gene é a grande responsável pela infecção crônica. Considerando que as células T reconhecem as regiões conservadas da TprK, a variabilidade do tprK parece ser um dos principais mecanismos de evasão imune associado a reinfecção do hospedeiro (GIACANI, 2010; SMAJS, NORRIS e WEINSTOCK, 2012).

Existem vários mecanismos que os microrganismos podem usar para garantir sua permanência no hospedeiro. No caso de *T. pallidum*, vários são os fatores que proporcionam a evasão do sistema imune. Este penetra em uma grande diversidade de localizações anatômicas, incluindo sistema nervoso central, olhos, placenta, enfim, tecidos que podem sofrer menor vigilância do sistema imune inato. Além disso, podem sobreviver nestes tecidos, replicando-se lentamente, utilizando-se de seu metabolismo lento para sobreviver, um número mínimo de organismos é necessário para desencadear uma resposta do hospedeiro. Ao manter a infecção com poucos organismos e em locais anatômicos distantes um do outro, eles podem impedir a sua depuração, ao não alertar a resposta imunitária a sua presença, passar meses ou anos em um ambiente tranquilo. Validamente, é bastante provável que *T.pallidum* mantenha-se em uma taxa ainda mais baixa de divisão durante a fase de latência da doença. Fatores desconhecidos

levam o microrganismo a se dividir em uma taxa superior novamente em determinadas áreas anatômicas em alguns indivíduos, levando a sífilis tardia sintomática (LAFOND E LUKEHART, 2006).

2.2.3 Sífilis: classificação

De acordo a via de transmissão, a sífilis é classificada em adquirida ou congênita. A sífilis evolui através de uma série de quatro estágios que se sobrepõem, vulgarmente conhecidos como sífilis primária, sífilis secundária, sífilis latente e sífilis terciária. Cada fase tem características clínicas distintas e grau de infecciosidade variável (FICARRA e CARLOS, 2009).

Em comparação a riqueza de informações sobre os mecanismos causadores de doenças de muitos patógenos bacterianos, pouco se sabe sobre como *T. pallidum* causa as manifestações multiformes da sífilis (LAFOND E LUKEHART, 2006). As manifestações clínicas da infecção por *Treponema pallidum* dependem do tempo, local, e estado imunológico do indivíduo infectado. O tempo (duração da infecção) relaciona-se com o estabelecimento das fases da doença: primária, secundária, latente e terciária. Estes, por sua vez, refletem a interação do agente infeccioso com o hospedeiro, e os efeitos da resposta imune a infecção. Quanto ao local relaciona-se a localização anatômica das lesões. O estado imunitário do hospedeiro é refletido no curso da sífilis em suas diversas fases. A infecção persistente é o reflexo de uma resposta imunitária inadequada (CARLSON et al., 2011).

2.2.4 Sífilis primária

Na sífilis primária, a espiroqueta replica no local da inoculação e a resposta inflamatória resulta em um cancro indolor cerca de três a seis semanas após a infecção inicial. Em cada cancro, as espiroquetas em proliferação são rodeadas por células do sistema imunológico, incluindo Linfócitos T CD4⁺ e CD8⁺, plasmócitos e macrófagos, que produzem as citocinas IL-2 e IFN- γ , ativando e recrutando linfócitos e macrófagos adicionais. Estudos sugerem que *T. pallidum* é capaz de evitar a opsonização e resistir a ingestão por macrófagos. O mecanismo desta resistência não tem sido explorado (HO e LUKEHART, 2011; PEELING e HOOK, 2006; SALAZAR et al., 2007). Os linfócitos T são detectáveis no cancro dentro de três dias após a infecção e atinge concentrações máximas em 10 a 13 dias, quase ao mesmo tempo que o número de *T. pallidum* atinge o seu máximo. Os macrófagos estão presentes seis a dez dias após a

infecção e alcançam números máximos em aproximadamente 13 dias. Entre 13 e 17 dias após a infecção, o número detectável de *T. pallidum* na lesão declina acentuadamente (PEELING e HOOK, 2006).

Na sífilis primária a lesão característica é o cancro. Ele se desenvolve no local da inoculação, começando como uma pápula que evolui para ulceração. Cancros são lesões geralmente indolor, solitárias, apesar de poderem ser múltiplas. Os cancros são mais frequentemente encontrados na genitália externa ou ânus, mas cancros extragenitais podem surgir em 2% dos pacientes. Dos locais extragenitais, a boca é o local mais frequente, ocorrendo em 40-70% dos casos. Quando a boca está envolvida, o cancro é mais comumente encontrado no lábio e, ocasionalmente, a língua. Raramente, a faringe ou amígdalas podem estar envolvidos. A linfadenopatia cervical geralmente acompanha o cancro. Independentemente da localização, o cancro normalmente regride, independentemente de tratamento, após duas a oito semanas (SWANSON e WELCH, 2016).

Salienta-se que na sífilis primária, o diagnóstico laboratorial pode ser feito por meio da pesquisa direta de *Treponema pallidum* por microscopia de campo escuro, pela coloração de Fontana-Tribondeau e pela imunofluorescência direta. Os anticorpos começam a surgir na corrente sanguínea por volta de 7 a 10 dias após o aparecimento do cancro duro, desta forma, nesta fase os testes sorológicos são não-reagentes. O primeiro teste a se tornar reagente em aproximadamente 10 dias da evolução do cancro duro é o FTA-abs (*Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*), seguido dos outros testes treponêmicos e não treponêmicos (BRASIL, 2010).

2.2.5 Sífilis secundária

Poucas horas depois da inoculação, e durante a evolução do estágio primário, *T. pallidum* se dissipa amplamente e depositam-se numa variedade de tecidos. *T. pallidum* impulsiona-se pelo mecanismo saca-rolhas, atravessa as junções apertadas entre as células endoteliais para se inserir nos espaços perivasculares, onde um grande número de treponemas e células do sistema imunológico se acumulam, além disso a espiroqueta pode induzir a produção de MMP-1 (Metaloproteinase-1), o qual degrada o colágeno e pode facilitar o acesso e a saída a partir da corrente sanguínea, o que auxilia o microrganismo a penetrar nos tecidos, resultando na disseminação sistêmica (LAFOND e LUKEHART, 2006; HO e LUKEHART, 2011; CARLSON et al., 2011).

As lesões cutâneas da sífilis secundária podem ser consideradas como reações locais induzidas no tecido altamente susceptível por acumulações metastáticas de treponemas e resultam da disseminação hematogênica de treponemas a partir de cancras primários. Assim, o termo "sífilis disseminada" pode ser mais apropriado. As lesões em estágio secundário geralmente aparecem quatro a dez semanas após o aparecimento inicial de lesões primárias, representada principalmente por uma erupção macular, caracterizada por uma erupção papular simétrica, envolvendo todo o tronco e extremidades, incluindo as palmas das mãos e as solas dos pés. Estas são geralmente escamosas, embora possam ser suave, folicular, ou raramente, pustulosa. Vesículas geralmente não ocorrem, embora lesões vesicopustulares possam ser vistas em raras ocasiões. Lesões da mucosa também são bastante comuns. A alopecia ocorre também em casos não tratados, o que reflete o envolvimento de folículos capilares (BAUGHN e MUSHER, 2005).

Embora muitos dos doentes com sífilis secundária não apresentem sintomas sistêmicos (50% das mulheres e 75% dos homens com lesões secundárias não relatam sintomas sistêmicos), o restante dos pacientes exibem uma variedade de queixas e lesões que são sugestivas da doença sistêmica. Não foi comprovado ainda, mas é provável, que a maioria destes pacientes com sífilis secundária evolua para doença terciária. Os sintomas sistêmicos e lesões geralmente não são distintivos; eles podem incluir dor de garganta, mal-estar, dor de cabeça, febre, perda de peso, náuseas, artrite, periostite, mialgia, hepatite, nefrite e vários sinais e sintomas neurológicos. Os sintomas localizados muito provavelmente indicam inflamação nos órgãos internos afetados, isto é, reações de DTH (hipersensibilidade tardia) aos organismos que estão presentes no interior do tecido (CARLSON et al., 2011).

Os doentes com sífilis secundária têm uma resposta imune local na pele, que consiste em monócitos, macrófagos, células T CD4⁺, CD8⁺ e células dendríticas. A interação da lipoproteína TpN47 com TLR2 na superfície de macrófagos induz a produção de citocinas inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6, IL-12 e TNF- α , e expressam marcadores de maturação, incluindo CD54⁺, CD83⁺ e MHC classe II. A resposta imune humoral produz anticorpos que funcionam na opsonização e é mediada pelo complemento ou neutralização/imobilização. Duas lipoproteínas induzem altos títulos de anticorpos, TpN17 e TpN47 (HO e LUKEHART, 2011; LEADER et al., 2007).

Em comparação com sífilis primária, que mostra uma predominância de células T CD4⁺, a sífilis secundária mostra predominantemente CD8⁺ (citotóxica). No entanto, os motivos dessa predominância ainda não foram elucidados. O fator chave na determinação da duração das lesões é a capacidade das células inflamatórias em limpar o local infectado. Embora

isto pareça ser realizado com grande eficiência na lesão primária, a reação imune parece ser menos eficiente nas lesões secundárias. Isso provavelmente porque na lesão secundária existe números relativamente grandes de espiroquetas presentes tanto na lesão como em outros locais do corpo, e o mecanismo imunológico efetor ineficaz (CARLSON et al., 2011). No que concerne ao diagnóstico laboratorial, na sífilis secundária, todos os testes sorológicos são reagentes e os testes quantitativos tendem a apresentar títulos altos (BRASIL, 2010).

2.2.6 Sífilis latente

Apesar de uma resposta imune do hospedeiro que resulta em uma eliminação local eficaz de *T. pallidum*, as espiroquetas persistem em muitos tecidos sem desencadear sinais e/ou sintomas clínicos. Isto é denominado fase latente. A sífilis latente é dividida em duas fases, com base em uma aproximação do momento da infecção. Para o primeiro ano após a infecção, os pacientes são considerados como tendo sífilis latente precoce e a sífilis latente tardia é definida como a infecção assintomática de mais de um ano ou de duração desconhecida (BIRNBAUM, GOLDSCHMIDT e BUFFETT, 1999).

As pessoas podem receber um diagnóstico de sífilis latente precoce se, durante o ano que precede o diagnóstico, eles tinham 1) a soroconversão documentada ou uma sustentada (> 2 semanas) de quatro vezes ou mais aumento nos títulos de teste não treponêmicos; 2) Sintomas inequívocos de sífilis primária ou secundária; ou 3) Parceiro sexual documentado como portador sífilis precoce, primária, secundária, ou latente. Além disso, para pessoas com testes não treponêmicos e treponêmicos reagentes, cujo a única possível exposição tenha ocorrido durante os 12 meses anteriores, nesse caso a sífilis latente precoce pode ser assumida. Na ausência de tais condições, uma pessoa assintomática deve ser considerada como tendo sífilis latente tardia. No entanto, a sífilis latente não pode ser diagnosticada de forma fiável apenas com base dos títulos não treponêmicos, por exemplo, títulos sorológicos não treponêmicos geralmente são mais elevados no início do curso da infecção por sífilis. Deste modo, todas as pessoas com sífilis latente devem ser submetidos a um exame cuidadoso de todas as superfícies mucosas acessíveis (cavidade oral, região perianal, períneo e vagina nas mulheres, e abaixo do prepúcio em homens) para avaliar lesões nas mucosas (CDC, 2015).

Na prática clínica, é importante salientar que durante esta fase todos os testes sorológicos irão permanecer reagentes, observando, entretanto, uma redução dos títulos nos testes quantitativos. Para distinguir esta fase de uma infecção primária é preciso investigar no

líquor a presença de anticorpos, por meio do VDRL. Evidencia-se sífilis latente quando o VDRL é reagente no líquido, seguido de baixos títulos no soro (BRASIL, 2010).

2.2.7 Sífilis terciária

A sífilis terciária, afeta um terço das pessoas infectadas, e ocorre de três a quinze anos após a exposição inicial, podendo ser subdividido em três formas diferentes: sífilis gomatósa (15%), sífilis cardiovascular (10%) e neurosífilis (6,5%). A sífilis gomatósa é caracterizada por lesões suaves, tumoriformes inflamatórias de diferentes tamanhos que podem ocorrer em qualquer parte do corpo, geralmente acometendo pele e ossos. A sífilis cardiovascular pode assumir a forma de aortite, com dilatação do aneurisma secundário, regurgitação aórtica e isquemia cardíaca (SALEM et al., 2013). A neurosífilis pode ocorrer em qualquer estágio da infecção e tem apresentações variadas, a sífilis meningovascular pode resultar em acidente vascular cerebral e pode causar grandes alterações, dependendo das artérias envolvidas. Paresia geral é caracterizada por instabilidade emocional, déficit de memória e psicose. Alterações nas colunas posteriores levar a tabes dorsalis, evidenciada por ataxia sensorial das extremidades inferiores. É difícil prever quais os pacientes serão afetados por estas síndromes (MATTEI, GILSON e WISCO, 2012).

Na fase terciária, os testes sorológicos comumente são reagentes e os títulos dos testes não treponêmicos tendem a ser baixos, entretanto podem haver resultados não reagentes. Pacientes que apresentem sintomas neurais devem realizar o exame do LCR, considerando os critérios diagnóstico da neurosífilis. Destaca-se que a infecção pelo *Treponema pallidum* não confere imunidade permanente, assim, é imperioso distinguir entre a persistência de exames reagentes (cicatriz sorológica) e a reinfeção pela espiroqueta (BRASIL, 2010).

2.2.8 Diagnóstico

O diagnóstico da sífilis depende da correlação entre dados da história do indivíduo, informações clínicas e detecção de antígenos ou anticorpos por meio de testes laboratoriais. O diagnóstico laboratorial da sífilis é um pouco complicado, pois a espiroqueta não é cultivável e é de difícil detecção durante a fase de latência, e/ou quando em circulação no líquido. Daí a necessidade de associar a história do usuário, aos dados clínicos e laboratoriais. É necessário ainda conhecer a evolução da patologia, as diferentes fases apresentadas e a capacidade de

detecção de cada teste disponível, para sua adequada utilização (BRASIL, 2014; BRASIL, 2010).

Os testes para detecção da sífilis são categorizados em: Provas diretas e provas sorológicas. Por meio das provas diretas busca-se o patógeno nas amostras coletadas diretamente da lesão, estes incluem a observação direta da espiroqueta por microscopia de campo escuro e posteriormente a coloração pelo método de Fontana-Tribondeaux ou ainda por meio de imunofluorescência direta. Já as provas sorológicas distinguem-se pelos testes nos quais se realiza a investigação sorológica de anticorpos contra *T. pallidum*. Os testes sorológicos são classificados em treponêmicos e não treponêmicos. Testes não treponêmicos são mais sensíveis, e são utilizados para o rastreio inicial, enquanto que os testes treponêmicos específicos são utilizados para confirmar o diagnóstico. Acresce que para a definição do diagnóstico faz-se necessário a associação dos exames treponêmicos e não treponêmicos, sendo a ordem de consumação a critério do serviço de saúde (BRASIL, 2015; NAYAK e ACHARJYA, 2012).

Os testes sorológicos para sífilis, com a detecção de anticorpos não treponêmicos, continuam a ser o esteio do diagnóstico da doença e são amplamente utilizados para monitorizar o estado de infecção, enquanto que os testes treponêmicos são principalmente utilizados para confirmar a presença de infecção treponemal. A sensibilidade e especificidade de ambos os testes variam conforme o tipo de ensaio, bem como a fase de infecção da doença (KAURE e KAUR, 2015; MORSHED e SINGH, 2014; BALA et al., 2012; WIWANITKIT, 2009).

Os testes não treponêmicos detectam IgM e IgG produzidos pelo hospedeiro em resposta a material lipídico (na maior parte cardiolipina) liberado a partir de células hospedeiras danificadas em consequência da sífilis, entretanto, estudos sugerem que a cardiolipina seja liberada também pelas espiroquetas. Os testes não treponêmicos fundamentam-se na ligação dos anticorpos não treponêmicos a estruturas arredondadas chamadas micelas, desenvolvidas a partir de uma suspensão antigênica contendo cardiolipina, colesterol e lecitina. No preparo da suspensão antigênica, a ligação desses componentes para a formação das micelas ocorre ao acaso e resulta em floculação. Os flocos ou grumos variam em tamanho, e são visualizados a olho nu ou com o auxílio de um microscópio, dependendo do teste. A interpretação dos testes de floculação é subjetiva e, portanto, depende da experiência pessoal (BRASIL, 2015; KAURE e KAUR, 2015; MORSHED e SINGH, 2014; BRASIL, 2010).

Os testes não treponêmicos são utilizados principalmente como método qualitativo para rastreio, mas também, como técnica quantitativa, para acompanhamento da resposta terapêutica, uma vez que os declínios dos títulos de anticorpos refletem uma terapia bem

sucedida. Os títulos normalmente diminuem expressivamente após uma terapia efetiva. Estudos demonstram que pacientes com títulos altos no pré-tratamento tiveram uma maior taxa de decaimento do que aqueles com titulação mais baixa, mas menos susceptíveis de reverter para o estado negativo. Observou-se ainda que pacientes com infecções de repetição de sífilis precoce eram menos propensos a experimentar negatificação sorológica que aqueles com infecções iniciais. Ressalta-se que os pacientes tratados devem ser acompanhados por até 24 meses, podendo haver ampliação deste tempo para assegurar o declínio da titulação até o ponto desejado (KAURE e KAUR, 2015; MORSHED e SINGH, 2014).

Em uma pessoa saudável, os testes serão não reagentes, isto significa a ausência de anticorpos contra *Treponema pallidum*. Entretanto, como o antígeno avaliado no teste não treponemal é um componente de todas as membranas de células de mamíferos, quaisquer danos ao tecido hospedeiro por infecção, imunização, gravidez, mudanças relacionadas à idade, doenças autoimunes, dependência de drogas, doenças hepáticas, além de diversas doenças febris, como malária e tuberculose, podem resultar em falsos-positivos. A reatividade em tais casos é geralmente com diluições baixas (<1: 8), no entanto, em casos excepcionais ocorre a falsa reatividade em títulos muito elevados, por conseguinte, a titulação quantitativa não pode ser usada para diferenciar entre uma reação falso-positivo e sífilis (MORSHED e SINGH, 2014; NAYAK e ACHARJYA, 2012).

Os testes treponêmicos, são testes que utilizam como antígeno *Treponema pallidum*, e detectam anticorpos antitreponêmicos. Esses testes são realizados exclusivamente qualitativamente. Sua reatividade sugere que o usuário teve contato com *Treponema pallidum* em alguma época de sua vida e desenvolveu anticorpos específicos. São recomendados para confirmação do diagnóstico, após a triagem feita com um teste não treponêmico (BRASIL, 2010). Os testes treponêmicos podem detectar anticorpos IgM ou IgG, dependendo do kit de ensaio específico, e utilizam lisados completos de células de *T.pallidum* ou antígenos recombinantes. São testes úteis para confirmação do diagnóstico, porém, devido a sua possibilidade de automação, atualmente também são utilizados como estratégia de rastreio inicial. Anticorpos detectados por testes treponêmicos surgem mais cedo do que os detectados pelos não treponêmicos e normalmente permanecem detectáveis durante a vida, mesmo após tratamento bem sucedido. Não devem, portanto, ser usados para avaliar resposta à terapêutica, recidiva ou reinfeção em pacientes previamente tratados (BRASIL, 2015; KAURE e KAUR, 2015; MORSHED e SINGH, 2014).

Caracterizam-se como teste treponêmicos os seguintes testes: a) Ensaio Imunoenzimático - ELISA/EIA para detecção de anticorpos anti - *T. pallidum*; b) Ensaio imunológico com

revelação quimioluminescente – EQL para detecção de anticorpos anti – *T. pallidum*; c) Imunofluorescência indireta - FTA-Abs para detecção de anticorpos anti – *T. pallidum*; d) Aglutinação e hemaglutinação (TPPA, TPHA, MHATP) para detecção de anticorpos anti – *T. pallidum*; e) Imunocromatografia - teste rápido para detecção de anticorpos anti – *T. pallidum*; f) Western blot – WB para detecção de anticorpos anti – *T. pallidum*; e g) PCR para detecção de *T. pallidum* (BRASIL, 2015).

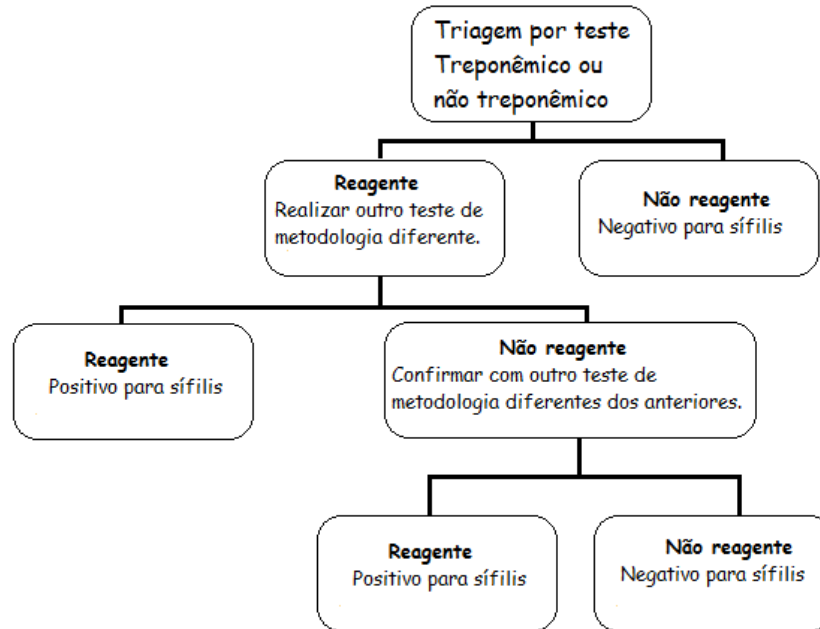
O TPHA é um ensaio de micro – hemaglutinação para os anticorpos IgM e IgG, que detecta anticorpos de soro humano para *T. pallidum* por meio de um método de hemaglutinação indireta utilizando eritrócitos conservados de aviário revestidos com os componentes antigênicos de *T. pallidum* (estirpe de Nichol). Estas células do teste aglutinam na presença de anticorpos específicos para *T. pallidum* e mostram padrões característicos em placas de micro titulação. Acresce que estes testes apresentam alta sensibilidade em todos os estágios da doença e durante a sífilis primária ainda muito cedo (KAURE e KAUR, 2015; NAIDU et al., 2012; SEÑA, WHITE e SPARLIG, 2010).

Nos ensaios imunocromatográficos de aglutinação, os antigênios recombinantes são ligados a partículas de látex, e utiliza os princípios de imunoensaio sobre uma tira de nitrocelulose como reagentes de captura para a detecção de anticorpos contra sífilis no soro. No geral, estes testes rápidos são altamente sensíveis e específicos. A Organização Mundial de Saúde comparou o desempenho de testes rápidos de sífilis a TPHA/ TPPA, relatando sensibilidade de 84,5% a 97,7% e especificidade de 92,8% a 98%. No entanto, acresce que as desvantagens são que eles não conseguem distinguir entre sífilis ativa e tratada, e reações falsas-positivas podem ocorrer (NAIDU et al., 2012; SEÑA, A. C., WHITE, B. L., SPARLIG, 2010).

A abordagem tradicional para o diagnóstico sorológico da sífilis é um processo de duas etapas: a triagem é feita pela primeira vez por testes não específicos para treponemas, seguido de um teste confirmatório para aquelas amostras com resultados positivos no teste inicial (CARLSON et al., 2011). Recentemente, o CDC (Centers for Disease Control and Prevention) recomendou um algoritmo reverso, em que os testes treponêmicos são realizadas primeiro como teste de triagem, seguido de um teste não treponêmico como um segundo passo. O CDC informou que o percentual de pacientes com resultados falso-positivos em testes não treponêmicos em populações de baixa prevalência foi especialmente alta, 2,9 vezes maior do que aqueles em populações de alta prevalência. Mas, a implementação do algoritmo reverso criou uma quantidade substancial de confusão e preocupação entre os profissionais de saúde e pacientes. Portanto, o CDC voltou a recomendar o algoritmo tradicional (HUH et al., 2016).

No Brasil, o diagnóstico da sífilis segue o preconizado pela Portaria nº 3.242, de 30 de dezembro de 2011, que estabelece o Fluxograma Laboratorial para diagnóstico da doença, como demonstrado abaixo.

Figura 3 – Fluxograma do diagnóstico laboratorial da sífilis



Fonte: Adaptado da portaria nº- 3.242, de 30 de dezembro de 2011.

2.2.9 Tratamento

Por mais de 50 anos, a penicilina parenteral tem sido usada com sucesso para tratar indivíduos com sífilis, com resolutividade clínica e prevenção da transmissão sexual. Deste modo, permanece sendo o tratamento de escolha para a sífilis, e ainda não há documentação de cepas resistentes à penicilina (HO e LUKEHART, 2011). A preparação utilizada (isto é, a benzatina, a procaína aquosa, aquosa ou cristalina), dosagem e duração do tratamento dependem da fase e as manifestações clínicas da doença. O tratamento para a sífilis latente tardia e sífilis terciária exigem uma maior duração da terapia, possivelmente porque os microrganismos se dividem de forma mais lenta nesta fase. A duração do tratamento é maior para as pessoas com sífilis latente de duração desconhecida para garantir que aqueles que não adquiriram a sífilis no último ano sejam tratados de forma adequada (CDC, 2015).

Macrolídeos, tais como eritromicina e azitromicina, e antibióticos, tais como tetraciclina e doxiciclina, são alternativas à penicilina parentérica em doentes alérgicos à penicilina, não grávidas. Enfatiza-se que infelizmente, com o aumento do uso de azitromicina, houve um aumento alarmante na prevalência de *T. pallidum* resistentes a macrolídeos, desta forma,

recomenda-se cautela ao recorrer ao uso de azitromicina para o tratamento da sífilis (NAYAK e ACHARJYA, 2012).

Para acompanhamento terapêutico o paciente deverá repetir o teste sorológico não treponêmico quantitativo (VDRL /RPR) aos três, seis e doze meses. Quando o teste sorológico não treponêmico der negativo, o paciente tem a garantia de ter sido curado. Geralmente, a soroconversão é obtida nos doentes com sífilis primária em cerca de 12 meses após o tratamento e naqueles com sífilis secundária em cerca de 24 meses. A soroconversão é mais rápida após a terapia, se a duração da infecção for curta e o título inicial for baixo. Como a soroconversão é um processo lento, que leva meses a anos, a taxa de declínio é o melhor indicador da resposta terapêutica. Desta forma, a diminuição de quatro vezes no título é considerada como uma boa resposta, e isso deve ocorrer dentro de três a seis meses após a terapia, em pacientes com sífilis primária e secundária, e no prazo de 12 meses, em pacientes com sífilis latente precoce, se os títulos se mantiverem baixos e estáveis em duas oportunidades. Após um ano, pode ser dada alta. O título VDRL pode não diminuir em doentes com sífilis tardia e a reagência permanecer a um nível baixo (<1:8) por muitos anos após o tratamento adequado, é o que se denomina memória ou cicatriz sorológica da sífilis. Baixos títulos podem persistir em aproximadamente 50% dos pacientes com sífilis tardia posteriormente a terapia adequada após dois anos (BRASIL, 2012; NAYAK e ACHARJYA, 2012).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivos gerais

- Avaliar a soroprevalência e comparar os ensaios sorológicos para detecção de *Treponema pallidum* em mulheres sexualmente ativas atendidas no município de Vitória da Conquista – BA;
- Identificar o perfil sócio demográfico e de saúde sexual relacionado a positividade para sífilis em mulheres sexualmente ativas atendidas no município de Vitória da Conquista – BA;

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar a soroprevalência da sífilis nas mulheres sexualmente ativas atendidas no município de Vitória da Conquista – BA;
- Comparar a especificidade, sensibilidade e taxa de concordância entre os testes sorológicos utilizados;
- Comparar perfil de citocinas no soro de mulheres reagentes ou não reagentes para sífilis.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Casuística

Este caracteriza-se como um estudo de corte transversal. Neste tipo de estudo é possível compreender a dimensão dos problemas de saúde em nível populacional, propiciando a identificação de grupos de interesse, expostos e não expostos, de modo a demonstrar a associação entre exposição e doença, apontando os subgrupos mais vulneráveis (PEREIRA, 1995).

O Município de Vitória da Conquista tem uma população estimada em 343.230 habitantes, sendo situado no sudoeste bahiano (IBGE, 2015). Este conta com 38 equipes de saúde da família, das quais 23 situam-se na zona urbana e 15 na zona rural. Isto representa uma cobertura de 63% na zona urbana, e 100% na zona rural. Destas, cinco Unidades de Saúde da Família (USFs), incluindo a zona urbana e rural, foram selecionadas para participar do estudo, a saber: USF do Pradoso, USF da Urbis V, USF CSU, USF Nelson Barros e USF do Miro Cairo. A seleção destas se deu por serem unidades de fácil acesso e fluxo intenso de usuários.

Para a determinação do cálculo amostral, foram utilizados a frequência de Sífilis na população e o tamanho total da população de Vitória da Conquista (346.230 habitantes). O cálculo amostral foi realizado para um poder estatístico de 95% e um nível de significância de 0,05. A amostra do presente estudo foi composta por 294 mulheres de faixa etária compreendida entre 14 e 78 anos, sendo que 230 destas apresentaram queixas sugestivas de ISTs e 64 negaram presença de sinais e sintomas relacionados. Acresce que todas as mulheres que buscaram atendimento nas unidades nas quais ocorreram o estudo, e se enquadravam nos critérios de inclusão, foram admitidas no mesmo.

A coleta de dados foi realizada entre os meses de Maio, Junho e Julho de 2011 e Janeiro de 2012. Foram convidadas aleatoriamente a participar do estudo, todas as mulheres que compareceram no período de coleta de dados as Unidades de Saúde da Família (USFs) supracitadas. Foram critérios de inclusão para a seleção: mulheres sem ou com sintomatologia de Infecções sexualmente transmissíveis, como corrimento cervical ou uretral, disúria, dispareunia, dor pélvica e outros sintomas genitais (prurido, erupções, petéquias, bolhas ou úlceras). Foram critérios de exclusão: uso de antibióticos nos três meses que antecederem à coleta e usuárias portadoras do vírus HIV. Ressalta-se que este estudo foi desenvolvido em conformidade aos preceitos da Resolução 466/12 do Conselho Nacional de Saúde. O projeto foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade de São Paulo (Parecer 998/ PROTOCOLO EM ANEXO 1). Todas as participantes responderam previamente um formulário padronizado contendo informações que

buscavam verificar o perfil sócio demográfico e perfil de comportamento sexual das mesmas. Foram obtidas informações sobre idade, estado civil, raça, grau de escolaridade, antecedentes menstruais, histórico obstétrico e sexual e antecedentes de ISTs (ANEXO 2). Nos casos das respostas que se enquadravam nos critérios de exclusão da pesquisa, o motivo da descontinuidade da participação era então informado a usuária. Antes da coleta de dados, foram apresentados os objetivos do estudo de forma sucinta e linguagem adequada às participantes do mesmo, seguida, da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (ANEXO 3) pelas usuárias concordantes. Após a aplicação do formulário as participantes do estudo foram direcionadas para a coleta da amostra sanguínea, necessária para a detecção sorológica do *Treponema pallidum*.

4.2 Coleta das amostras

A coleta das amostras sanguíneas ocorreu nos consultórios, de enfermagem ou médico, das unidades supracitadas, e foi realizada pelos responsáveis pela pesquisa e por vezes, quando solicitado, pelos profissionais de saúde das Unidades, habilitados para realização dos procedimentos. Acresce que quando a coleta foi realizada pelos profissionais de saúde das unidades, sempre havia um dos responsáveis pela pesquisa para contribuir na validação do estudo proposto.

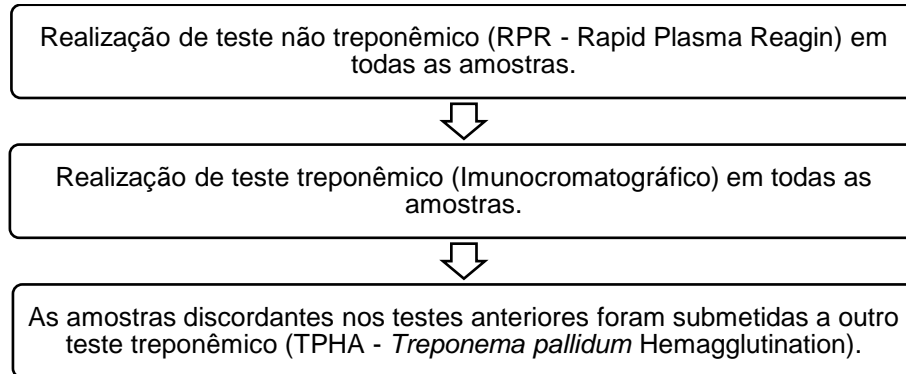
Antes da coleta das amostras de sangue o operador se preparou por meio da lavagem básica das mãos e uso de Equipamentos de Proteção Individual (EPI). As amostras sanguíneas foram então coletadas, por meio de punção venosa, preferencialmente, em membro superior não dominante. Foram retirados aproximadamente 2,5 mL

de sangue para este estudo, que foi então estocado em tubos do tipo Vacutainer, sem EDTA, posteriormente estes foram acondicionados e mantidos sob refrigeração (4°C) em caixa isotérmica até o processamento no Laboratório, em períodos inferiores a 24 horas da coleta. Estas amostras clínicas foram utilizadas para a detecção sorológica de *Treponema pallidum*.

Os materiais coletados foram levados para o Laboratório de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal da Bahia – Campus Anísio Teixeira, situado no mesmo município da coleta de dados, para análise e armazenamento. Os tubos sem EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid) foram centrifugados a 3.500 rpm por 10 minutos para obtenção de soro, seguido de sua distribuição em alíquotas de cerca de 1mL em eppendorfs e estocagem a – 80°C até o momento do uso.

4.3 Ensaios sorológicos

Para a triagem de infecção pelo *T. pallidum*, utilizou-se três etapas, como descrito no organograma abaixo:



4.3.1 RPR - Rapid Plasma Reagin

Inicialmente todas as amostras de soro incluídas neste estudo foram analisadas pelo teste não treponêmico, RPR BRAS ESTABILIZADO (Laborclin, Interlab, São Paulo, SP, Brasil). Para avaliação qualitativa, inicialmente realizou-se delicadamente, por meio de movimentos rotatórios, a homogeneização da suspensão antigênica no frasco durante 1 minuto, posteriormente usando uma micropipeta, transferiu-se 50 μ L da amostra para o centro do círculo da placa de Kline com 12 anéis, onde, mantendo-se o frasco na vertical, adicionou-se uma gota (20 μ L) desta suspensão antigênica em cada círculo da placa contendo amostra, homogeneizando a seguir. Posteriormente, a lâmina foi colocada em um agitador Kline, procedendo a agitação por 4 minutos (180 rpm). A leitura dos resultados foi realizada em seguida, ao microscópio em aumento de 100x. O teste foi considerado positivo, quando visualizado ao microscópio a floculação e, negativo na sua ausência.

Figura 4 – Placa de Kline com 12 anéis



Todas as amostras reagentes foram submetidas a avaliação quantitativa, pelo mesmo teste. Para tal, efetuou-se diluições seriadas de 50 μ L da amostra em ordem de 2 (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64...) até atingir um ponto em que a reação fosse negativa. Homogeneizou-se a suspensão antigênica, de forma cuidadosa, por inversão e dispensou-se exatamente uma gota (20 μ L) em cada um dos círculos. Controles positivos e negativos foram adicionados durante a realização de todos os testes. Posteriormente, a lâmina foi colocada em um agitador Kline procedendo a agitação por 4 minutos (180 rpm). A leitura dos resultados foi realizada em seguida, ao microscópio em aumento de 100x. O teste foi validado por meio da ausência de floculação no controle negativo e da floculação no controle positivo, caracterizando a reatividade do mesmo.

Figura 5 – Demonstrativo da distribuição da amostra na placa durante a etapa quantitativa

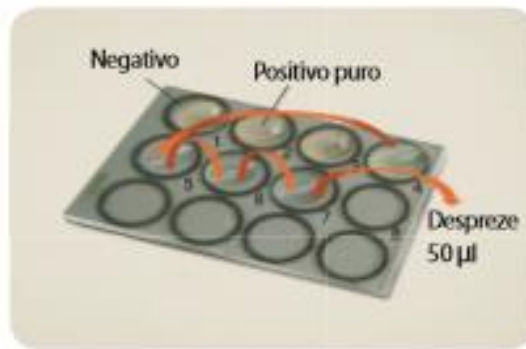
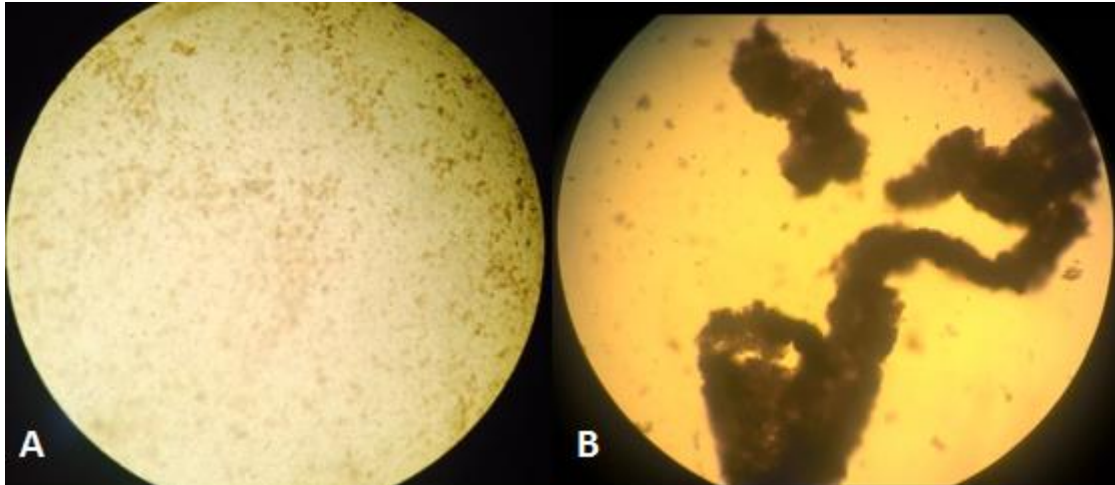


Figura 6 – Visualização microscópica da amostra após realização do RPR

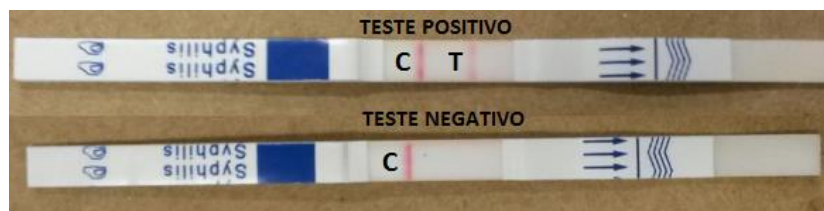


Legenda: (A) Ausência de floculação na amostra configurando em teste não reagente e (B) Floculação na amostra demonstrando um teste reagente

4.3.2 Imunocromatográfico

Todas as amostras foram submetidas ao teste treponêmico, por método Imunocromatográfico (Syphilis Ultra Rapid Test Strip, Abon Biopharm Co. Ltd., Hangzhou, China). Um teste rápido para diagnóstico de Sífilis, que age por meio da detecção simultânea de anticorpos (IgG e IgM) de *Treponema pallidum* em sangue total, soro ou plasma. Com as tiras teste, amostras, controles e solução tampão em temperatura ambiente foi iniciado o teste. Foram colocadas 50µL de cada amostra em cada tira teste, seguido de 1 gota (20 µL) da solução-tampão. Com 10 minutos procedeu-se a leitura dos resultados. Um controle de procedimento interno está incluído no teste. Uma linha vermelha aparecendo na região de controle (C) é considerada o controle de procedimento interno. O teste será invalidado caso não apareça nenhuma linha na região de controle (C). Neste estudo nenhuma tira foi invalidada.

Figura 7 – Fita teste de Imunocromatográfico

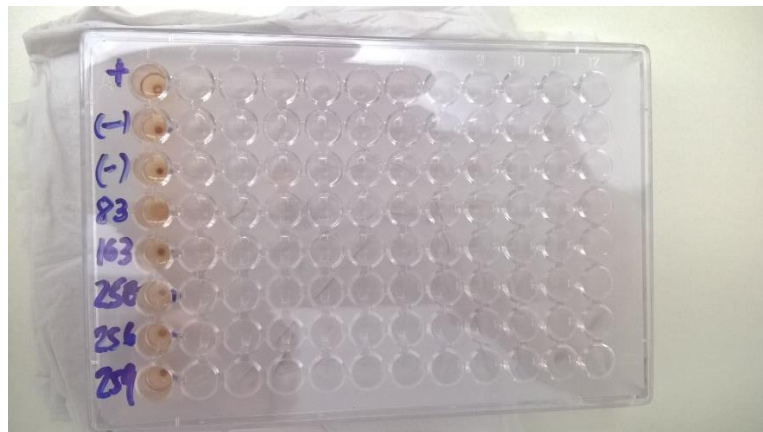


Legenda: O teste foi considerado positivo, quando visualizado duas linhas vermelhas distintas, uma na região da linha do Controle (C) e outra na região da linha do Teste (T).

4.3.4 TPHA - *Treponema pallidum* haemagglutination

Seguindo a portaria nº 3.242, de 30 de dezembro de 2011, nos casos em que houve divergência entre os resultados dos dois métodos anteriores, as amostras foram então submetidas ao terceiro teste, treponêmico, por meio do TPHA (Imuno - HAI, Wama, São Carlos, SP, Brasil). Conforme descrição metodológica do fabricante, a placa de hemaglutinação foi posicionada sobre um pano úmido para neutralizar as forças eletrostáticas. Foi realizada então a diluição em eppendorf das amostras (diluição 1:40). Colocou-se 50µL das amostra diluídas na placa, adicionando 50µL da suspensão homogênea de hemácias em cada cavidade. A placa então foi posicionada no agitador de placas por 4 minutos e deixada em repouso por exatamente 1 hora em temperatura ambiente, em local livre de vibrações. Por último prosseguiu-se a leitura. Foram adicionados controles positivos e negativos ao ensaio para validação do mesmo.

Figura 8 – Placa de Hemaglutinação



Legenda: O teste foi considerado positivo, quando visualizada deposição de hemácias no fundo da cavidade formando um tapete e, negativo quando as hemácias se depositaram no fundo da cavidade compondo um botão.

4.4 Dosagem de citocinas no soro

As dosagens das citocinas IL-1 β , IL6 e TNF α foram realizadas utilizando-se Kits de ELISA eBioscience (eBioscience, San Diego, C. A., Estados Unidos) e placas de 96 poços de poliestireno de alta absorção de acordo com os procedimentos descritos pelo fabricante. Após padronização de curva padrão e do volume mais adequado para amostra, uma alíquota de 100µL do soro das mulheres foram utilizados para dosar as citocinas. A leitura foi realizada com instrumento leitor de ELISA Vivid Vision com comprimento de onda de 450nm. A concentração de citocinas na amostra foi determinada em pmol/µL, comparando-se as absorbâncias obtidas em uma curva-padrão da respectiva citocina.

4.5 Análise estatística

As análises dos dados clínico-epidemiológicos foram realizadas através da estatística descritiva por meio do software SPSS 20.0® (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Para verificar a associação entre as variáveis estudadas foi aplicado o Teste qui-quadrado de Pearson (X^2), sendo considerados significativos os dados que apresentaram $p \leq 0,05$. Para verificar o poder da associação entre as variáveis, calculou-se a razão de chances (Odds ratio) com intervalo de confiança de 95%. Para maximizar a Função de verossimilhança do risco e descartar variáveis de confusão, empregou-se análise multivariada por regressão logística.

A sensibilidade e especificidade, foram calculados de acordo as fórmulas descritas na figura abaixo, com o auxílio do software SPSS 20.0® (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Intervalo de confiança (IC 95%). Para o estudo da concordância entre os testes sorológicos, foi utilizado o índice de Kappa e, para sua interpretação, os critérios de Landis e Koch (1977): $k = 0,00$ e $0,20$, pobre; $k = 0,21$ e $0,40$, razoável; $k = 0,41$ e $0,60$, moderada; $k = 0,61$ a $0,80$, substancial; e $k = 0,81$ a $1,00$, boa.

Tabela 1 – Relação entre doença e teste padrão ouro

	COM DOENÇA	SEM DOENÇA
TESTE POSITIVO	a Verdadeiro Positivo	b Falso Positivo
TESTE NEGATIVO	c Falso Negativo	d Verdadeiro Negativo

Sensibilidade = $a/(a + c)$

Especificidade = $d/(b + d)$

Valor preditivo positivo = $a/(a + b)$

Valor preditivo negativo = $d/(c + d)$

Para análise dos dados da quantificação das citocinas IL-1 β , IL6 e TNF-alfa entre pacientes com diagnóstico para *T. pallidum* positivo ou negativo foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.00 (*GraphPad Software*, San Diego California, USA). Os dados não apresentaram uma distribuição normal, desta forma, foi utilizado o teste não paramétrico Mann-Whitney, adotando-se valor de $p \leq 0,05$.

As amostras clínicas coletadas foram submetidas em outro estudo a PCR convencional para a Classe Mollicutes. Amostras positivas nesta PCR, foram submetidas a PCR espécie específica para a *M. hominis*, *M. genitalium* e *M. penetrans*. Além disto, as amostras também foram submetidas a PCR para diagnóstico diferencial para *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella*

vaginalis, *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Todos estes dados foram utilizados para a realização da correlação de sífilis as co-infecções supracitadas.

5 REFERÊNCIAS

AVELLEIRA, João Carlos Regazzi; BOTTINO, Giuliana. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. **An. Bras. Dermatol.** Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 111-126, Mar. 2006.

BALA, M., TOOR, A., MALHOTRA, M., KAKRAN, M., MURALIDHAR, S., & RAMESH, V. Evaluation of the usefulness of *Treponema pallidum* hemagglutination test in the diagnosis of syphilis in weak reactive Venereal Disease Research Laboratory sera. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**, n. 33, n.2, p. 102–106, 2012.

BAUGHN RE, MUSER DM. Secondary Syphilitic Lesions. **Clinical Microbiology Reviews**. v.18, n.1, p. 205-216, 2005.

BIRNBAUM, NR; GOLDSCHMIDT, RH; BUFFETT, WO. Resolving the common clinical dilemmas of syphilis. **Am Fam Physician**. v.59. n.8. p. 2233-40, 2245-6. 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Caderno de boas práticas: o uso da penicilina na Atenção Básica para a prevenção da sífilis congênita no Brasil** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Atenção ao pré-natal de baixo risco** / Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2012. 318 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica, n° 32)

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. 2010. 100 p. (Série TELELAB)

BRASIL. Congresso. Senado. Portaria nº 3.242, de 30 de dezembro de 2011. Dispõe sobre o Fluxograma Laboratorial da Sífilis e a utilização de testes rápidos para triagem da sífilis em situações especiais e apresenta outras recomendações. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, n. 1, Seção 1, p. 50 – 52, 02 jan, 2012.

BRASIL. Epidemiologia. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/noticia/2012/dia-nacional-de-combate-sifilis-governo-e-sociedade-civil-juntos-rumo-eliminacao-ate-20>. Acesso em: 26 de Abril. 2014.

BROTMAN, Rebecca. Vaginal microbiome and sexually transmitted infections: an epidemiologic perspective. *J. Clin. Invest.* n. 121. v.12. p. 4610 – 4617. 2011.

CAVALCANTE, Gabrielle Miguel Cruvinel Câmara; AMARAL, Waldemar Naves. The seroprevalence of syphilis in patients undergoing assisted reproduction. *reprodclim.* V. 29, N.1, p.3–7, 2014.

CARLSON, J. A.; DABIRI, G.; CRIBIER, B.; VENDA, S. The immunopathobiology of syphilis: the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *Am. J. Dermatopathol.* v. 33, n. 5, p. 433 – 460, 2011.

CARVALHO, E.; LENHARO, M. Sífilis aumenta em 13 de 14 estados com dados disponíveis sobre doença. Acessado em 12 de Novembro de 2015. Disponível em: <http://g1.globo.com/bemestar/noticia/2015/07/sifilis-aumenta-em-13-de-14-estados-com-dados-disponiveis-sobre-doenca.html>.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Syphilis Treatment and Care.** 2015. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/std/syphilis/treatment.htm>> Acesso em: 09 de Jan. 2016.

CRUZ, A. R., RAMIREZ, L. G., ZULUAGA, A. V., PILLAY, A., ABREU, C., VALENCIA, C. A., SALAZAR, J. C. Immune Evasion and Recognition of the Syphilis Spirochete in Blood and Skin of Secondary Syphilis Patients: Two Immunologically Distinct Compartments. *PLoS Neglected Tropical Diseases.* v.6, n.7, p.1717, 2012.

DIEZ, M.; DIAZ, A. Infecções sexualmente transmissíveis: Epidemiologia e controle. *Rev. esp. Sanid. Penit.* Barcelona, v 13, n. 2, 2011.

FRASER, C. M.; NORRIS, S. J.; WEINSTOCK, G. M.; WHITE, O.; SUTTON, G. G.; DODSON, R.; GWINN, M.; HICKEY, E. K.; CLAYTON, R.; KETCHUM, K. A.; SODERGREN, K.; HARDHAM, J. M.; MCLEOD, M. P.; SALZBERG, S.; PERERSON, J.; KHALAK, H.; RICHARDSON, D.; HOWELL, J.; CHIDAMBARAM, M.; UTTERBACK, T.; MCDONALD, L.; ARTIACH, P.; BOWMAN, C.; COTTON, M. D.; FUJII, C.; GARLAND, S.; HATCH, B.; HORST, K.; ROBERTS, K.; SANDUSKY, M.; WEIDMAN, J.; SMITH, H. O.; VENTER, J. C. Complete Genome Sequence of *Treponema pallidum*, the Syphilis Spirochete. *Science.* v. 281, n. 5375, p. 375 – 388, 1998.

FRITH, John. Syphilis – Its early history and Treatment until Penicillin and the Debate on its Origins. **Journal of Military and Veterans' Health**. v.20, n.4, 2012.

GIACANI, L., MOLINI, B. J., KIM, E. Y., GODORNES, B. C., LEADER, B. T., TANTALO, L. C., LUKEHART, S. A. Antigenic variation in *Treponema pallidum*: TprK sequence diversity accumulates in response to immune pressure during experimental syphilis. **Journal of Immunology**. v.184, n.7, p. 3822 – 3829, 2010.

GIACANI, L.; MOLINI, B.; GODORNES, C.; BARRETT, L.; VAN VOORHIS, W.; CENTURION-LARA, A.; LUKEHART, S. A. Quantitative Analysis of *tpr* Gene Expression in *Treponema pallidum* Isolates: Differences among Isolates and Correlation with T-Cell Responsiveness in Experimental Syphilis. **Infection and Immunity**. v.75, n.1, p. 104–112. 2007.

GIACANI, L., LUKEHART, S. A. The Endemic Treponematoses. **Clinical Microbiology Reviews**. v.27, n.1, p. 89–115, 2014.

GJESTLAND, T. The Oslo study of untreated syphilis; an epidemiologic investigation of the natural course of the syphilitic infection based upon a re-study of the Boeck-Bruusgaard material. **Acta Derm. Venereol**. v.35, p. 363 – 368, 1955.

GUERREIRO, Chayenne. Número de casos de sífilis aumenta mais de 300% na Bahia em 5 anos. Tribuna da Bahia, Bahia, 28 de jun, 2015. Disponível em: <<http://www.tribunadabahia.com.br/2015/06/28/numero-de-casos-de-sifilis-aumenta-mais-de-300-na-bahia-em-5-anos>>. Acesso em: 19 de set. 2015.

HO, E. L.; LUKEHART, S. A. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. **J. Clin. Invest**. v.121, n.12, p. 4584 – 4592, 2011.

HUGHES, Gwenda; FIELD, Nigel. The epidemiology of sexually transmitted infections in the UK: impact of behavior, services and interventions. **Future Microbiology**. v.10, n. 1, p. 35 – 51, 2015.

HUH, H. J., CHUNG, J.-W., PARK, S. Y., CHAE, S. L. Comparison of Automated Treponemal and Nontreponemal Test Algorithms as First-Line Syphilis Screening Assays. **Annals of Laboratory Medicine**. v.36, n.1, p.23–27, 2016.

IOMMI ECHEVERRIA, Virginia. Girolamo Fracastoro and the invention of syphilis. **Hist. cienc. saude-Manguinhos**. Rio de Janeiro, v. 17, n. 4, p. 877-884, 2010.

IZARD, J.; RENKEN, C.; HSIEH, C. E.; DESROSIERS, D. C.; EMS, S. D.; VAKE, C. L.; GEBHARDT, L. L.; LIMBERGER, R. J.; COX, D. L.; MARKO, M.; RADOLF, J. D. Cryo-Electron Tomography Elucidates the Molecular Architecture of *Treponema pallidum*, the Syphilis Spirochete. **J. Bacteriol.** v. 191 n. 24. p. 7566 – 7580, 2009.

KAMPMEIER, R. H. The Tuskegee study of untreated syphilis. **South. Med. J.** v.65, p.1247 – 1251, 1972.

KAUR, G., & KAUR, P. Syphilis testing in blood donors: an update. **Blood Transfusion**, v. 13, n.2, p. 197–204, 2015.

KASHYAP, B., SAGAR, T., & KAUR, I. R. Utility of immunochromatographic assay as a rapid point of care test for screening of antenatal syphilis. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**, v.36, n.2, p. 162–165, 2015,

KELESIDIS T. The Cross-Talk between Spirochetal Lipoproteins and Immunity. **Frontiers in Immunology.** v.5, p. 310, 2014.

KOHL PK, WINZER I. [the 100 years since discovery of *Spirochaeta pallida*] Jahre Entdeckung der *Spirochaeta pallida*. **Hautarzt.** v. 56, p.112-5, 2005.

JAFARI, Yalda et al. “Are *Treponema Pallidum* Specific Rapid and Point-of-Care Tests for Syphilis Accurate Enough for Screening in Resource Limited Settings? Evidence from a Meta-Analysis.” Ed. D. William Cameron. **PLoS ONE.** v.8, n.2 , 2016.

LAFOND, R. E.; LUKEHART, S. A. Biological Basis for Syphilis. **Clin. Microbiol. Rev.**, v. 19, n. 1, p. 29 – 49, 2006.

LANDIS JR, KOCH GG. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics.** v.33, p.159-174, 1977.

LEADER, B. T., GODORNES, C., VANVOORHIS, W. C., & LUKEHART, S. A. CD4⁺ Lymphocytes and Gamma Interferon Predominate in Local Immune Responses in Early Experimental Syphilis. **Infection and Immunity**, v.75, n.6, p. 3021–3026, 2007.

LIU, J.; HOWELL, J.K.; BRADLEY, S. D.; ZHENG, Y.; ZHOU, Z. H.; NORRIS, S. J. Cellular Architecture of *Treponema pallidum*: Novel Flagellum, Periplasmic Cone, and Cell Envelope as Revealed by Cryo-Electron Tomography. **J. Mol. Biol.** v. 403, n. 4, p. 546 – 561, 2010.

LUTHRA, A.; ANAND, A.; HAWLEY, K. L.; LEDOYT, M.; VAKE, C. J.; CAIMANO, M. J.; CRUZ, A. R.; SALAZAR, J. C.; RADOLF, J. D. A Homology Model Reveals Novel Structural Features and an Immunodominant Surface Loop/Opsonic Target in the *Treponema pallidum* BamA Ortholog TP_0326. **J Bacteriol**; v. 197, n. 11, p. 1906–1920, 2015.

MALLA, N.; GOYAL, K. Sexually Transmitted Infections: an overview, sexually transmitted infections. In: MALLA, N. (Ed.). **Sexually Transmitted Infections.** p. 3-28. 2012.

MATTEI, Peter L.; BEACHKOFISKY, Thomas, M.; GILSON, Robert T.; WISCO, Oliver J. Syphilis: A Reemerging Infection. **Am Fam Physician**. v.86, n.5, p.433 – 440, 2012.

MELO, F. L. DE, DE MELLO, J. C. M., FRAGA, A. M., NUNES, K., & EGGERS, S. Syphilis at the Crossroad of Phylogenetics and Paleopathology. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n.1, 2010.

MORSHED, M. G., SINGH, A. E. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. **Clinical and Vaccine Immunology - CVI**, v.22, n.2, p.137–147, 2015.

MURALIDHAR, S. Molecular methods in the laboratory diagnosis of sexually transmitted infections. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**, v. 36, n.1, p. 9–17, 2015.

NAIDU, N. K., BHARUCHA, Z. S., SONAWANE, V., & AHMED, I. (2012). Comparative study of Treponemal and non-Treponemal test for screening of blood donated at a blood center. **Asian Journal of Transfusion Science**, v. 6, n.1, p. 32–35, 2012.

NAYAK, S., ACHARJYA, B. VDRL Test and its Interpretation. **Indian Journal of Dermatology**. v.57, n.1, p. 3–8, 2012.

NORRIS, S. J. Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional, and immunologic roles. Treponema Pallidum Polypeptide Research Group. **Microbiol. Rev.** v. 57, n. 3, p. 750 – 779, 1993.

ORTALY, N. RINGHEIM, K. COLLINS, L. SLADDEN, T. Sexually transmitted infections: progress and challenges since the 1994 International Conference on Population and Development (ICPD). **Contraception Journal**. v. 90, n. 6, Supplement, p. S22–S31, 2014.

PAUDYAL, P., LLEWELLYN, C., LAU, J., MAHMUD, M., & SMITH, H. Obtaining Self-Samples to Diagnose Curable Sexually Transmitted Infections: A Systematic Review of Patients' Experiences. **PLoS ONE**, v.10, n.4, 2015.

PEELING, ROSANNA W., HOOK, EDWARD, W. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. **The Journal of Pathology. Special Issue: Infection and Disease: Cause and Cure**. v.208, n.2, p. 224 – 232, 2006.

PEELING, R. W. AND HOOK, E. W. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker. **Revisited. J. Pathol.** v.208, p.224–232, 2006.

RADOLF, Justin D. *Treponema pallidum* and the quest for outer membrane proteins. **Molecular Microbiology**. v. 16, n. 6, p. 1067-1073, 1995.

SALAZAR, J. C.; CRUZ, A. R.; POPEL, C. D.; VALDERRAMA, L.; TRUJILLO, R.; SARAIVIA, N. G.; RADOLF, J. D. *Treponema pallidum* Elicits Innate and Adaptive Cellular Immune Responses in Skin and Blood during Secondary Syphilis: A Flow-Cytometric Analysis. **J Infect Dis.** v.195, n.6, p. 879-887, 2007.

SALEM, K. M. I., MAJEED, H., BOMMIREDDY, R., & KLEZL, Z. Tertiary Syphilis in the Cervical Spine: A Case Report and Review of the Literature. **Global Spine Journal**, 3(1), 41–46, 2013.

SELLATI, Timothy J.; WILKINSON, David A.; SHEFFIELD, Jeanne S.; KOUP, Richard A.; RADOLF, Justin D.; NORGDARD, Michael V. Virulent *Treponema pallidum*, Lipoprotein, and Synthetic Lipopeptides Induce CCR5 on Human Monocytes and Enhance Their Susceptibility to Infection by Human Immunodeficiency Virus Type 1. **J Infect Dis.** v.181, n.1, p. 283 – 293, 2000.

SEÑA, A. C., WHITE, B. L., SPARLIG, P. F. Novel *Treponema pallidum* Serologic Tests: A Paradigm Shift in Syphilis Screening for the 21st Century. **Clin Infect Dis.** v. 51, n.6, p. 700-708, 2010.

SETHI, Sunil; SINGH, Gagandeep; SAMANTA, Palash; SHARMA, Meera. *Mycoplasma genitalium*: An emerging sexually transmitted pathogen. **Indiano J. Med. Res.** v. 136. n. 6. p. 942 – 955, 2012.

SINGH, A. E.; ROMANOWSKI, B.; Syphilis: Review with Emphasis on Clinical, Epidemiologic, and Some Biologic Features. **Clin. Microbiol. Rev.** v.12, n. 2, p. 187 – 209, 1999.

ŠMAJS, D., NORRIS, S. J., WEINSTOCK, G. M. Genetic diversity in *Treponema pallidum*: implications for pathogenesis, evolution and molecular diagnostics of syphilis and yaws. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v.12, n.2, p.191–202. 2012.

SWANSON J, WELCH J. The Great Imitator Strikes Again: Syphilis Presenting as “Tongue Changing Colors.” **Case Reports in Emergency Medicine.** 2016

TAMPA M; SARBU I; MATEI C, BENEVA V; GEORGESCU S. Brief History of Syphilis. **Journal of Medicine and Life.** v.7, n.1, p.4 – 10, 2014.

WEINSTOCK, George M.; HARDHAM, John M.; MCLEOD, Michael P.; SODERGREN, Erica J.; NORRIS, Steve J. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis. **FEMS Microbiology Reviews.** v.22, n.4, p.323 – 332. 1998.

WIWANITKIT, V. A cost-utility analysis of *Treponema pallidum* haemagglutination (TPHA) testing for syphilis screening of blood donors: is the TPHA test useful for syphilis screening in a blood centre? **Blood Transfusion**, v.7, n.1, p. 65–66, 2009.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Media centre. **Sexually transmitted infections (STIs)**. Fact sheet N°110. 2015. Disponível em: <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>> Acesso em: 18 Jan. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Infecções sexualmente transmissíveis folha de fato. Acessado em 26 de abril de 2014. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>.

ZOBANÍKOVÁ, M., MIKOLKA, P., ČEJKOVÁ, D., POSPÍŠILOVÁ, P., CHEN, L., STROUHAL, M., ŠMAJS, D. Complete genome sequence of *Treponema pallidum* strain DAL-1. *Standards. Genomic Sciences*. v.7, n.1, p. 12 – 21, 2012.

Capítulo 1

Seroprevalência de sífilis em mulheres atendidas em unidades de saúde da família do município de Vitória da Conquista (BA)

Lorena D' Oliveira Gusmão¹, Janinne Nascimento¹, Hellen Braga Martins^{1,2}, Aline Teixeira Amorim³, Guilherme Barreto Campos³, Tassia Neves Lobão³, Nathan das Neves Selis^{1,2}, Clarissa Leal Silva e Souza¹, Jéssica B. de Almeida^{1,2}, André Luis V. Almeida¹, Yasmin M. F. S. Andrade¹, Lucas S. C. da Silva¹, Flávia S. Nascimento¹, Tiana Baqueiro Figueiredo¹, Márcio V. Oliveira¹, Jorge Timenetsky³, Lucas M. Marques^{1,2*}

¹ Multidisciplinary Institute of Health, Universidade Federal da Bahia, Vitória da Conquista, Brazil.

² University of Santa Cruz (UESC), Campus Soane Nazaré de Andrade, Ilhéus, Brazil.

³ Department of Microbiology, Institute of Biomedical Science, University of São Paulo, São Paulo, Brazil.

Multidisciplinary Institute of Health: Rua Rio de Contas, 58 - Quadra 17 - Lote 58, Bairro Candeias - CEP: 45.029-094, Vitória da Conquista, BA, Brazil.

* Address correspondence to: Phone: +55 77 3429-2710. Fax: +55 77 3429-2710. e-mail: lucasm@ufba.br (Lucas Miranda Marques)

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a soroprevalência da sífilis, comparar a especificidade, sensibilidade e taxa de concordância entre os testes sorológicos utilizados, descrever o perfil sócio demográfico e de saúde sexual da amostra e dosar as citocinas no sangue coletado em mulheres sexualmente ativas atendidas no município de Vitória da Conquista – BA. A amostra foi composta por 294 mulheres atendidas em USF do município de Vitória da Conquista - BA. Foram obtidos dados clínico-demográficos, e amostras de sangue para as análises sorológicas e dosagens das citocinas. Identificou-se uma soroprevalência de 3,74% (11) para a doença, observou-se que o teste não treponêmico RPR não apresentou uma boa sensibilidade. Apesar disto, comparado ao Imunocromatográfico, demonstrou concordância substancial pelo indicador Kappa. A faixa etária prevalente foi entre 26 e 35 anos (29,9%), residentes em sua maioria na zona urbana (75,5%), cor parda (57,9%) e primeiro grau incompleto (38,1), a maioria informou um parceiro sexual na vida (47,3%), sem relacionamento estável (78,9%) vida sexual ativa (90,8%). Grande parte (63,3%) informaram nunca ter feito uso de preservativos e ter história pregressa de IST (71,1%), apresentaram média de 3 gestações, relato prévio de aborto (24,1%) e parto prematuro (5,1%). Dentre os fatores de risco avaliados, o único significativamente associado a sífilis foi idade ≥ 38 anos. No que concerne as citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF α quantificadas, não foi observada diferença estatisticamente significativa associada a presença da sífilis. Mulheres atendidas nas USF destacam-se enquanto população de alto risco para aquisição de ISTs, provavelmente pelo acesso dificultado aos serviços de saúde e prática sexual insegura, aponta-se a importância de se utilizar vários testes diagnósticos não treponêmicos para triagem e realização de exames confirmatórios treponêmicos, tendo em vista as diferentes sensibilidades dos testes.

Introdução

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) abrangem uma série de agravos, de variada etiologia infecciosa, no qual a transmissão sexual é relevante do ponto de vista epidemiológico (DIEZ e DIAZ, 2011). Estima-se que, a cada ano, 500 milhões de pessoas adquiram uma IST (BRASIL, 2015). São consideradas como um dos problemas de saúde mais comuns em todo o mundo, e estão entre as cinco categorias de doenças para as quais os adultos mais procuram cuidados de saúde, causando sobrecarga significativa nos recursos de saúde (PAUDYAL, 2015; BRASIL, 2014). Dentre as ISTs mais comuns encontramos a clamídia, gonorreia, sífilis e tricomoníase (SMAJS; NORRIS e WEINSTOCK, 2011).

A sífilis é uma moléstia sistêmica, que acomete exclusivamente o ser humano, conhecida desde o século XV. Seu agente etiológico, foi descoberto em 1905, por Fritz Schaudin e Paul Erich Hoffman, a quem deram o nome de *Treponema pallidum* (TAMPA et al., 2014). As principais vias de transmissão da sífilis são sexual e vertical. A doença demonstra evolução que alterna períodos de atividade com características clínicas, imunológicas e histopatológicas específicas (sífilis primária, secundária e terciária) e períodos de latência (sífilis latente). Quando não tratada, a doença pode evoluir para formas mais graves, podendo acometer os sistemas nervoso, cardiovascular, respiratório e gastrointestinal (BRASIL, 2010). Em 2014 foram registrados 19.999 casos de sífilis nos Estados Unidos, configurando uma taxa de 6,3 casos por 100.000 habitantes, taxa mais elevada relatada desde 1994. Esta taxa representou um aumento de 15,1% em número de casos comparado a 2013 (5,5 casos por 100.000 habitantes), e um aumento de 40,0% em relação a 2010 (4,5 casos por 100.000 habitantes) (CDC, 2014).

No Brasil, os casos de sífilis adquirida aumentaram em 13 dos 14 estados que possuem dados disponíveis acerca da sífilis adquirida. Na comparação entre 2013 e 2014, os estados que registraram aumento foram o Acre (96,1%), Pernambuco (94,4%), Paraná (63,1%), Tocantins (60%), Bahia (47%), Santa Catarina (34,1%), Distrito Federal (22%), Mato Grosso do Sul (6%), Mato Grosso (4,1%) e Sergipe (3,8%). Espírito Santo e Rio Grande do Norte, só possuem dados até 2013, e o aumento registrado entre 2012 e 2013 foi de, respectivamente, 31% e 31,5%. O estado do Amazonas foi o único que registrou queda do número de casos. Entre 2013 e 2014, as ocorrências reduziram em 20,2%. Entretanto, ressalta-se que estes dados ainda podem refletir subnotificação (CARVALHO e LENHARO, 2015). Na Bahia, no primeiro semestre de 2015, foram registrados 733 casos de sífilis adquirida. Os dados ainda apontam aumento de 300% dos casos

de sífilis congênita no estado nos últimos 5 anos, segundo dados da Secretária de Saúde do Estado da Bahia (SESAB) (GUERREIRO, 2015).

Estudos demonstram que a sífilis apresenta uma variada prevalência quando considerado aspectos distintos, como diversidade geográfica, espacial e até de grupo populacionais acometidos por este agravo. Assim impõe-se a necessidade da avaliação epidemiológica local, principalmente considerando grupos populacionais de risco. Considera-se que tais estudos são essenciais para orientar a ação clínica, alocar recursos, elaborar planos de intervenção, contribuindo se não para a eliminação, para a redução da incidência deste agravo (ENDRIS et al., 2014).

Deste modo, o presente estudo relata a investigação soroepidemiológica de *Treponema pallidum* em mulheres atendidas em Unidades de Saúde da Família do município de Vitória da Conquista - Bahia. O tema abordado é de suma importância por contribuir para o preenchimento de lacunas no campo do diagnóstico, favorecendo a identificação precoce da doença e a implementação imediata do tratamento, minorando os riscos de agravos e sequelas relacionadas e desta forma melhorando a assistência à saúde da população, trazendo importantes subsídios, não só para a formação acadêmica e profissional, mas para a sociedade como um todo.

Material e métodos

Desenho do estudo, local do estudo e população

Este estudo de corte transversal foi realizado nas Unidades de Saúde da Família do Município de Vitória da Conquista, situado no sudoeste bahiano, com uma população estimada em 343.230 habitantes (IBGE, 2015). A população do estudo foi composta por 294 mulheres de faixa etária compreendida entre 14 e 78 anos, assistidas em cinco Unidades de Saúde da Família do município, sendo duas em área rural e três em área urbana, a seleção destas se deu por serem unidades de fácil acesso e fluxo intenso de usuários.

Para a determinação da amostra do estudo foi realizado cálculo amostral, para tanto, foram utilizados a frequência de Sífilis na população e o tamanho total da população de Vitória da Conquista (346.230 habitantes). O cálculo amostral foi realizado para um poder estatístico de 95% e um nível de significância de 0,05. A amostra do presente estudo foi composta por 294 mulheres de faixa etária compreendida entre 14 e 78 anos, sendo que 230 destas apresentaram queixas sugestivas de ISTs e 64 negaram presença de sinais e sintomas relacionados. Acresce que todas as mulheres

que buscaram atendimento nas unidades nas quais ocorreram o estudo, e se enquadravam nos critérios de inclusão, foram admitidas no mesmo.

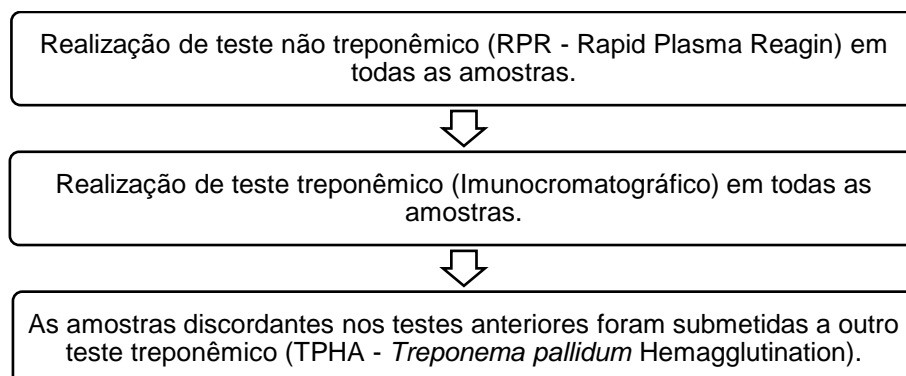
A coleta de dados foi realizada entre os meses de Maio, Junho e Julho de 2011 e Janeiro de 2012. O estudo foi aprovado previamente pelo Comitê de Ética em Pesquisa (Parecer nº 998) em Seres Humanos da Universidade de São Paulo. As informações demográficas e de comportamentos sexuais foram obtidas por meio um formulário estruturado contendo informações que incluíam idade, estado civil, raça, grau de escolaridade, antecedentes menstruais, histórico obstétrico e sexual. Após explicação do estudo, o consentimento formal foi obtido de todas as participantes. Após a assinatura do consentimento informal e aplicação do formulário, as participantes do estudo foram direcionadas para a coleta da amostra sanguínea, necessária para a detecção sorológica do *Treponema pallidum*.

Coleta das amostras

Foi obtido 5 ml de sangue de cada uma das participantes do estudo e estocado em tubos do tipo Vacutainer, sem EDTA (Ethylenediamine tetraacetic acid). Os materiais coletados foram levados para o Laboratório de Microbiologia e Imunologia da Universidade Federal da Bahia – Campus Anísio Teixeira, situado no mesmo município da coleta de dados. Os tubos foram centrifugados a 3.500 rpm por 10 minutos para obtenção de soro, seguido de sua distribuição em alíquotas de cerca de 1mL e estocados a – 80°C até o momento do uso. Estas amostras clínicas foram utilizadas para a detecção sorológica de *Treponema pallidum* e dosagem de citocinas.

Ensaios sorológicos

Para a triagem de infecção pelo *T. pallidum*, utilizou-se três etapas, como descrito no organograma abaixo:



As amostras de soro de todas as pacientes incluídas neste estudo foram analisadas pelo teste não treponêmico, RPR BRAS ESTABILIZADO (Laborclin, Interlab, São Paulo, SP, Brasil). O teste foi considerado positivo, quando visualizado ao microscópio a floculação e, negativo na sua ausência. Todas as amostras reagentes foram submetidas a avaliação quantitativa, com sucessivas diluições do soro em solução salina 0,9%. O teste foi validado por meio da ausência de floculação no controle negativo e da floculação no controle positivo. Todas as amostras também foram então submetidas ao teste treponêmico, utilizando o método Imunocromatográfico (Syphilis Ultra Rapid Test Strip, Abon Biopharm Co. Ltd., Hangzhou, China). Este é um teste rápido para diagnóstico de Sífilis, que age por meio da detecção de anticorpos (IgG e IgM) de *Treponema pallidum* em sangue total, soro ou plasma. As amostras testadas, positivas para os dois kits de diagnóstico sorológicos, foram consideradas como sífilis ativa ou não tratada, seguindo a portaria nº- 3.242, de 30 de dezembro de 2011, que dispõe acerca do fluxograma laboratorial para diagnóstico da sífilis.

Nos casos em que houve divergência entre os resultados dos dois métodos anteriores, as amostras foram então submetidas ao terceiro teste, treponêmico, por meio do TPHA (Imuno - HAI, Wama, São Carlos, SP, Brasil). O teste foi considerado positivo, quando visualizada deposição de hemácias no fundo da cavidade formando um tapete e, negativo quando as hemácias se depositaram no fundo da cavidade compondo um botão.

Todos os testes foram realizados de acordo as instruções dos fabricantes.

Dosagem de citocinas no soro

As dosagens das citocinas IL-1 β , IL6 e TNF α foram realizadas utilizando-se Kits de ELISA eBioscience (eBioscience, San Diego, C. A., Estados Unidos) e placas de 96 poços de poliestireno de alta absorção de acordo com os procedimentos descritos pelo fabricante. Após padronização de curva padrão e da diluição mais adequada para amostra, uma alíquota de 100 μ L do soro das mulheres foram utilizados para dosar as citocinas. A leitura foi realizada com instrumento leitor de ELISA Vivid Vision com comprimento de onda de 450nm. A concentração de citocinas na amostra foi determinada em pmol/ μ L, comparando-se as absorbâncias obtidas em uma curva-padrão da respectiva citocina.

Análise estatística

As análises dos dados clínico-epidemiológicos foram realizadas através da estatística descritiva por meio do software SPSS 20.0® (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Para

verificar a associação entre as variáveis estudadas foi aplicado o Teste qui-quadrado de Pearson (χ^2), sendo considerados significativos os dados que apresentaram $p \leq 0,05$. Para verificar o poder da associação entre as variáveis, calculou-se a razão de chances (Odds ratio) com intervalo de confiança de 95%. Para maximizar a Função de verossimilhança do risco e descartar variáveis de confusão, empregou-se análise multivariada por regressão logística.

A sensibilidade e especificidade, foram calculados de acordo as fórmulas descritas abaixo (tabela 1), através do software SPSS 20.0® (SPSS Inc., Chicago, Estados Unidos). Intervalo de confiança (IC 95%). Para o estudo da concordância entre os testes sorológicos, foi utilizado o índice de Kappa e, para sua interpretação, os critérios de Landis e Koch (1977): $k = 0,00$ e $0,20$, pobre; $k = 0,21$ e $0,40$, razoável; $k = 0,41$ e $0,60$, moderada; $k = 0,61$ a $0,80$, substancial; e $k = 0,81$ a $1,00$, boa.

Tabela 1 – Relação entre doença e teste padrão ouro

	COM DOENÇA	SEM DOENÇA
TESTE POSITIVO	a Verdadeiro Positivo	b Falso Positivo
TESTE NEGATIVO	c Falso Negativo	d Verdadeiro Negativo

Sensibilidade = $a/(a + c)$

Especificidade = $d/(b + d)$

Valor preditivo positivo = $a/(a + b)$

Valor preditivo negativo = $d/(c + d)$

Para análise dos dados da quantificação das citocinas IL-1 β , IL6 e TNF-alfa entre pacientes com diagnóstico para *T. pallidum* positivo ou negativo foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 5.00 (GraphPad Software, San Diego California, USA). Uma vez que os dados não apresentaram uma distribuição normal, foi utilizado o teste não paramétrico Mann-Whitney, adotando-se valor de $p \leq 0,05$.

Paralelamente, as amostras clínicas coletadas foram submetidas em outro estudo a PCR convencional para a Classe Mollicutes. Amostras positivas nesta PCR, foram submetidas a PCR espécie específica para a *M. hominis*, *M. genitalium* e *M. penetrans*. Além disto, as amostras também foram submetidas a PCR para diagnóstico diferencial para *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*. Todos estes dados foram utilizados para a realização da correlação de sífilis as co-infecções supracitadas.

Resultados

Perfil demográfico

Participaram deste estudo 294 mulheres, com idades entre 14 a 78 anos. Quanto às características sócio demográficas obteve-se que: a faixa etária mais prevalente foi entre 26 e 35 anos (29,9%), residentes em sua maioria na zona urbana (75,5%), cor parda (57,8%) e primeiro grau incompleto (38,1%). O perfil de saúde sexual revelou que a maioria das mulheres do estudo tiveram um parceiro sexual na vida (47,3%), não apresenta relacionamento estável (78,9%) e possui vida sexual ativa (90,8%). Grande parte das mulheres (63,3%) informaram nunca ter feito uso de preservativos e a maioria apresentou história progressa de IST (71,1%). Além disso, observou-se uma média de 3 gestações entre as estudadas, além de relato prévio de aborto (24,1%) e de parto prematuro (5,1%).

Soroprevalência da sífilis

Todas as amostras foram submetidas aos testes sorológicos para detecção da sífilis: RPR e Imunocromatográfico. Para o diagnóstico da sífilis levou-se em consideração a Portaria nº 3242, de 2011, no qual, não é permitida a liberação do laudo laboratorial para sífilis com resultado reagente obtido somente em uma metodologia diagnóstica. Desta forma, foi considerado amostra positiva para sífilis, aquela com RPR e Imunocromatográfico reagentes. Para os casos em que foram detectados discordâncias entre estes dois testes, realizou-se um terceiro teste treponêmico de confirmação, o TPHA. Deste modo, 11 foram identificadas como reagentes para sífilis, denominadas de caso, configurando em uma soroprevalência de 3,74% para a doença, e 283 (96,26%) foram consideradas não reagentes, sendo então denominadas de controle (tabela 2).

Tabela 2– Soroprevalência da sífilis em mulheres atendidas nas unidades de saúde

		Frequência	%
SÍFILIS	Reagente	11	3,74
	Não reagente	283	96,26
	Total	294	100,0

Comparação dos ensaios sorológicos para detecção de sífilis

A reatividade dos testes Imunocromatográficos e RPR foi avaliada em 294 soros, sendo RPR reagente em 8 (2,72%) amostras e não reagente em 286 (97,28%). O imunocromatográfico apresentou reatividade em 12 amostras (4,08%) e não reatividade em 282 (95,92%). A sensibilidade e a especificidade do teste RPR foram calculadas utilizando-se o teste Imunocromatográfico como técnica padrão (tabela 3), sendo observadas as taxas de 66,67% e 100%, respectivamente. O índice Kappa mostrou concordância classificada como “substancial” entre os métodos sorológicos avaliados.

Tabela 3 – Resultados obtidos por meio da correlação dos testes RPR e Imunocromatográfico, considerando o Imunocromatográfico como padrão ouro.

		IMUNOCROMATOGRÁFICO		Total
		Reagente	Não reagente	
RPR	Reagente	8	0	8
	Não reagente	4	282	286
	Total	12	282	294

Sensibilidade (8/ 12) = 66,67%

Especificidade (281/281) = 100%

Valor preditivo positivo = 100%

Valor preditivo negativo = 98%

Índice de kappa (IC_{95%}) = 0,79

As amostras reagentes no RPR foram quantificadas, como segue abaixo (tabela 4).

Tabela 4 – Distribuição dos títulos de RPR na população estudada

RPR (Titulação)	N (nº absoluto) N=294	Relativo %
1:1	4	1,36
1:2	2	0,68
1:4	1	0,34
1:32	1	0,34

Dentre as amostras testadas por meio de RPR e Imunocromatográficos, 4 (1,36%) obtiveram resultados discordantes, sendo então submetidos ao TPHA para confirmação diagnóstica, destas confirmou-se positividade para sífilis em três amostras (75%).

Perfis sócio demográfico e de saúde sexual da população testada para a presença de *Treponema pallidum* nas amostras de soro.

No que concerne aos perfis sócio demográfico e de saúde sexual, observou-se que o fato da paciente possuir idade ≥ 38 anos (p-valor= 0,003; OR= 14,609; 95% IC= 1,845 - 115,687)

mostrou-se como possível fator de risco para o desenvolvimento de sífilis. As demais análises não apresentaram associação significativa com a presença de *T. pallidum* na população. Ressalvas se fazem as variáveis aborto (p-valor= 0,19; OR: 2,98; IC95%=0,82-8,32), parto prematuro (p-valor= 0,19; OR: 4,13; IC95%=0,98-17,47) e história de IST (p-valor= 0,29; OR: 3,84; IC95%=0,50-29,51), que apesar da ausência de significância estatística, demonstraram tendência a serem possíveis fatores de risco, talvez mais facilmente evidenciados em população de estudo maior. E, morar na zona urbana (OR: 0,994; IC95%=0,94-1,05), possuir nível de escolaridade \geq ao ensino médio (OR: 0,981; IC95%=0,94-1,02), cor branca/ amarela (OR: 0,968; IC95%=0,93-1,01), apresentar vida sexual ativa (OR: 0,44; IC95%=0,10-1,92), não possuir relação estável (OR: 0,83; IC95%=0,18-3,75) e ter tido até um parceiro sexual na vida (OR: 0,98; IC95%=0,94-1,03), que apresentaram-se como possíveis fatores protetores ao agravo (Tabela 5).

Tabela 5 – Detecção de *Treponema pallidum* e sua relação com o perfil sociodemográfico e de saúde sexual da população de mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, 2016.

VARIÁVEIS	REAGENTE	NÃO REAGENTE	Odds Ratio (bruta)	IC 95%	p \forall
	PARA SÍFILIS	PARA SÍFILIS			
	N=11 n (%)	N=283 n (%)			
DADOS SÓCIODEMOGRÁFICO					
Região					
Rural	3 (4,2)	69 (95,8)	1,16	[0,32 - 4,24]	1,0
Urbana	8 (3,6)	214 (96,4)	1	[0,94 - 1,1]	
Idade					
> 38 anos	10 (8,0)	115 (92,0)	13,52	[1,75 - 104,25]	0,003
\leq 38 anos	1 (0,6)	168 (99,4)	0,93	[0,88 - 0,98]	
Cor					
Preta/ Parda/ Indígena	10 (4,5)	211 (95,5)	3,30	[0,43 - 25,37]	0,38
Branca/ Amarela	1 (1,4)	72 (98,6)	0,97	[0,93 - 1,01]	
Escolaridade					
< Ensino médio	8 (4,5)	171 (95,5)	1,71	[0,46 - 6,33]	0,61
\geq Ensino médio	3 (2,6)	112 (97,4)	0,98	[0,94 - 1,03]	
SAÚDE SEXUAL					
Primeira relação sexual					
\leq 15 anos	5 (3,2)	149 (96,8)	0,76	[0,24 - 2,43]	0,87
> 15 anos	6 (4,3)	134 (95,7)	1,01	[0,97 - 1,06]	
Vida Sexual					
Ativa	9 (3,4)	259 (96,6)	0,44	[0,10 - 1,92]	0,57
Inativa	2 (7,7)	24 (92,3)	1,05	[0,94 - 1,17]	
Relação estável					
Não	2 (3,2)	60 (96,8)	0,83	[0,18 - 3,75]	1,0
Sim	9 (3,9)	223 (96,1)	1,01	[0,96 - 1,06]	
Número de parceiros					
\geq 5	7 (4,5)	148 (95,5)	1,57	[0,47 - 5,25]	0,67
< 5	4 (2,9)	135 (97,1)	0,98	[0,94 - 1,03]	

Uso de Condôm					
Sempre	9 (3,5)	245 (96,5)	0,71	[0,16 - 3,16]	1,0
Raro/ ocasional	2 (5,0)	38 (95,0)	1,02	[1,02 - 0,94]	
Aborto					
Sim	5 (7,0)	66 (93,0)	2,62	[0,82 - 8,32]	0,19
Não	6 (2,7)	217 (97,3)	0,96	[0,90 - 1,02]	
Parto prematuro					
Sim	2 (13,3)	13 (86,7)	4,13	[0,98 - 17,47]	0,19
Não	9 (3,2)	270 (96,8)	0,9	[0,73 - 1,09]	
História progressa de IST					
Sim	10 (4,7)	201 (95,3)	3,84	[0,50 - 29,51]	0,29
Não	1 (1,2)	80 (98,8)	0,97	[0,93 - 1,00]	
Relato de úlcera genital					
Sim	0 (0)	4 (100)	nd	--	--
Não	11 (3,8)	278 (96,2)	--	--	

¥ p valor: significativo quando $\leq 0,05$.

Os grupos caso e controle foram agrupados e foram realizados teste de correlação (X^2) e de Odds Ratio, com a finalidade de verificar se a positividade nas PCRs para os diferentes microrganismos acresce o risco de acometimento de sífilis (Tabela 6). Relações de risco não foram detectadas, entretanto, ressalta-se a tendência de fatores de risco associados a presença correlata de *M. hominis* (OR: 1,97; IC95%=0,54-7,16) e *T. vaginalis* (OR: 3,17; IC95%=0,45-22,16).

Tabela 6 – Perfil das mulheres caso e controle para sífilis em relação à presença de *Mollicutes*, *M. hominis*, *M. genitalium*, *Trichomonas vaginalis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Gardnerella vaginalis* ou *Chlamydia trachomatis* detectados por PCR convencional em amostras de swab vaginal de mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, em estudos correlatos, entre 2011 e 2013.

VARIÁVEIS	REAGENTE	NÃO REAGENTE	Odds Ratio (bruta)	IC 95%	p ¥
	PARA SÍFILIS	PARA SÍFILIS			
	N=11 n (%)	N=283 n (%)			
PCR Mollicutes					
Positiva	8 (3,6)	215 (96,4)	0,85	[0,23 - 3,12]	1,0
Negativa	3 (4,2)	68 (95,8)	1,01	[0,95 - 1,06]	
PCR M. hominis					
Positiva	3 (6,4)	44 (93,6)	1,97	[0,54 - 7,16]	0,53
Negativa	8 (3,2)	239 (96,8)	0,97	[0,90 - 1,05]	
PCR M. genitalium					
Positiva	0 (0)	5 (100,0)	nd	--	1,0
Negativa	11 (3,8)	278 (96,2)	--	--	
PCR T. vaginalis					
Positiva	1 (11,1)	8 (88,9)	3,17	[0,45 - 22,16]	0,77
Negativa	10 (3,5)	275 (96,5)	0,92	[0,73 - 1,16]	
PCR N. gonorrhoeae					
Positiva	3 (4,8)	59 (95,2)	1,40	[0,38 - 5,13]	0,89
Negativa	8 (3,4)	224 (96,6)	0,99	[0,93 - 1,05]	
PCR G. vaginalis					

Positiva	6 (4,8)	118 (95,2)	1,65	[0,51 - 5,27]	0,59
Negativa	5 (2,9)	165 (97,1)	0,98	[0,94 - 1,03]	
PCR <i>C. trachomatis</i>					
Positiva	0 (0)	5 (100,0)	nd	--	1,0
Negativa	11 (3,8)	278 (96,2)	--	--	

¥ p valor: significativo quando $\leq 0,05$.

Análise Multivariada da detecção de *Treponema pallidum* e idade, história pregressa de aborto e de parto prematuro na amostra

Para maximizar a função de verossimilhança do risco e controlar o efeito de outras variáveis de confundimento, empregou-se análise multivariada por regressão logística para avaliar a contribuição independente das variáveis associadas com a detecção de *T. pallidum*. Todas as variáveis com valor $p < 0,25$ na análise univariada foram incluídas nesta análise. Não foram identificadas significâncias estatísticas associadas. (Tabela 7).

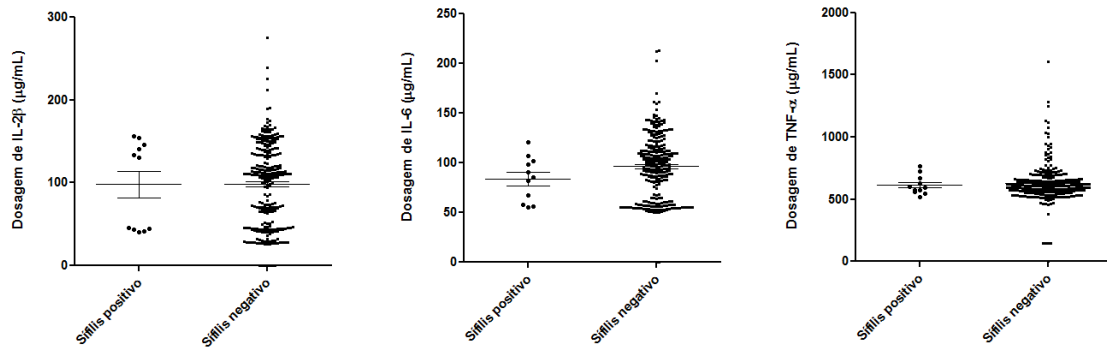
Tabela 7 – Associações das variáveis com a detecção de *Treponema pallidum* em mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, 2016, preditos por regressão logística, N = 294.

Regressão logística Multivariada	Odds Ratio	95% Intervalo de Confiança	p
Idade (≥ 38 anos)	14,61	nd	1,0
História pregressa de aborto	2,74	[0,14 - 1,67]	0,25
História pregressa de parto prematuro	4,62	[0,04 - 1,25]	0,09

Análises das dosagens das citocinas nos grupos caso e controle

Ao serem quantificadas as citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF α , no plasma sanguíneo das mulheres, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle para IL-1 β ($p= 0,8836$), IL-6 ($p= 0,1811$) e TNF α ($p= 0,7766$) (Figura 1).

Figura 1 – Quantificação de IL-1 β , IL-6 e TNF α (pg/mL) no plasma sanguíneo



Legenda: Quantificação de IL-1 β , IL-6 e TNF α (pg/mL) no plasma sanguíneo, por meio do ELISA, nos grupos caso e controle de mulheres atendidas em unidades de saúde de Vitória da Conquista – BA, 2016. (a) Concentração de IL-1 (pg/ml) no plasma sanguíneo das mulheres casos e controles (b) Concentração de IL-6 (pg/ml) no plasma sanguíneo das mulheres casos e controles (c) Concentração de TNF α (pg/ml) no plasma sanguíneo das mulheres casos e controles. Desvio padrão e média indicados por linhas sólidas no gráfico. Análise estatística realizada por Mann Whitney $p < 0,05$.

Discussão

A sífilis continua a ser um importante problema de saúde global, que destaca-se como grave problema de saúde pública no Brasil. O agravamento da epidemia da doença, com a elevação expressiva da sífilis adquirida em todo o mundo, fundamentalmente associada a relações sexuais desprotegidas, tem contribuído para alarmar a saúde pública (MALLMA et al., 2016; BRASIL, 2015). O reconhecimento da prevalência da sífilis e dos principais fatores de risco associados é de grande importância para a prevenção e controle da doença. Deste modo este estudo realizou uma investigação soropidemiológica de *Treponema pallidum* em mulheres atendidas em Unidades Saúde da Família do município de Vitória da Conquista - Bahia. Foram testadas para sífilis 294 mulheres, com idades entre 14 a 78 anos, nos meses de Maio, Junho e Julho de 2011 e Janeiro de 2012.

Todas as amostras foram submetidas aos testes sorológicos para detecção da sífilis: RPR e Imunocromatográfico. Destas, 11 foram identificadas como reagentes para sífilis, configurando em uma soroprevalência de 3,74% para a doença. Essa prevalência semelhante ao encontrada na população brasileira de 2,6% (ARAÚJO et al., 2013). Em Vitória da Conquista, em estudo realizado em 6.699 pacientes atendidas no laboratório, e tendo como base VDRL como teste de triagem, e Imunocromatográfico como teste confirmatório, foi identificado uma prevalência de 2% (PIRES et al., 2013). Variações superiores podem ocorrer a depender do estado brasileiro e da população estudada. No estado do Amazonas, por exemplo,

em 2014, em estudo realizado em bolsas de sangue, observou-se prevalência de 0,32% (GATO, FERREIRA E SANTANA, 2014). Entretanto, em São Paulo em estudo realizado em 2014, mas com população em situação de rua, encontrou-se uma prevalência de 7,0%, (PINTOI et al., 2014). Em outros países também foram verificadas diferentes prevalências. Em estudos realizados no Peru, identificou-se uma prevalência de 1,2% (MALLMA, 2016), enquanto que na Índia, 1,79% (SETHI, 2015). Nos Estados Unidos foi observado 0,9 casos por 100.000 mulheres (BOWEN, 2015) e em Gondar na Etiópia foi observado uma soroprevalência deste agravo de 2,9% (ENDRIS et al., 2015). Como visto anteriormente identificou-se uma distribuição heterogênea da doença em diferentes nações, provavelmente devido as diferenças econômicas e ambientais de cada país, além dos diferentes investimentos sanitários, que exercem grande influência na prevalência de quaisquer doenças, principalmente nas infectocontagiosas. Acresce que a OPAS (2004) enfatiza que taxas de prevalência da sífilis acima de 1% representa um fardo para a população, necessitando intervenção por meio de uma maior oferta dos serviços primários de atenção a saúde. Os países devem garantir a qualidade de tais serviços, aproximá-los da população e torna-los mais eficientes para alcançar os grupos mais vulneráveis (OPAS, 2015).

A sensibilidade e a especificidade do teste RPR foram calculadas utilizando-se o teste Imunocromatográfico como ensaio padrão ouro, acresce que em estudos realizados por Jafari e col. (2013) o método Imunocromatográfico tem alta sensibilidade e especificidade no soro e sangue, sendo descrito como semelhante ou melhor do que os testes não-treponêmicos atualmente em uso. Neste estudo, obteve-se 66,67% de sensibilidade e 100% de especificidade. A sensibilidade destes testes refere-se a proporção de pessoas com sífilis que têm um resultado verdadeiro positivo e, portanto, é uma medida da capacidade de um teste para detectar a infecção, esta deve variar de 85-98% em relação ao um teste padrão, já a especificidade destes testes, é a proporção de pessoas sem sífilis que tem um resultado de teste negativo e, portanto, uma medida da capacidade de um teste para excluir a infecção, deve variar de 93-98% (WHO, 2006). Desta forma observa-se que neste estudo o RPR não apresentou uma boa sensibilidade. Entretanto, no que concerne à especificidade do mesmo, obteve-se 100%. A explicação mais plausível para esta sensibilidade reduzida é, provavelmente, a baixa prevalência de sífilis de titulação elevada na amostra estudada. Yin et al. (2016) detectaram uma redução na sensibilidade do teste não-treponêmico entre os casos de titulação mais baixas. Da mesma maneira, Huh et al. (2016) observaram que teste RPR realizado em amostras com diferentes fases da sífilis (primária, secundária e fases latentes) apresentaram uma sensibilidade de 100%, 100% e 82,9%, respectivamente, reforçando que o RPR não é tão sensível às amostras de

titulação inferiores. Dentre as amostras testadas por meio de RPR e Imunocromatográfico, 4 (1,36%) obtiveram resultados discordantes, sendo então submetidos ao TPHA para confirmação diagnóstica, destas confirmou-se positividade para sífilis em três amostras (75%). Acresce que a amostra que manteve a discordância foi submetida novamente aos três testes para confirmação diagnóstica, mantendo o mesmo resultado, teste não treponêmico não reativo, teste treponêmico reativo e terceiro teste treponêmico confirmatório não reativo. Segundo o CDC (2011) resultados discordantes podem ocorrer devido uma infecção pregressa por sífilis, tratadas ou não, com persistência de anticorpos treponêmicos mas negatização sorológica de anticorpos não treponêmicos. Tais resultados sorológicos podem indicar que os testes treponêmicos foram mais sensíveis em uma detecção inicial ou em uma sífilis latente tardia que o teste não treponêmico (SEÑA, WHITE e SPARLIG, 2010).

Observa-se que caso fosse iniciado o rastreio por um teste não treponêmico, no caso, RPR 1,36% (4) das amostras deixariam de ser diagnosticados. Isso não ocorreria, em uma triagem iniciada a partir de um teste treponêmico, neste, percebe-se um aumento na sensibilidade, mas também amplia a quantidade de testes falso positivos, devido a memória. Ressalta-se que neste estudo em questão os testes foram realizados em concomitância.

Huh e colaboradores (2016) sugerem que o rastreio inverso pode identificar um maior número de pacientes com resultados de falsos positivos do que o algoritmo tradicional, especialmente se ele é usado em áreas de baixa prevalência, neste estudo, a taxa de falsos positivos global foi de 0,05% considerando o algoritmo tradicional e 0,13% de acordo com o algoritmo inverso.

Quanto aos fatores de risco avaliados no presente estudo, o único fator significativamente associado a sífilis foi idade ≥ 38 anos. Em estudos realizados um pouco antes, no mesmo município deste, a faixa etária mais prevalente foi ligeiramente inferior, de 20 – 29 anos (PIRES et al., 2013). Em pesquisas realizadas no Brasil a faixa etária mais prevalente da infecção, foi um pouco acima do observado neste estudo, ≥ 50 anos (PINTO et al., 2014). Ho et al (2014) observaram que participantes com idades entre 40 anos ou mais tenham um risco significativamente mais elevado para adquirir sífilis do que os demais. Da mesma maneira, Kane et al., (2015) identificaram em seus estudos que a soroprevalência de *T. pallidum* aumentou com a idade, e ponderaram que tal fato provavelmente reflete a incidência cumulativa, ou seja, baixo nível de anticorpos para *T. pallidum* produzidos por décadas após uma infecção. Como os testes treponêmicos detectam anticorpos específicos para *T. pallidum*, eles refletem incidência cumulativa em vez de infecção atual. Outra possível explicação que os autores alegam para a relação entre idade e soropositividade para *T. pallidum* inclui um efeito de coorte de nascimento, segundo o qual as gerações mais velhas podem ter sido sexualmente ativos

durante períodos em que a transmissibilidade de *T. pallidum* era mais comum (KANE et al., 2015). No entanto, segundo Cunha et al. (2015), o risco de aquisição de IST diminui em 22% para cada adicional de dez anos de idade.

Apesar de não possuir significância estatística, no presente estudo, morar na zona urbana, possuir nível de escolaridade \geq ao ensino médio, cor branca/ amarela, apresentar vida sexual ativa, não possuir relação estável e ter tido até um parceiro sexual na vida, apresentaram-se como possíveis fatores protetores ao agravo, o que pode resultar em uma significância epidemiológica em amostras maiores. Endris et al. (2014) corroboram com esses dados ao identificar alta taxa de infecção por sífilis entre as mulheres da zona rural, provavelmente pela dificuldade de acesso aos serviços de saúde. Baixa escolaridade, mais de um parceiro sexual na vida, história prévia de IST e comportamento sexual inadequado, como não usar preservativo na presença de IST, foram outros fatores associados a infecção por sífilis em estudo feito em Vitória (MIRANDA et al., 2012). Em estudo realizado recentemente foram identificados como fatores de risco estatisticamente significantes o analfabetismo, baixo status socioeconômico, múltiplos parceiros sexuais e história pregressa de IST, entretanto com relação ao estado civil, não foram encontradas significância estatística (NAYYAR et al., 2015). Foi observada uma relação inversa entre nível educacional e soropositividade para *T. pallidum* (CORSENAC et al., 2015).

Com base nos dados de PCR convencional obtidos por meio de estudos prévios, foram realizados teste de correlação e de Odds Ratio, com a finalidade de verificar se a positividade nas PCRs para os diferentes microrganismos acresce o risco de acometimento de sífilis. Relações de risco não foram detectadas, entretanto, ressalta-se a tendência de fatores de risco associados a presença correlata de *M. hominis* e *T. vaginalis*. Existem poucos dados de literatura que evidenciam a co-infecção de sífilis com outros microrganismos causadores de ISTs. Em estudo anterior foi observado que no geral, 51% dos pacientes acometidos por gonorréia tinham co-infecção com outras ISTs, sendo que a co-infecção mais comum era sífilis. Outras co-infecções associadas apontadas neste estudo foram por *C. albicans*, *C. trachomatis*, e herpes (BALA et al., 2011).

Ao serem quantificadas as citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF α , no plasma sanguíneo das mulheres, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle, para as citocinas pesquisadas. O que se assemelha ao encontrado em estudos anteriores, no qual, também não foi observado aumento significativo das citocinas selecionadas (TNF α , IL-1 β , IL-10 e IL-6) (CRUZ et al., 2012). Uma possibilidade é que a produção das citocinas é transitória e a nossa incapacidade para detectar níveis significativos pode ter sido

devido à expressão de citocinas em momentos diferentes da pesquisa (LIDER et al., 2007). Podwinska et al. (2000) verificaram uma discreta liberação de IL-6 na sífilis primária, seguido de um aumento cordato desta liberação na fase secundária da doença e um nível elevado na fase de latência, concluindo com um drástico declínio na fase terciária.

Este estudo destaca-se como um dos primeiros trabalhos de rastreio em sífilis adquirida no município, além de ter demonstrado os fatores de risco mais associados a prevalência deste agravo, fomentando futuras intervenções e fornecendo informações valiosas acerca das características epidemiológicas das mulheres desta região. Os achados apresentados podem impulsionar ações de saúde pública, fomentando a elaboração de estratégias preventivas e assistenciais, voltadas ao controle desse agravo, tendo em vista minimizar a morbidade nessa população. Além disso, o presente estudo identificou uma elevação discreta da soroprevalência da sífilis em mulheres assistidas na atenção primária a saúde, quando comparada a prevalência municipal, nacional e mundial, demonstrando que o controle e tratamento deste agravo deve continuar a ser uma importante prioridade de saúde pública. Deve-se incluir uma combinação de esforços de prevenção, tais como educação em saúde e intensa promoção do uso de preservativo, em todos os encontros oportunos com os usuários dos serviços de saúde. Sugere-se também que sejam realizadas pesquisas adicionais com populações maiores, a fim de compreender melhor a epidemiologia da sífilis, para suscitar a implementação de políticas de prevenção mais eficazes, voltadas as reais necessidades da população exposta.

Referências

BALA, MANJU ET AL. “Gonorrhoea & Its Co-Infection with Other Ulcerative, Non-Ulcerative Sexually Transmitted & HIV Infection in a Regional STD Centre.” **The Indian Journal of Medical Research**. v.133, n.3, p.346–349. 2011.

BOCOUM, FADIMA YAYA ET AL. Evaluation of the Diagnostic Performance and Operational Characteristics of Four Rapid Immunochromatographic Syphilis Tests in Burkina Faso. **African Health Sciences**. v.15, n.2, p.360–367. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Caderno de boas práticas: o uso da penicilina na Atenção Básica para a prevenção da sífilis congênita no Brasil** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil**. Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. 2010. 100 p. (Série TELELAB)

BRASIL. Congresso. Senado. Portaria nº 3.242, de 30 de dezembro de 2011. Dispõe sobre o Fluxograma Laboratorial da Sífilis e a utilização de testes rápidos para triagem da sífilis em situações especiais e apresenta outras recomendações. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília, DF, n. 1, Seção 1, p. 50 – 52, 02 jan, 2012.

BRIGNOL, Sandra et al . Vulnerability in the context of HIV and syphilis infection in a population of men who have sex with men (MSM) in Salvador, Bahia State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, Rio de Janeiro , v. 31, n. 5, p. 1035-1048, 2015.

CAMPOS, GUILHERME BARRETO. Detecção de *Mycoplasma hominis*, *M. genitalium* e *M. penetrans* no trato urogenital feminino e a sua relação com polimorfismos genéticos e expressão de citocinas em mulheres atendidas no município de Vitória da Conquista, BA / Guilherme Barreto Campos. São Paulo, 2013.

CARVALHO, E.; LENHARO, M. Sífilis aumenta em 13 de 14 estados com dados disponíveis sobre doença. Acessado em 12 de Novembro de 2015. Disponível em: <http://g1.globo.com/bemestar/noticia/2015/07/sifilis-aumenta-em-13-de-14-estados-com-dados-disponiveis-sobre-doenca.html>.

CDC. **Increase in Incidence of Congenital Syphilis — United States, 2012–2014**. v.64, n.44, p.1241-1245, 2015.

CRUZ ET AL. Immune Evasion and Recognition of the Syphilis Spirochete in Blood and Skin of Secondary Syphilis Patients: Two Immunologically Distinct Compartments. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 6, n.7, p.1717. 2012.

CUNHA, CYNTHIA B. ET AL. “*Chlamydia Trachomatis*, *Neisseria Gonorrhoeae* and Syphilis among Men Who Have Sex with Men in Brazil.” **BMC Public Health**. v.15, p. 686, 2015.

ENDRIS M, DERESSA T, BELYHUN Y, MOGES F. Seroprevalence of syphilis and human immunodeficiency virus infections among pregnant women who attend the University of Gondar teaching hospital, Northwest Ethiopia: a cross sectional study. **BMC Infectious Diseases**. v.15. p.111. 2015.

GATO, C. M., FERREIRA, M. P. S. B. C., SANTANA, L. K. L. Avaliação Qualitativa do Teste VDRL e Ensaio Imunocromatográfico na Triagem de Sífilis em Doadores de Sangue. **Scientia Amazonia**, v. 3, n.2, p.72-77, 2014.

GUERREIRO, Chayenne. Número de casos de sífilis aumenta mais de 300% na Bahia em 5 anos. Tribuna da Bahia, Bahia, 28 de jun, 2015. Disponível em: <<http://www.tribunadabahia.com.br/2015/06/28/numero-de-casos-de-sifilis-aumenta-mais-de-300-na-bahia-em-5-anos>>. Acesso em: 19 de set. 2015.

HU, QING-HAI ET AL. Risk Factors Associated with Prevalent and Incident Syphilis among an HIV-Infected Cohort in Northeast China. **BMC Infectious Diseases**. v.14, n.658. 2016.

HUH, H. J., CHUNG, J.-W., PARK, S. Y., & CHAE, S. L. Comparison of Automated Treponemal and Nontreponemal Test Algorithms as First-Line Syphilis Screening Assays. **Annals of Laboratory Medicine**. v.36, n.1, p.23–27. 2016.

KANE, M. A., BLOCH, E. M., BRUHN, R., KAI DAROVA, Z., & MURPHY, E. L. Demographic determinants of syphilis seroprevalence among U.S. blood donors, 2011–2012. **BMC Infectious Diseases**, v.15, n.63, 2015.

KANE, MARK ANDREW ET AL. Demographic Determinants of Syphilis Seroprevalence among U.S. Blood Donors, 2011–2012. **BMC Infectious Diseases**. v.15, n.63. 2016.

KASHYAP, B., SAGAR, T., & KAUR, I. R. Utility of immunochromatographic assay as a rapid point of care test for screening of antenatal syphilis. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**, v.36, n.2, p.162–165, 2015.

LANDIS JR, KOCH GG. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**. v.33, p.159-174, 1977.

LEE, J.-H., LIM, C. S., LEE, M.-G., & KIM, H.-S. Comparison of an automated rapid plasma reagin (RPR) test with the conventional RPR card test in syphilis testing. **BMJ Open**, v.4, n.12, 2014.

LEVY, ITZCHAK ET AL. Men Who Have Sex With Men, Risk Behavior, and HIV Infection: Integrative Analysis of Clinical, Epidemiological, and Laboratory Databases. **Clin Infect Dis**. v.52, n.11, p.1363-1370, 2011.

MALLMA P, GARCIA P, CARCAMO C, TORRES-RUEDA S, PEELING R, MABEY D, TERRIS-PRESTHOLT F. Rapid Syphilis Testing Is Cost-Effective Even in Low-Prevalence Settings: The CISNE-PERU Experience. **PLoS One**. v.11, n.3, 2016.

MIRANDA, Angélica Espinosa et al. Risk factors for syphilis in young women attending a family health program in Vitória, Brazil. **An. Bras. Dermatol.**, Rio de Janeiro , v. 87, n. 1, p. 76-83, Feb. 2012.

MOURA, Adriana Avilla; MELLO, Maria Júlia Gonçalves de; CORREIA, Jailson B. Prevalence of syphilis, human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and human T-lymphotropic virus infections and coinfections during prenatal screening in an urban Northeastern Brazilian population. **Int J Infect Dis**. v.39, p. 10-15, 2015.

NAYYAR, CHARU ET AL. Evaluation of Risk Factors in Patients Attending STI Clinic in a Tertiary Care Hospital in North India. **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**. v.36, n.1, p.48–52. 2016.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). Infecciones de Transmisión Sexual: Marco de referencia para la prevención, atención y control de las ITS. Herramientas para su Implementación. Washington, D.C.: OPS; 2004.

ORGANIZACIÓN PANAMERICANA DE LA SALUD (OPS). Eliminación de la transmisión maternoinfantil del VIH y la sífilis en las Américas. Actualización 2015. Washington, DC : OPS, 2015.

PAUDYAL, P., LLEWELLYN, C., LAU, J., MAHMUD, M., & SMITH, H. Obtaining Self-Samples to Diagnose Curable Sexually Transmitted Infections: A Systematic Review of Patients' Experiences. **PLoS ONE**, v.10, n.4, 2015.

PINTOI, V. M., TANCREDDI M. V., ALENCARI, H. D. R., CAMOLESII, E., HOLCMANII, M. M., GRECCOIII, J. P., GRANGEIROIV, A., GRECCOI, E. T. O. Prevalência de Sífilis e fatores associados a população em situação de rua de São Paulo, Brasil, com utilização de Teste Rápido. **Rev. Bras. Epidemiol**. p. 341-354, 2014.

PIRES, Muccio Costa Gondim, OLIVEIRA, Caline Novais Teixeira, SOUZA, Cláudio Lima, OLIVEIRA, Márcio Vasconcelos. Prevalence of syphilis, diagnostic methods and associated factors in patients treated in the laboratory of health Foundation of Vitória da Conquista (BA). **DST - J bras Doenças Sex Transm**. v.25, n.4, p.171-176, 2013.

PODWINSKA, J., LUSIAK, M., ZABA, R., BOWSZYC, J. The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic patients correlate to the progression of the disease. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**. v.28, n.1, p. 1-14. 2000.

SEÑA, A. C., WHITE, B. L., SPARLIG, P. F. Novel *Treponema pallidum* Serologic Tests: A Paradigm Shift in Syphilis Screening for the 21st Century. **Clin Infect Dis**. v. 51, n.6, p. 700-708, 2010.

SETHI, SUNIL ET AL. “Rising Trends of Syphilis in a Tertiary Care Center in North India.” **Indian Journal of Sexually Transmitted Diseases**. v.36, n.2, p.140–143. 2015.

ŠMAJS, D., NORRIS, S. J., WEINSTOCK, G. M. Genetic diversity in *Treponema pallidum*: implications for pathogenesis, evolution and molecular diagnostics of syphilis and yaws. **Infection, Genetics and Evolution: Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases**, v.12, n.2, p.191–202. 2012.

TAMPA M; SARBU I; MATEI C, BENEVA V; GEORGESCU S. Brief History of Syphilis. **Journal of Medicine and Life**. v.7, n.1, p.4 – 10, 2014.

TONG, MAN – LI ET AL. Analysis of 3 Algorithms for Syphilis Serodiagnosis and Implications for Clinical Management. **Clin Infect Dis**. v.58, n.8, p.1116-1124, 2014.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global Health Observatory (GHO) data. **2013**. Disponível em: http://gamapserv.who.int/gho/interactive_charts/sti/anc_syphilis_positive/atlas.html Acesso em: 10 fev. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Media centre. **Sexually transmitted infections (STIs)**. Fact sheet N°110. 2015. Disponível em: <http://www.who.int/reproductivehealth/topics/rtis/emtct-validation-cuba/en/> Acesso em: 20 fev. 2016.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **The use of Rapid Syphilis Tests. 2006**. Disponível em: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/43590/1/TDR_SDI_06.1_eng.pdf Acesso em: 20 fev. 2016.

YIN, YUE-PING ET AL. “A Dual Point-of-Care Test Shows Good Performance in Simultaneously Detecting Nontreponemal and Treponemal Antibodies in Patients With Syphilis: A Multisite Evaluation Study in China.” **Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America**. v.56, n.5, p.659–665. 2016.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Identificou-se uma soroprevalência de 3,74% (11) para a sífilis nas amostras testadas. Por meio da comparação dos métodos sorológicos não treponêmicos e treponêmicos para detecção da sífilis pode-se observar que o RPR não apresentou uma boa sensibilidade, quando comparado ao Imunocromatográfico, provavelmente, devido à baixa prevalência de elevada titulação nas amostras reagentes. Apesar disto, eles demonstraram concordância satisfatória pelo indicador Kappa (k). Quanto aos fatores de risco avaliados no presente estudo, o único fator significativamente associado a sífilis foi idade ≥ 38 anos. As variáveis aborto, parto prematuro e história pregressa de IST, apesar da ausência de significância estatística,

demonstraram tendência a serem possíveis fatores de risco, que poderiam ser mais facilmente evidenciados em população maiores. No que concerne as citocinas IL-1 β , IL-6 e TNF α quantificadas, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os grupos caso e controle. Possivelmente porque a produção das citocinas é transitória, dificultando a detecção no momento da pesquisa.

Deste modo, o presente estudo evidenciou que as mulheres atendidas nas unidades básicas de saúde destacam-se enquanto população de alto risco para aquisição de IST em virtude provavelmente do acesso dificultado aos serviços de saúde e uma prática sexual insegura, evidenciada pelo baixo uso de preservativo e pela alta prevalência de sífilis na amostra. Em relação aos testes laboratoriais, aponta-se a importância de se utilizar vários testes diagnósticos de triagem não treponêmicos e realizar exames confirmatórios treponêmicos, tendo em vista as diferentes sensibilidades dos testes, dependendo da fase da doença e da titulação de anticorpos da amostra, como observado por meio dos testes diagnósticos utilizados nesta pesquisa. Ressalta-se que análises detalhadas são necessárias, considerando um número maior de amostras para facilitar a compreensão das lacunas e desenvolver ações apropriadas para melhorar a qualidade e o acesso aos serviços de saúde. Atenta-se para o fato de que seria necessário estabelecer estratégias educativas eficientes, intuindo o estímulo a comportamentos sexuais mais seguro e pôr fim a redução da cadeia de transmissão deste agravo, com vistas à eliminação como meta nacional.

ANEXO 1



**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 telefax : (55) (11) 3091-8405
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 13 de junho de 2011.

PARECER 998/CEP

6

A Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB, na sessão realizada no dia 18.05.2011, **APROVOU** o projeto intitulado: "*Deteção de mollicutes no trato urogenital feminino e a sua relação com polimorfismos genéticos e expressão de citocinas em mulheres atendidas no município de Vitória da Conquista - BA*" sob responsabilidade de execução dos autores Prof. Dr. **JORGE TIMENETSKY** e o aluno **GUILHERME BARRETO CAMPOS**.

Cabe a pesquisadora executante elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais ou final), de acordo com a resolução 196/06 do Conselho Nacional da Saúde, item IX, 2 letra c.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **18.05.2012**.

Atenciosamente,

Prof. Dr. PAOLO M.A. ZANOTTO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

ANEXO 2

Universidade Federal da Bahia
Instituto Multidisciplinar em Saúde – Campus Anísio Teixeira
Programa de Pós-Graduação em Biociências

FICHA DE ATENDIMENTO GINECOLÓGICO		
NÚMERO:		DATA:
UNIDADE DE SAÚDE:		
NOME (Apenas Iniciais):		IDADE (Anos):
REGIÃO: 1. RURAL 2. URBANA <input type="checkbox"/>		ANO DO ÚLTIMO EXAME:
RAÇA/ COR: 1. BRANCA <input type="checkbox"/> 2. PRETA <input type="checkbox"/> 3. AMARELA <input type="checkbox"/> 4. PARDA <input type="checkbox"/> 5. INDÍGENA <input type="checkbox"/>		
MOTIVO DA CONSULTA:		
HISTÓRIA MENSTRUAL		
MENARCA (Anos):		DATA DA ÚLTIMA MENSTRUACÃO:
HISTÓRIA SEXUAL		
IDADE DO 1º INTERCURSO SEXUAL:	VIDA SEXUAL ATUAL:	RELAÇÃO ESTÁVEL:
	1. ATIVA <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>
	2. NATIVA <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>
LIBIDO:	ORGASMO:	
1. MANTIDA <input type="checkbox"/> 3. DIMINUÍDA <input type="checkbox"/>	1. FREQUENTE <input type="checkbox"/> 2. RARO <input type="checkbox"/> 3. NUNCA <input type="checkbox"/>	
2. PRESENTE <input type="checkbox"/> 4. AUMENTADA <input type="checkbox"/>		
NÚMERO DE PARCEIROS NA VIDA:	NÚMERO DE PARCEIROS (últimos 3 meses):	
1. 1 <input type="checkbox"/> 3. 6 a 9 <input type="checkbox"/>	1. 1 <input type="checkbox"/> 3. 3 <input type="checkbox"/>	
2. 2 a 5 <input type="checkbox"/> 4. 10 ou mais <input type="checkbox"/>	2. 2 <input type="checkbox"/> 4. 4 ou mais <input type="checkbox"/>	
DISPAURENIA:	SINUSIORRAGIA:	PRESERVATIVOS:

1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM SEMPRE <input type="checkbox"/>	3. RARAMENTE <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. ÀS VEZES <input type="checkbox"/>	4. NÃO NUNCA <input type="checkbox"/>
MÉTODO ANTICONCEPCIONAL:	TEMPO DE USO DE ANTICONCEPCIONAL:	COMO USA? (Solicitar descrição do uso)	
		2. CORRETAMENTE <input type="checkbox"/>	
		4. INCORRETAMENTE <input type="checkbox"/>	
HISTÓRICO OBSTÉTRICO			
NÚMERO DE GESTAÇÕES:	ABORTAMENTOS		
	ESPONTÂNEOS:		PROVOCADOS:
	PARTOS		
	PREMATUROS:	A TERMO NATURAIS:	A TERMO ARTIFICIAIS:
ANTECEDENTES PATOLÓGICOS			
DST		HIV	
1. PRÉVIA E TRATADA <input type="checkbox"/>		1. SIM <input type="checkbox"/>	
2. DESCONHECE OU NEGA <input type="checkbox"/>		2. NÃO <input type="checkbox"/>	
3. PRÉVIA E NÃO TRATADA <input type="checkbox"/>		3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	
SINTOMATOLOGIA			
CORRIMENTO	DISÚRIA	ODOR	
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. FÉTIDO <input type="checkbox"/>	
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. CARACTERÍSTICO <input type="checkbox"/>	
DOR PÉLVICA	PRURIDO	HIPEREMIA	
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	
VERRUGA	BOLHA/ VESÍCULA	FERIDA/ ÚLCERA	

1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>
	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>
PETÉQUIAS	OUTRO:	
1. SIM <input type="checkbox"/>		
2. NÃO <input type="checkbox"/>		
1. PARCEIRO/ SINTOMATOLOGIA	1.1 QUEIXA	
	1. SIM <input type="checkbox"/> 2. NÃO <input type="checkbox"/>	
1.2 HIPEREMIA	1.3 CORRIMENTO ANORMAL	1.4 VERRUGA
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>
3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>
1.5 BOLHA	1.6 DISÚRIA	1.7 PRURIDO
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>
3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>	3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>
1.8 DISPAURENIA	OUTRO:	
1. SIM <input type="checkbox"/>		
2. NÃO <input type="checkbox"/>		
3. NÃO SABE <input type="checkbox"/>		
HISTÓRIA DE TRATAMENTO ANTERIOR		
COMPRIMIDO	CREME VAGINAL	TEMPO

1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. 1 SEMANA <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. 2 SEMANAS <input type="checkbox"/>
		3. MAIS DE DUAS SEMANAS <input type="checkbox"/>
INJEÇÃO	PARCEIRO TRATADO	RELAÇÃO SEXUAL NO TRATAMENTO
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>	1. SIM COM CONDON <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. SIM SEM CONDON <input type="checkbox"/>
		3. NÃO <input type="checkbox"/>
2. PARCEIRO/ TRATAMENTO		2.1 SABE INFORMAR
		1. SIM <input type="checkbox"/>
		2. NÃO <input type="checkbox"/>
2.2 PARCEIRO TRATADO	2.3 TIPO DO TRATAMENTO	2.4 TRATAMENTO CONCOMITANTE C/ PARCEIRA
1. SIM <input type="checkbox"/>	1. COMP. <input type="checkbox"/>	1. SIM <input type="checkbox"/>
2. NÃO <input type="checkbox"/>	2. POMADA <input type="checkbox"/>	2. NÃO <input type="checkbox"/>
	3. INJEÇÃO <input type="checkbox"/>	
DATA ____/____/____		
ASSINATURA E CARIMBO		

ANEXO 3

Universidade Federal da Bahia
Instituto Multidisciplinar em Saúde – Campus Anísio Teixeira
Programa de Pós-Graduação em Biociências

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

ESTUDO: Comparação de métodos moleculares e sorológicos para avaliação da prevalência de sífilis em mulheres atendidas em unidades de saúde da família do Município de Vitória da Conquista (BA)

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto de pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, mas se desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu, _____,
profissão _____, residente e domiciliado na

_____, portador da Cédula de identidade, RG
_____, e inscrito no CPF/MF _____

nascido(a) em ____ / ____ / _____ , abaixo assinado(a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário(a) do estudo “**Comparação de métodos moleculares e sorológicos para avaliação da prevalência de sífilis em mulheres atendidas em unidades de saúde da família do Município de Vitória da Conquista (BA)**”. Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas.

Estou ciente que:

O estudo se faz necessário para que se possam Detectar *Treponema pallidum* e comparar os testes de detecção e quantificação dos microrganismos em mulheres sexualmente ativas com ou sem distúrbios genitais atendidas no município de Vitória da Conquista – BA, a ser estudada no projeto “**Comparação de métodos moleculares e sorológicos para avaliação da prevalência de sífilis em mulheres atendidas em unidades de saúde da família do Município de Vitória da Conquista (BA)**”;

- I) Serão feitas uma coleta de 5ml de sangue e 1 swab vulvovaginal, em período único.
- II) A participação neste projeto não tem objetivo de me submeter a um tratamento, bem como não me acarretará qualquer despesa financeira com relação aos procedimentos médico-clínico-terapêuticos efetuados no estudo;
- III) Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;
- IV) A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá interferir no atendimento ou tratamento médico;
- V) Os resultados obtidos durante este ensaio serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;
- VI) Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimento dos resultados, ao final desta pesquisa.
 - () Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
 - () Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.
- VII) Concordo que o material possa ser utilizado em outros projetos desde que autorizado pela Comissão de Ética deste Instituto e pelo responsável por esta pesquisa. Caso minha manifestação seja positiva, poderei retirar essa autorização a qualquer momento sem qualquer prejuízo para mim.
 - () Sim ou () Não

- IX) Poderei contatar a Secretaria do Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos do IMS/CAT/UFBA -, no Fone 3429-2709 para recursos ou reclamações em relação ao presente estudo.
- X) O sujeito de pesquisa ou seu representante, quando for o caso, deverá rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE - apondo sua assinatura na última página do referido Termo.
- XI) O pesquisador responsável deverá da mesma forma, rubricar todas as folhas do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE– apondo sua assinatura na última página do referido Termo.
- XII) Resolução 466/12 - Estou recebendo uma cópia deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Vitória da Conquista, de de

20..

() Paciente / () Responsável

Testemunha 1 : _____
Nome / RG / Telefone:

Testemunha 2: _____
Nome / RG / Telefone:

Responsável pelo Projeto: _____

PROF. DR. JORGE TIMENETSKY

