

UNIVERSIDADE SAGRADO CORAÇÃO

ANA CLÁUDIA MORO LIMA DOS SANTOS

PEDRO FELIPE MORO LIMA

**INCIDÊNCIA DE AMOSTRAS VDRL POSITIVAS NA
REGIÃO DE SÃO MANUEL
NO PERÍODO DE 2010 À 2014**

BAURU

2015

ANA CLÁUDIA MORO LIMA DOS SANTOS
PEDRO FELIPE MORO LIMA

INCIDÊNCIA DE AMOSTRAS VDRL POSITIVAS
NA REGIÃO DE SÃO MANUEL
NO PERÍODO DE 2010 À 2014

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Centro de Saúde da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Professora Dr^a Ana Paula Fávoro Trombone Garlet.

BAURU
2015

Santos, Ana Cláudia Moro Lima dos

S2373i

Incidência de amostras VDRL positivas na região de São Manuel no período de 2010 à 2014 / Ana Cláudia Moro Lima dos Santos; Pedro Felipe Moro Lima. -- 2015.

42f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Fávaro Trombone Garlet.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina)
– Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Treponema Pallidum. 2. Sífilis. 3. VDRL. 4. Diagnóstico. I. Lima, Pedro Felipe Moro. II. Garlet, Ana Paula Fávaro Trombone. III. Título.

ANA CLÁUDIA MORO LIMA DOS SANTOS
PEDRO FELIPE MORO LIMA

**INCIDÊNCIA DE AMOSTRAS VDRL POSITIVAS NA REGIÃO DE
SÃO MANUEL NO PERÍODO DE 2010 À 2014.**

Trabalho de conclusão de Curso apresentado ao Centro de Saúde da Universidade Sagrado Coração como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Professora Dr^a Ana Paula Fávaro Trombone Garlet.

Banca examinadora:

Professora Dr^a Márcia Aparecida Nuevo Gatti
Universidade Sagrado Coração

Professora Dr^a Ana Paula Fávaro Trombone Garlet
Universidade Sagrado Coração

Bauru, 01 de Dezembro de 2015

AGRADECIMENTOS

À Deus, pois tudo chega a um bom termo quando contamos com sua ajuda e proteção, por ter nos dado saúde e força para superar todas as dificuldades que se apresentaram, e nos proporcionado o privilégio de sermos irmãos e caminharmos juntos nesta jornada.

À nossa mãe Iolanda, por todo o alicerce familiar necessário ao desenvolvimento de um ser humano, baseado nos valores morais e éticos, pelo grande esforço e dedicação incondicional para nos propiciar a oportunidade de ter e ser o que hoje somos.

Aos nossos familiares, com dedicação especial ao nosso pai, por estarem sempre presentes em nossas vidas.

À esta Universidade, direção, administração e colaboradores, pois através do trabalho desempenhado, nos foi aberto uma janela que hoje vislumbramos um horizonte superior, e por toda a confiança, mérito e ética aqui presentes.

À nossa orientadora Professora Dr^a Ana Paula Fávoro Trombone Garlet, pelo suporte, dedicação e incentivo.

Aos professores do curso de Biomedicina, responsáveis por nossa formação com excelência, por toda paciência e tempo despendido.

Aos queridos colegas de equipe de trabalho do Laboratório São Manuel, por toda colaboração e suporte oferecido durante todas as etapas concluídas.

Em especial ao esposo e cunhado e à esposa e cunhada, João Paulo e Karina por todo amor, pelo essencial apoio e incentivo, e compreensão por nossas ausências e impaciências no decorrer desta jornada, sendo esta uma vitória conjunta.

E, finalmente a todos que direta ou indiretamente fizeram parte de nossa formação, o nosso mais sincero muito obrigado.

RESUMO

A sífilis, infecção causada pelo *Treponema pallidum*, é transmitida predominantemente pelo contato sexual (sífilis adquirida) e pela via transplacentária (sífilis congênita). Atualmente, na população brasileira sexualmente ativa, a incidência é de 937.000 casos por ano (OMS, 2008), sendo assim, um problema de saúde pública. O diagnóstico precoce da sífilis é fundamental para evitar a disseminação e evolução da doença, e dentre as técnicas disponíveis, destaca-se o exame laboratorial VDRL (*Venereal Diseases Research Laboratory*). Este exame por não ser específico para o *T. pallidum* é considerado um teste de triagem, porém, é de fácil execução, apresenta baixo custo e elevada sensibilidade. Adicionalmente, é um teste extensamente utilizado no monitoramento terapêutico. Com o intuito de avaliar a incidência de amostras VDRL positivas na região de São Manuel, cidade situada no interior de São Paulo, o presente estudo analisou 1683 resultados do teste VDRL provenientes de um laboratório de análises clínicas de cunho particular desta cidade no período de 2010 à 2014. Dos resultados analisados, 48 amostras foram reagentes, sendo que 25 pertenciam ao sexo feminino e 23 ao sexo masculino. Não foi observado aumento significativo no número total de amostra positivas entre os anos consecutivos. Por outro lado, quando analisou-se o número de amostras positivas e negativas entre os sexos masculino e feminino, o número de amostras positivas do sexo masculino foi significativamente maior no tanto no período 2010-2014, quanto nos anos de 2013 e 2014. Adicionalmente, dentre os resultados positivos, quando avaliou-se a distribuição entre as faixas etárias, uma amostra foi positiva na faixa etária infantil, quatro na juvenil, 33 na adulta e 10 na senil. Desta forma, os dados obtidos demonstram que apesar das políticas de prevenção, ainda observa-se resultados VDRL positivos sugerindo a incidência de sífilis adquirida e congênita na região de São Manoel.

Palavras-chave: *Treponema Pallidum*. Sífilis. VDRL. Diagnóstico.

ABSTRACT

Syphilis, infection caused by *Treponema pallidum*, is mainly transmitted by sexual contact (acquired syphilis) and transplacentally (congenital syphilis). Nowadays, with the sexually active Brazilian population, the incidence is 937,000 cases per year (WHO, 2008), therefore, a public health problem. Early diagnosis of syphilis is critical to prevent the spread and disease evolution, and among available techniques, laboratory examination VDRL (Venereal Diseases Research Laboratory) stands out. As this test is not specific for *T. pallidum* it is considered a screening test, however, it is easy to perform, and it showed low cost and high sensitivity. Additionally, it is widely used in therapeutic drug monitoring. In order to evaluate the incidence of positive VDRL samples in São Manuel region, a city localized in São Paulo state, the present study analyzed 1683 VDRL test results from a private clinical laboratory in this city from 2010 to 2014. From the results analyzed, 48 samples were positive, and 25 were female and 23 were male. There was no significant increase in the total number of positive samples among consecutive years. On the other hand, when the number of positive and negative samples between males and females were analyzed, the number of male's positive samples was significantly higher in 2010-2014 period, as in the years 2013 and 2014. In addition, among the positive results, when the distribution among age groups were evaluated, one sample was positive in children age group, four in youth, 33 in adult and 10 in senile. Thus, the data obtained show that despite prevention policies, positive VDRL results were observed suggesting the incidence of acquired and congenital syphilis in the São Manuel region.

Keywords: *Treponema pallidum*. Syphilis. VDRL. Diagnosis.

ABREVIATURAS

Anti-TP: Anticorpos anti-*Treponema pallidum*

ATP: Adenosine triphosphate

CD4: cluster of differentiation 4

CD8: cluster of differentiation 8

CDE: Célula dendrítica especializada

DFA-TP: Direct fluorescent-antibody testing for *Treponema pallidum*

DNA: Deoxyribonucleic acid

DST: Doença Sexualmente Transmissível

EDTA: Ethylenediamine tetraacetic acid

ELISA: Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

FTA-ABS: Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption

HIV: Human Immunodeficiency Virus

IFN: Interferon

IgG: Imunoglobulina G

IgM: Imunoglobulina M

IL: Interleucina

LCR: Líquido Céfal Raquidiano

LPS: Lipopolissacarídeos

MHA-TP: microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies

MS: Ministério da Saúde

nm: Nanômetro

OMS: Organização Mundial da Saúde

PCR: Polymerase Chain Reaction

PMN: Polymorphonuclear leukocytes

RNA: Ribonucleic acid

RPR: Rapid plasma reagin

SDS: Sulfato de dodecil de sódio

T. pallidum: *Treponema Pallidum*

TGF β : Transforming growth factor β

TMB: Tetrametilbenzidina

TNF: Tumor necrosis factor

TPHA: *Treponema pallidum* hemagglutination assay

TPI: *Treponema pallidum* immobilization

Tpr: Tryptophan biosynthetic pathway

TRL2: Toll-like receptor 2

VDRL: Venereal Diseases Research Laboratory

μm : Micrômetro

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014. Os gráficos representam o número total de amostras (T) e o número de amostras pertencentes ao sexo masculino (M) e feminino (F). (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras analisadas. 31
- Figura 2:** Distribuição das amostras analisadas quanto ao sexo masculino e feminino nos anos de 2010 a 2014. (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. N: Amostras negativas; P: Amostras positivas; N-M: Amostras negativas provenientes do sexo masculino; P-M: Amostras positivas provenientes do sexo masculino; N-F: Amostras negativas provenientes do sexo feminino; P-F: Amostras positivas provenientes do sexo feminino # $p < 0,05$ quando comparou-se o número de amostra positivas e negativas provenientes do sexo masculino com o número de amostra positivas e negativas provenientes do sexo feminino (testes Chi-square/Fisher). Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras. 32
- Figura 3:** Distribuição das amostras positivas em relação à faixa etária nos anos de 2010 a 2014. (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. T: número total de amostras positivas; I: indivíduos da faixa etária infantil; J: indivíduos da faixa etária juvenil; A: indivíduos da faixa etária adulta; S: indivíduos da faixa etária senil. Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras reagentes. 33

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 CONTEXTO HISTÓRICO	10
1.2 AGENTE ETIOLÓGICO E IMUNOPATOGENESE	12
1.3 TRANSMISSÃO E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	14
1.3.1 Sífilis primária.....	15
1.3.2 Sífilis secundária.....	15
1.3.3 Sífilis terciária.....	16
1.3.4 Sífilis congênita	17
1.5 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL	18
1.5.1 Provas diretas	19
1.5.2 Provas sorológicas.....	20
1.5.3 Prova de biologia molecular	24
1.6 TRATAMENTO E PROGNÓSTICO	24
2 JUSTIFICATIVA	26
3 OBJETIVOS	27
4 MATERIAIS E MÉTODOS	28
5 RESULTADOS	29
6 DISCUSSÃO	34
7 CONCLUSÃO	36
REFERÊNCIA	37
ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA ANÁLISE DOS DADOS DO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS SÃO MANUEL.	41

1 INTRODUÇÃO

A sífilis, infecção causada pelo *Treponema pallidum*, é transmitida predominantemente pelo contato sexual (Sífilis adquirida) ou pela via placentária (Sífilis Congênita). É uma doença caracterizada por vários estágios, os quais variam de manifestações clínicas brandas (erupções cutâneas indolores, mal-estar, febre, mialgia, etc) à severas (acometimento do sistema neurológico e cardiovascular). (MANDELROT, 2004; WOODS, 2005; WICHER, 2001). Apesar da existência de técnicas adequadas de diagnósticos, de medidas de prevenção e de tratamentos eficazes (baixo custo e de fácil acesso), a sífilis atinge anualmente cerca de 12 milhões de pessoas no mundo. No Brasil, na população sexualmente ativa, a incidência é de 937.000 casos por ano. (OMS, 2008). Desta forma, atualmente, a sífilis ainda é um problema de saúde pública.

1.1 CONTEXTO HISTÓRICO

O surgimento da sífilis há cerca 500 anos é um assunto controverso e se sustenta em duas teorias partidárias distintas, a do Novo Mundo e do Velho Mundo. A primeira teoria baseia-se na ideia de que a doença era endêmica na América e que teria sido introduzida na Europa pelos marinheiros de Cristóvão Colombo. Por outro lado, a teoria do Velho Mundo se apoia na tese de que as treponematoses já existiam no território europeu e que foram causadas por um único microrganismo, que com o decorrer do tempo, modificou-se e adquiriu características de virulência, permitindo assim, a transmissão sexual e o desencadeamento de epidemias. (QUÉTEL, 1992; MORTIN, 2001).

Polêmicas à parte é fato amplamente aceito pela historiografia mundial que no final do século XV irrompeu na Europa uma epidemia muito grave de sífilis. A disseminação da doença foi relacionada com a campanha militar do rei da França, Carlos VIII, que reivindicava o reino de Nápoles. Seu exército era composto em grande parte por mercenários recrutados em diversas nações. Estes, ao adentrarem o território de Roma, participavam de orgias e comemorações sempre acompanhadas por uma legião de prostitutas. Neste período iniciou-se a documentação empírica da sífilis através de relatos de dois médicos venezianos que serviam no front do rei Carlos VIII:

Marcellus Cumano e Alexandri Benedetto. Quando o exército de Carlos VIII foi disperso, os mercenários regressaram a seus locais de origem, deixando focos da doença nos locais por onde passavam, fatos estes, registrados em crônicas, poemas e relatos de médicos da época. (QUÉTEL, 1992). A doença foi denominada sífilis devido a um poema escrito por Girolamo Fracastoro intitulado “*Syphilis sive morbus gallicus*”, baseado na crença popular de que um pastor de nome Syphilus havia amaldiçoado o deus Sol e como punição teria sido afetado pela doença. (SCLIAR, 1996; AMARAL, 1966). Fracastoro, tempos mais tarde, apontou que o contágio ocorria por meio de minúsculas e invisíveis partículas, o que ele chamou de *seminaria contagione*. (HUDSON, 2006). O caráter venéreo da doença foi então identificado, e ela passou a ser relacionada com o pecado e percebida como consequência de punição divina. (ARRIZABALAGA, 1997).

Semelhante ao ocorrido com a hanseníase, os pacientes com sífilis foram segregados e submetidos a diversos tratamentos empíricos. Mercúrio, arsênico, bismuto e iodetos foram utilizados, porém, demonstraram baixa eficácia, elevada toxicidade e dificuldades operacionais. Diante disto, pesquisadores de diversas nações iniciaram pesquisas com o intuito de buscar um tratamento efetivo para esta doença, a qual tomava proporções devastadoras. (NETO, 2009).

Assim, entre 1932 a 1972, o Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos da América realizou pesquisas, cujo projeto escrito nunca foi localizado, as quais envolviam homens negros, sendo que, um grupo foi composto por indivíduos com sífilis, e o outro, com indivíduos saudáveis. O objetivo deste estudo, conhecido como Estudo Tuskegee (nome do centro de saúde onde a pesquisa foi realizada) foi observar a evolução da doença sem a interferência de tratamento. Porém, em desacordo com o tratado de Nuremberg e com outros programas relacionados à ética na pesquisa humana, os participantes do estudo não foram informados quanto ao diagnóstico (sífilis) e as complicações que doença poderia acarretar, ou seja, a inadequação do estudo consistiu na omissão do diagnóstico e do prognóstico da doença. (GOLDIM, 1999). Em contrapartida, os participantes foram contemplados com acompanhamento médico, uma refeição servida no dia dos exames, pagamento das despesas funerárias e prêmios em dinheiro. A partir da década de 50, mesmo com a terapêutica estabelecida para de sífilis, todos os indivíduos incluídos no estudo foram mantidos sem tratamento. Este caso

tomou proporções escandalosas e veio à tona apenas quatro décadas mais tarde, revolucionando a ideologia ética da pesquisa humana. (GOLDIM, 1999).

O tratamento efetivo da sífilis foi demonstrado em 1943, em um estudo realizado por Mahoney, o qual comprovou a eficácia da penicilina em todos os estágios sífilíticos (MAHONEY, 1943). Assim, atualmente a penicilina é droga de escolha para o tratamento da sífilis. (AVELLEIRA, 2006).

1.2 AGENTE ETIOLÓGICO E IMUNOPATOGÊNESE

O *Treponema pallidum*, agente etiológico da sífilis, é uma espiroqueta que possui filamento em espiral enrolado sobre o próprio eixo, com 6 a 14 espirais regulares e idênticas, medindo cerca de 0,10 a 0,18 µm de diâmetro e 6 a 20 µm de comprimento. (ANTAL, 2002; WEINSTOCK, 1998). Adicionalmente, o *T. pallidum* é constituído por duas membranas, uma citoplasmática, e a outra externa, e ainda uma fina camada de peptidoglicano. O movimento característico, repetitivo e ondulante, e a motilidade em saca-rolhas (espiral) deve-se à presença de um endoflagelo localizado entre a membrana citoplasmática e a externa. (LAFOND, 2006). Estudos comprovaram que o *T. pallidum* tem capacidade metabólica limitada para a síntese de aminoácidos e carboidratos, requerendo assim, múltiplos nutrientes do hospedeiro. Apesar de realizar a glicólise como via para a obtenção de ATP, carece de enzimas do ciclo do ácido tri-carboxílico e de cadeia de transporte de elétrons. (FRASER, 1998). Diante da limitação metabólica, e associada à sensibilidade ao oxigênio e ao calor, esta bactéria não cresce em cultura *in vitro*, prejudicando assim, o conhecimento da sua biologia. (FIELDSTEEL, 1981).

O genoma do *T. pallidum* não revela fatores de virulência clássicos que poderiam esclarecer os sinais e sintomas sífilíticos. (FRASER, 1998). Estudos indicam que esta bactéria é desprovida da membrana composta de lipopolissacarídeos (LPS), endotoxina encontrada na membrana externa de inúmeras bactérias Gram Negativas, responsável pela febre e inflamação; e, apesar de possuírem genes similares aos das hemolisinas bacterianas, preparações recombinantes de proteínas codificadas por eles, não demonstraram atividade hemolítica. (FRASER, 1998; WEINSTOCK, 1998; LAFOND, 2006).

Apesar dessa carência de fatores de virulência, estudos experimentais e a exploração do genoma, forneceram informações recentes referentes aos aspectos

patogênicos da sífilis. Estes estudos demonstram que: (1) Os genes associados à motilidade são conservados, o que garante a atividade altamente invasiva destas espiroquetas; (2) O *T. pallidum* contém uma grande família de genes Tpr que codificam de forma alternada as proteínas da membrana externa e funcionam como porinas e adesinas. A maioria destas proteínas codificadas pelos genes Tpr são capazes de induzir uma resposta imune na sífilis experimental. (LAFOND, 2006; SUN, 2004).

Em relação à imunopatogenia, a estratégia invasiva primária do *T. pallidum*, bem como de outras bactérias patogênicas, é a adesão às células do hospedeiro, tornando viável a invasão, replicação e conseqüente disseminação deste patógeno no indivíduo. Esse mecanismo de adesão é mediado pela presença adesinas, presentes na membrana do patógeno, as quais se fixam à matriz extracelular do hospedeiro, especificamente nas proteínas adesivas fibronectina e lamininas. (LEE, 2003).

Ainda sobre o processo de invasão, a motilidade do *T. pallidum* conferida pela presença de endoflagelos permite ao mesmo migrar de um ambiente desfavorável para outro local favorável à sua sobrevivência. Adicionalmente, a enzima metaloproteinase-1, a qual induz a quebra do colágeno, facilita a invasão e disseminação desta bactéria por tecidos e órgãos. Estes mecanismos patogênicos permitem que o *T. pallidum* atravesse a barreira epitelial, placentária, ou até mesmo a barreira hematoencefálica. (FRASER, 1998; HAGMAN, 1997; CHUNG, 2002).

Após a invasão do patógeno, ocorre o reconhecimento antigênico por meio dos receptores TLR2 presentes nas células dendríticas especializadas (CDE). Esta interação resultará em um processo inflamatório, sendo que durante a infecção aguda pelo *T. pallidum*, os leucócitos polimorfonucleares (PMN) são as primeiras células recrutadas para o local. Testes *in vitro* revelaram que seis tipos diferentes de catelicidinas (peptídeos antimicrobianos) contidas nos PMNs possuem atividades destrutivas para o *T. pallidum*. (WOODS, 2005; LEE, 2000). As CDE maduras e os macrófagos em resposta a presença do patógeno, estimulam a produção de citocinas inflamatórias (TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-12) que induzem uma resposta inflamatória. As lesões primárias são caracterizadas pela presença de células TCD4 e macrófagos, porém, nas lesões secundárias observa-se o predomínio de células TCD8. Adicionalmente, as lesões primárias e secundárias são caracterizadas pela presença de células do perfil Th1, com produção de Interferon Gama (IFN- γ) e Interleucina-2 (IL-2), responsáveis pela ativação de macrófagos e a proliferação de linfócitos T, respectivamente. (SIELING, 2003; SELLATI, 1999; RADOLF, 1995).

Existem mecanismos evasivos desenvolvidos pelo patógeno como forma de proteção do mesmo contra o sistema imune do hospedeiro. A presença de proteínas “mutáveis de membrana” citados anteriormente (genes *Tpr*), que proporciona expressão de diferentes proteínas de membrana em momentos alternados, e a evasão do *T. pallidum* da circulação, com redução do seu metabolismo à níveis basais de replicação, caracterizando um estágio de latência, permite o não reconhecimento do patógeno pelo sistema imunológico. Outro fator de destaque é a ausência de antigenicidade da superfície do *T. pallidum*, pois este possui raras proteínas integrais de membranas, que não estimulam suficientemente o sistema imune. Estes eventos são os prováveis responsáveis pelas manifestações clínicas deletérias observadas na sífilis. (PENN, 1982; RADOLF, 1989).

Uma ressalva se faz necessária quanto a Sífilis Congênita, pois nesta o feto fica desprovido das reações imunológicas citadas acima. O microambiente da placenta é fonte de citocinas anti-inflamatórias e de uma variedade de fatores de crescimento incluindo o TGF β . Estes fatores atuam na diferenciação celular, tissular, morte celular programada, metabolismo, nutrição e angiogênese do feto. As Interleucinas IL-10, IL-4 e os fatores de crescimento protegem o feto de inflamação sistêmica / local ao inibirem a resposta celular citotóxica. Assim, a tolerância imunológica materna ao feto, protege o mesmo de ser expulso, e conseqüentemente uma resposta humoral montada contra o *T. pallidum* não é eficiente em eliminá-lo da interface materno-fetal. (WICHER, 2001; LUKEHART, 1992).

1.3 TRANSMISSÃO E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

A sífilis é transmitida predominantemente pela via sexual (Sífilis Adquirida) ou através da placenta (Sífilis Congênita, transmissão vertical mãe-feto). Na Sífilis Adquirida ocorre a penetração do treponema por pequenas abrasões decorrentes da relação sexual, desta forma o patógeno atinge o sistema linfático regional e por disseminação hematogênia chega a outras partes do corpo. Já na congênita, o treponema é transmitido através da microcirculação placentária, e a infecção do embrião pode ocorrer em qualquer fase gestacional ou estágio da doença materna. Outras formas mais raras de transmissão ocorrem por via indireta (objetos contaminados, tatuagem) e por

transusão sanguínea, mas estas apresentam menor interesse epidemiológico. (GARNETT, 1997).

Esta doença apresenta uma evolução lenta que, quando não tratada, alterna entre períodos sintomáticos e assintomáticos. Baseado nas características clínicas, classicamente a sífilis pode ser subdividida em: sífilis primária, sífilis secundária e sífilis terciária, além da sífilis congênita.

1.3.1 Sífilis primária

A lesão sifilítica primária clássica é o cancro duro que surge no local da inoculação em média de duas a três semanas após a infecção (contato direto de mucosas ou pele escoriada com lesões infecciosas). Inicialmente ocorre a formação de uma pápula de cor rósea, única, indolor, praticamente sem manifestações inflamatórias perilesionais. A lesão apresenta bordas demarcadas, que descem suavemente até um fundo liso e limpo, recoberto por material seroso. Após uma ou duas semanas aparece uma reação ganglionar regional múltipla e bilateral, não supurativa, de nódulos duros e indolores. Na maioria dos casos (90% a 95%) o cancro duro localiza-se na região genital, porém, há casos de localizações extragenitais sendo que as mais comuns são na região anal, região mamária, boca, língua e quirodáctilos. O cancro regride espontaneamente e cicatriza de modo espontâneo. (AZULAY, 2004).

1.3.2 Sífilis secundária

Após período de latência que pode durar de seis a oito semanas (intervalo entre a sífilis primária e secundária), a doença entrará novamente em atividade. Neste período o indivíduo sifilítico apresentará manifestações clínicas na pele e órgãos internos correspondendo à disseminação *do T. pallidum*. Na pele, as lesões ocorrem por surtos e de forma simétrica. Podem apresentar-se sob a forma de máculas de cor eritematosa de duração transitória. Novos surtos ocorrem com lesões papulosas eritêmato-acobreadas, arredondadas, de superfície plana, recobertas por discretas escamas mais intensas na periferia.

O acometimento das regiões palmares e plantares é bem característico. Algumas vezes a descamação é intensa, atribuindo aspecto psoriforme às lesões. Na face, as

pápulas tendem a agrupar-se em volta do nariz e da boca, simulando dermatite seborreica. Nos negros, as lesões faciais fazem configurações anulares e circinações. Na região inguinocrural, as pápulas sujeitas ao atrito e à umidade podem tornar-se vegetantes e maceradas, sendo ricas em treponemas e altamente contagiosas. Na mucosa oral, lesões vegetantes de cor esbranquiçada sobre base erosada constituem as placas mucosas, as quais são também contagiosas.

Em alguns pacientes estabelece-se alopecia difusa, acentuada na região temporoparietal e occipital (alopecia em clareira). Pode ocorrer ainda perda dos cílios e porção final das sobrancelhas. Raramente nessa fase são descritas lesões pustulosas, foliculares e liquenóides.

Esta fase é acompanhada de poliadenomegalia generalizada. A sintomatologia geral é discreta e não característica: mal-estar, astenia, anorexia, febre baixa, cefaléia, meningismo, artralgias, mialgias, periostite, faringite, rouquidão, hepatoesplenomegalia, síndrome nefrótica, glomerulonefrite, neurite do auditivo, iridociclite. A presença de lesões pápulo-pustulosas que evoluem rapidamente para necrose e ulceração, apresentando muitas vezes crostas com aspecto osteriforme ou rupiódide, acompanhadas de sintomatologia geral intensa, representa uma variante descrita como sífilis maligna precoce. Lesões residuais hipocrômicas “colar de Vênus” na região cervical e lesões anodérmicas principalmente no tronco podem suceder as lesões do secundarismo.

A fase secundária evolui no primeiro e segundo ano da doença com novos surtos que regridem espontaneamente entremeados por períodos de latência cada vez mais duradouros. Por fim, os surtos desaparecem, e um grande período de latência se estabelece. Os estudos que acompanharam a evolução natural da sífilis mostraram que um terço dos pacientes obtém a cura clínica e sorológica, outro terço evoluirá sem sintomatologia, mas mantendo as provas sorológicas não treponêmicas positivas. E, num último grupo, a doença voltaria a se manifestar (sífilis terciária).

1.3.3 Sífilis terciária

Os pacientes nessa fase desenvolvem lesões localizadas envolvendo pele e mucosas, sistema cardiovascular e nervoso. Em geral a característica das lesões terciárias é a formação de granulomas destrutivos e ausência quase total de treponemas. Podem estar acometidos ainda ossos, músculos e fígado.

As lesões cutâneas são únicas ou em pequeno número, assimétricas, endurecidas com pouca inflamação, bordas bem marcadas, policíclicas ou formando segmentos de círculos destrutivos, tendência à cura central com extensão periférica, formação de cicatrizes e hiperpigmentação periférica. Na língua, o acometimento é insidioso e indolor, com espessamento e endurecimento do órgão. Lesões gomosas podem invadir e perfurar o palato e destruir a base óssea do septo nasal. (AVELLEIRA, 2006).

Na Sífilis Cardiovascular os sintomas geralmente se desenvolvem entre 10 a 30 anos após a infecção inicial. O acometimento cardiovascular mais comum é a aortite, principalmente aorta ascendente, e na maioria dos casos é assintomática. As principais complicações da aortite são o aneurisma, a insuficiência da válvula aórtica e a estenose do óstio da coronária. O diagnóstico pode ser suspeitado pela radiografia de tórax evidenciando calcificações lineares na parede da aorta ascendente e dilatação da aorta. (AZULAY, 2004; SANCHEZ, 2003; O'REGAN, 2002).

A Neurosífilis também pode ocorrer nesta fase, a invasão das meninges pelo treponema é precoce, de 12 a 18 meses após a infecção, mas desaparece em 70% dos casos sem tratamento. Quando a infecção persiste, se estabelece o quadro de neurosífilis, podendo esta ser sintomática ou assintomática. A neurosífilis assintomática é definida como a presença de anormalidades do Líquido Céfalo Raquidiano (LCR) na ausência de sinais ou sintomas neurológicos. Poderá nunca se manifestar ou evoluir para uma das complicações neurológicas mais tardias do período terciário. As complicações mais precoces são as meningites agudas, que podem acontecer no período secundário, principalmente em pacientes infectados pelo vírus HIV (Vírus da imunodeficiência adquirida), com a sintomatologia meníngea clássica. Nos quadros meningovasculares, a neurosífilis se apresenta como encefalite difusa com sinais focais, parecendo acidente vascular cerebral. Mais tardia é a neurosífilis parenquimatosa, que pode apresentar-se como uma paralisia geral progressiva. E, por último, um quadro de neurosífilis gomosa com sintomatologia localizada e semelhante à dos tumores cerebrais ou medulares. (AZULAY, 2004; SANCHEZ, 2003; NITRINI, 1999)

1.3.4 Sífilis congênita

A sífilis congênita é o resultado da disseminação hematogênica *T. pallidum* da gestante infectada não tratada ou inadequadamente tratada para o conceito, por via

transplacentária (transmissão vertical). A infecção do embrião pode ocorrer em qualquer fase gestacional ou estágio da doença materna. Os fatores que determinam a probabilidade de transmissão são o estágio da sífilis na mãe e a duração da exposição do feto no útero. Portanto, a transmissão será maior nas fases iniciais da doença, quando há mais espiroquetas na circulação. A taxa de transmissão é alta nas fases primárias e secundárias, mediana na fase latente recente e baixa na latente tardia.

A contaminação do feto pode ocasionar aborto, óbito fetal e morte neonatal dos conceptos infectados ou o nascimento de crianças com sífilis. O Ministério da Saúde (MS) normatizou a definição para os casos de sífilis congênita, sendo que, quando a sífilis manifesta-se antes dos dois primeiros anos de vida, é chamada sífilis congênita precoce e, após os dois anos, de sífilis congênita tardia.

As lesões cutâneo-mucosas da sífilis congênita precoce podem manifestar-se desde o nascimento, e as mais comuns são exantema maculoso na face e extremidades, lesões bolhosas, condiloma latum, fissuras periorais e anais. A mucosa nasal apresenta rinite mucossangüinolenta. Nos outros órgãos observa-se hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, osteocondrite, periostite ou osteíte, anemia, hidropsia fetal.

Na sífilis congênita tardia as lesões são irreversíveis, entre as quais se destacam: a fronte olímpica, palato em ogiva, rágades periorais, tibia em sabre, dentes de Hutchinson, molares em formato de amora e ainda ceratite, surdez e retardo mental. Radiografias de ossos longos são fundamentais, pois existem casos de recém-nascidos infectados assintomáticos cuja única alteração é o achado radiográfico. (MS, 2005).

1.5 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

No diagnóstico laboratorial da sífilis, a escolha do método laboratorial depende da fase evolutiva da doença. Desta forma, na lesão sífilítica primária e secundária, o diagnóstico poderá ser direto, isto é, realizado pela observação do *T. pallidum* nas lesões por meio de microscopia. Por outro lado, as técnicas sorológicas poderão ser realizadas a partir da janela imunológica, posterior à segunda e terceira semana após a lesão primária clássica, período em que anticorpos específicos começam a ser detectados. (AZULAY, 2004).

As amostras que podem ser analisadas para diagnóstico sífilítico são os fluídos biológicos: sangue (total, soro e plasma), linfa e líquido céfalo-raquidiano (LCR) e tecidos de lesões.

1.5.1 Provas diretas

Demonstram a presença do *T. pallidum*, e como não estão sujeitas à interferência de reações cruzadas, são consideradas definitivas. Têm indicação na fase inicial da sífilis, pois na lesão (cancro duro) há numerosos *T. pallidum*, possibilitando assim a sua visualização. Na sífilis secundária, desde que haja lesões, também é possível detectar o *T. pallidum*. As técnicas diretas incluem microscopia de campo escuro, pesquisa direta com coloração específica e imunofluorescência direta. O princípio de cada técnica está descrito abaixo.

(1) Microscopia de campo escuro:

O teste consiste no exame direto da linfa da lesão. O material é levado ao microscópio com condensador de campo escuro, em que é possível, com luz indireta, a visualização do *T. pallidum* vivo e móvel. É considerado um teste rápido, de baixo custo e definitivo. (PALMER, 2003; YOUNG, 2000).

(2) Pesquisa direta com coloração para *Treponema* sp:

Os métodos de coloração utilizados são: Fontana- Tribondeau, método de Burri, Giemsa e Levaditi. No método de Fontana-Tribondeau após a coleta da linfa é feito um esfregaço na lâmina com adição da prata causando impregnação na parede do treponema tornando-o visível. O método de Burri cora o esfregaço com tinta da China (nanquim) e na coloração pelo Giemsa, o *T. pallidum* cora-se palidamente, sendo difícil a observação da espiroqueta. Por fim, o método de Levaditi, utiliza cortes histológicos, corados com prata. Todos os métodos de coloração são inferiores ao método de campo escuro. (RIVITTI, 1999).

(3) Imunofluorescência direta:

Exame altamente específico e sensível, chamado de DFA-TP (direct fluorescent-antibody testing for *T. pallidum*). Nesta técnica os anticorpos comerciais anti-*T.pallidum* são conjugados com isotiocianato de fluoresceína (composto fluorescente) e quando em contato com o material (esfregação) contendo o *T. pallidum* (antígeno presente na lesão sífilítica) ocorre a formação do complexo antígeno/anticorpo que posteriormente será analisado por microscopia de fluorescência. (WAMA, 2010).

1.5.2 Provas sorológicas

Para o diagnóstico sorológico da sífilis são utilizados os testes não treponêmicos (ou cardiolipínicos) e testes treponêmicos. A diferença entre eles é que nos testes não treponêmicos são detectados anticorpos que não são específicos para *T. pallidum*, enquanto que, nos testes treponêmicos anticorpos específicos para antígenos de *T. pallidum* são detectados. Os testes não treponêmicos são úteis para a triagem em grupos populacionais e monitoramento do tratamento, porém, por não ser específico para detecção do *T. pallidum* é necessário a confirmação do diagnóstico por meio de testes treponêmicos.

(1) Testes não treponêmicos:

Os testes não treponêmicos detectam anticorpos contra cardiolipina, a qual está presente na membrana citoplasmática de diversas bactérias, entre elas, o *Treponema pallidum*. Adicionalmente, a cardiolipina também está presente na membrana plasmática das células de mamíferos e é liberada após o dano celular, o qual pode ocorrer durante um processo infeccioso. Pelo fato de não ser um componente exclusivo do *T. pallidum* esta reação dos testes não treponêmicos é considerada de alta sensibilidade, mas de baixa especificidade.

Os primeiros testes para diagnóstico da sífilis foram as reações de fixação de complemento. As reações de Wassermann e Khan utilizavam material extraído de tecidos, sendo de difícil padronização, portanto foram substituídos por testes que utilizavam antígenos purificados, tais como, VDRL (Venereal Disease Research Laboratory) e RPR (teste de reagina plasmático rápido).

O VDRL é composto por micelas contendo lecitina, colesterol e cardiolipina purificada. Os anticorpos não treponêmicos, presentes na amostra, ligam-se às cardiolipinas promovendo uma reação de floculação, que pode ser observada ao microscópio óptico. Desta forma, um teste não reagente demonstra-se inalterado (ausência de floculação). A prova do VDRL positiva-se entre cinco a seis semanas após a infecção e, entre duas e três semanas após o surgimento do cancro. Portanto, pode estar negativa na sífilis primária. Na sífilis secundária apresenta sensibilidade alta, sendo reduzida proporcionalmente ao tempo de infecção (diminuição do título de anticorpos).

Uma técnica adaptada do clássico VDRL é o RPR, este foi o primeiro teste sorológico de triagem que dispensou equipamentos convencionais de laboratório com um tempo ágil de execução. Também é quantificável, porém não comparável com os títulos obtidos no VDRL. Ele contém partículas de carvão, possibilitando a leitura visual dos resultados e evitando-se a necessidade de utilização do microscópio.

A reação não é específica, podendo ser positiva em outras treponematoses e em várias outras situações (especialmente doenças autoimunes). Os títulos são altos nas treponematoses não tratadas (acima de 1/16), podendo ser superiores a 1/512. Os casos de falso-negativos na sífilis secundária decorrem do excesso de anticorpos (efeito pró-zona), o que pode ser evitado utilizando-se maiores diluições do soro. Resultados falso-negativos podem ser encontrados na fase inicial de cancro duro, na sífilis latente tardia e na sífilis tardia ou como resultado do efeito prozona, fato que pode ocorrer em 1% a 2% dos pacientes, especialmente no estágio de sífilis recente e durante o período gestacional. (REIS, 2007; RIBEIRO, 2007). Este efeito ocorre quando há excesso de anticorpos no soro *in natura* analisado em relação à quantidade de antígenos presentes no teste, gerando resultados falso-negativos. Para evitar que isso ocorra, deve-se proceder a diluição da amostra testada com títulos a partir de 1:4 até 1:8. A amostra reagente deverá ser então titulada até que a reação torne-se não reagente. (RAMOS, 2007).

Devido à elevada sensibilidade, associado ao baixo custo e rápida execução, os testes não treponêmicos atuais são utilizados diariamente nos laboratórios para triagem e monitoramento do tratamento, pois, o VDRL e RPR correlacionam-se com a atividade da doença. Quando a amostra é reagente, determina-se a titulação de anticorpos anti-cardiolipínicos presentes, assim a taxa de declínio da titulação é o melhor indicador da resposta terapêutica, fato que espera-se que ocorra dentro de três meses de tratamento,

até a obtenção de resultado não reagente dentro de 12 meses para amostras de pacientes de fase primária, e em 24 meses em pacientes na fase secundária. (MUSHER, 1991).

(2) Testes treponêmicos:

Os testes treponêmicos utilizam o *T. pallidum* como antígeno e são usados para confirmar a reatividade de testes não treponêmicos. Na maioria dos indivíduos tratados com sucesso, os resultados permanecem reagentes por anos, ou até mesmo, pelo restante da vida.

As primeiras tentativas para utilizar treponemas como antígeno foram efetuadas por Nelson e Mayer em 1949, que desenvolveram o primeiro teste de pesquisa de anticorpos específicos, o teste de imobilização de *T. pallidum* (TPI). Este baseava-se na capacidade dos anticorpos existentes no soro do doente, em presença de complemento, serem capazes de imobilizar treponemas vivos quando observados ao microscópio de fundo escuro. Este teste foi uma revolução na história da sífilis, pois, finalmente, encontrou-se uma reação específica. No entanto, tratava-se de uma técnica complicada, difícil do ponto de vista técnico, já que necessitava de treponemas vivos e móveis, e para isto, como o *T. pallidum* não cresce em meio de cultura artificial, os mesmos eram mantidos em coelhos (cultura *in vivo*). Assim, esta técnica foi considerada demorada e cara, apresentando ainda o risco de contaminação. Apesar da sua complexidade, custo e dificuldade na reprodutibilidade, o TPI foi muito utilizado até 1980, sobretudo para elucidar resultados conflituosos, porém foi substituído pela técnica de imunofluorescência indireta. (CASTRO, 2004).

Atualmente, os principais testes treponêmicos utilizados são: FTA-ABS (Fluorecent Treponemal Antibody-Absorption; Teste de Absorbância do Anticorpo treponêmico fluorescente no soro), MHA-TP (Micro-hemaglutinação para *Treponema pallidum*), ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay; Ensaio Imunoenzimático) e testes rápidos.

O FTA-ABS é um teste de imunofluorescência indireta, o qual pode ser dividido em duas etapas: na primeira etapa, o soro do paciente é colocado em contato com o substrato antigênico (lâmina comercial contendo *T. pallidum*), se os anticorpos estiverem presentes no soro, estes se ligam ao antígeno fixado na lâmina, formando um complexo antígeno/anticorpo. Caso o material testado não contenha anticorpos dirigidos contra este antígeno específico, não se formará o complexo antígeno-anticorpo, e todos

os componentes do soro serão eliminados na etapa de lavagem. Na segunda etapa adiciona-se uma antigamaglobulina humana marcada com isotiocianato de fluoresceína e se o complexo antígeno-anticorpo formou-se na primeira etapa, a antigamaglobulina marcada fluoresceína irá interagir com o anticorpo presente na amostra. Desta forma, uma reação positiva apresentará fluorescência a qual será visualizada por meio de um microscópio de fluorescência. Esta técnica possui rápida execução e baixo custo, mas necessita de um microscópio de fluorescência e um técnico com experiência para executar a leitura. (AZULAY, 2004; RIVITTI, 1999).

O MHA-TP é um teste de hemaglutinação para a pesquisa de anticorpos anti-*T. pallidum*, sendo que se utiliza como antígeno eritrócitos de carneiro sensibilizados com extratos sonicados de *T. pallidum*. (RATHLEV, 1965). A técnica de hemaglutinação original era realizada em tubo (Teste de Hemaglutinação Passiva-TPHA), porém, posteriormente foi modificada para execução com pequenos volumes em microplaca (MHA-TP). A presença de anticorpos no soro do paciente é observada pela aglutinação dos eritrócitos sensibilizados, com formação de uma malha ou rede dos mesmos, cobrindo o micropoço, enquanto que os resultados negativos são definidos pela formação de um botão compacto no fundo do micropoço. A técnica permite definir os resultados de modo qualitativo (reativos, não reativos ou indeterminados) ou semi-quantitativo. A maior parte dos estudos efetuados não tem demonstrado relação prática entre o título e o estágio da doença, e ao contrário dos testes não treponêmicos, não é um teste útil para monitorização terapêutica. (COX, 1971). Este teste tem sido utilizado, sobretudo, para confirmar a reatividade dos testes não treponêmicos. Tem a vantagem de ser mais fácil de executar do que o teste FTA-Abs, e embora seja tão específico como aquele, é menos sensível na sífilis primária. A origem de erros de laboratório, para este tipo de técnica, relaciona-se, sobretudo, com a utilização de placas sujas e erros na pipetagem. (FORBES, 1991; FIUMARA, 1980).

Quanto ao ELISA (imunoensaio enzimático), este é um teste automatizado utilizado na triagem de doadores de sangue ou para auxiliar o diagnóstico clínico da sífilis. Esta técnica é realizada em placa de microtitulação, revestida com proteínas recombinantes do *T. pallidum*, as quais correspondem a epítomos antigênicos. Quando os anticorpos anti-*T. pallidum* estão presentes na amostra de soro ou plasma, eles reagem com a proteína recombinante (aderida na placa). Este imunocomplexo é detectado utilizando-se um anticorpo comercial marcado com uma enzima. Este anticorpo marcado interage com o anticorpo presente no soro. Para revelação, adiciona-

se um substrato específico para a enzima (presente no anticorpo comercial), resultando em uma reação colorimétrica. A concentração de anticorpos anti- *T. pallidum* é diretamente proporcional a intensidade da cor da reação, a qual é quantificada por meio de um espectrofotômetro. (WAMA, 2012).

O método imunocromatográfico, conhecido como teste rápido, uma vez que sua execução é realizada em 30 minutos, utiliza uma fita de nitrocelulose (fase sólida) que contém antígenos do *T. pallidum* imobilizados, sendo que, parte destes antígenos são ligados a um corante (por exemplo, o selenium coloidal). A amostra do paciente (soro, plasma ou sangue total), que contém anticorpos anti-*T. pallidum*, é adicionada a fita de nitrocelulose, que após fluir e ligar-se aos antígenos (marcados com selenium coloidal), resultará no aparecimento de uma linha colorida. Neste teste é fundamental o aparecimento de uma linha na região de controle do teste, indicando assim, que a amostra fluiu corretamente pela fita de nitrocelulose. (WAMA, 2011).

1.5.3 Biologia molecular:

O PCR é útil no diagnóstico da sífilis congênita e neurosífilis, apresentando alta sensibilidade e especificidade. O DNA do *T. pallidum* é detectado com uso de primers para o gene codificador de proteína com peso molecular de 47kD. A ampliação do RNA do *T. pallidum* é mais sensível por demonstrar a viabilidade do treponema, utilizando os primers que ampliam uma região com 366bp do gene 16S RNA. (LARSEN, 1995; BURSTAIN, 1991; ORTON, 2002).

1.6 TRATAMENTO E PROGNÓSTICO

A penicilina é o fármaco de escolha para o tratamento de todos os estágios da sífilis devido à sua alta eficácia. A penicilina age interferindo na síntese do peptidoglicano (componente da parede celular do *T. pallidum*) tendo como efeito a entrada de água no citoplasma do treponema, resultando assim, na sua destruição (lise osmótica). Atualmente, não há relato de resistência do *T. pallidum* a penicilina.

Em pacientes alérgicos à penicilina, podem-se administrar antibióticos alternativos, tais como, derivados de tetraciclina, eritromicina e ceftriaxina, todavia, esses fármacos exigem maior aderência do paciente ao tratamento.

A concentração e tempo de antibioticoterapia varia para ambos os casos, baseando-se na fase evolutiva do portador do *T. pallidum*, conforme preconizado pelo Ministério da Saúde.

1.7 PREVENÇÃO

Um plano de controle da sífilis de cinco pontos, iniciado em 1937, tem demonstrado sucesso no controle da doença. Este plano emprega diversas estratégias de segurança, tais como, educação pública, vigilância e tratamento agressivo dos indivíduos acometidos e seus parceiros. As campanhas de educação são orientadas para o reconhecimento da doença e a implantação de medidas preventivas, como uso de preservativos e práticas sexuais seguras. A triagem da população de risco, particularmente usuários de drogas e pacientes com outras doenças sexualmente transmissíveis, possui uma relação custo / benefício maior do que a triagem da população geral como um todo. Todas as mulheres gestantes devem ser submetidas à triagem para sífilis; todavia, a triagem de rotina pré-nupcial não constitui mais uma exigência. O tratamento imediato dos indivíduos afetados, a notificação dos parceiros e o tratamento profilático dos contatos sexuais são essenciais para limitar a disseminação da doença. Embora a sífilis responda rapidamente a antibioticoterapia, a preocupação dos órgãos sanitários públicos quanto à transmissão de outras doenças sexualmente transmissíveis (em especial o HIV) levou a uma intensificação das pesquisas no desenvolvimento de uma vacina eficaz contra a sífilis (atualmente não disponível). A recente determinação do sequenciamento genômico do *T. pallidum* poderá contribuir para o desenvolvimento de tal vacina.

2 JUSTIFICATIVA

Apesar da existência de medidas de prevenção, de técnicas adequadas de diagnóstico e de tratamento eficaz, a sífilis ainda é um problema de saúde pública. Desta forma, como a sífilis é uma doença tratável, o diagnóstico precoce é fundamental para evitar a evolução da doença para quadros mais graves, além de impedir que ocorra a transmissão para outros indivíduos. A triagem de indivíduos infectados pelo *T. pallidum* pode ser realizada por meio da técnica VDRL, considerada de fácil execução e de baixo custo, fornecendo assim, uma visão geral da incidência desta doença. É importante ressaltar que após a realização do VDRL, testes confirmatórios são necessários para comprovar o diagnóstico de sífilis, conforme determinado pelo Ministério da Saúde.

3 OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o número de amostras VDRL positivas no período de 2010 à 2014 na região de São Manuel.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

No período de 2010 à 2014 foram analisadas 1683 amostras sorológicas. Estas, coletadas no Laboratório de Análises Clínicas São Manuel LTDA, de cunho particular e prestador de serviços à comunidade onde se localiza: São Manuel, município este que possui atualmente uma população estimada em 40.367 habitantes. (IBGE, 2015).

Com o intuito de garantir a fidedignidade dos dados computados, foram revisados todos os pacientes em um período de 12 meses e descartadas as amostras repetidas, assegurando a não duplicação dos dados dos pacientes que realizavam controle terapêutico.

O teste VDRL foi executado conforme as instruções do fabricante (Wiener e Wama), as quais preconizam que o soro do indivíduo seja testado “puro” (sem diluição) e também em diferentes diluições. Para as amostras diluídas, realizou-se diluição seriada (fator de diluição $\frac{1}{2}$) de 1:2; 1:4; 1:8; 1:16 e 1:32. As amostras foram diluídas em salina. A execução do teste foi realizada em placa escavada onde misturou-se 50ul do soro (puro ou diluído) e 1 gota do reagente antigênico. Após homogeneização, o resultado (presença de floculação) foi analisado em microscópio óptico. Para as amostras positivas na diluição 1:32 foi necessário seguir a diluição seriada até 1:512.

Cabe ressaltar que o reagente antigênico é composto de uma suspensão aquosa de antígeno de cardiolipina e lecitina purificados, em tampão fosfato com cloreto de colina e EDTA, de acordo com as instruções da OMS. (Wiener ©).

Neste estudo os pacientes com resultados reagentes (VDRL positivo) foram considerados sífilíticos apenas pela apresentação clínica associada com o resultado do VDRL. Apenas uma amostra (amostra infantil reagente de 2014) foi confirmado com a realização do Teste do FTA-ABS IgG/IgM, como preconiza a OMS. É importante ressaltar que, para garantir a segurança e a qualidade do exame VDRL realizado, utilizaram-se soros controles (positivos e negativos). Adicionalmente, todas as amostras consideradas reagentes foram confirmadas por repetição em triplicata e analisadas por dois responsáveis técnicos.

Os resultados obtidos foram analisados comparando-se a incidência de resultados positivos entre os anos avaliados e também comparando-se a positividade entre os sexos feminino e masculino em cada ano. Para isto, os resultados foram analisados por meio dos testes Chi-square e Fisher utilizando-se o programa GraphPad Prism6. (GraphPad, San Diego, CA).

5 RESULTADOS

No período de 2010 à 2014, foram avaliados 1683 resultados do teste VDRL, destes 567 amostras pertenciam ao sexo masculino (33,7 %) e 1116 (66,3 %) ao sexo feminino (Figura 1A). No total de amostras por ano, em 2010 foram analisadas 344 amostras, destas 130 (37,8 %) pertenciam ao sexo masculino e 214 (62,2 %) ao sexo feminino (Figura 1B); em 2011 foram analisadas 453 amostras, destas 234 (51,7 %) pertenciam ao sexo masculino e 219 (48,3 %) ao sexo feminino (Figura 1C); em 2012 foram analisadas 268 amostras, destas 88 pertenciam ao sexo masculino (32,8 %) e 180 (67,2 %) ao sexo feminino (Figura 1D); em 2013 foram analisadas 292 amostras, destas 62 (21,2 %) pertenciam ao sexo masculino e 230 (78,8 %) ao sexo feminino (Figura 1E); e em 2014 foram analisadas 326 amostras, destas 53 (16,3 %) pertenciam ao sexo masculino e 273 (83,7 %) ao sexo feminino. (Figura 1F) .

Do total de amostras analisadas, 1635 (97,1 %) foram negativas e 48 (2,9 %) apresentaram reação positiva para o teste VDRL, sendo que 23 (1,4 %) foram amostras positivas provenientes do sexo masculino e 25 (1,5 %) do sexo feminino (Figura 2A). Quanto a positividade por ano, em 2010 foram analisadas 344 amostras, sendo 341 (99,1 %) amostras negativas (128/sexo masculino e 213/sexo feminino) e 3 (0,9 %) amostras positivas, destas 2 provenientes do sexo masculino (0,6 %) e 1 do sexo feminino (0,3 %) (Figura 2B); em 2011, de 453 amostras analisadas, 449 (99,12 %) foram negativas (232/sexo masculino e 217/sexo feminino) e 4 amostras positivas (0,88 %), destas 2 (0,44%) provenientes do sexo masculino e 2 (0,44 %) do sexo feminino (Figura 2C); em 2012, das 268 amostras analisadas, 263 (98,16 %) amostras foram negativas (85/sexo masculino e 178/sexo feminino) e 5 (1,84 %) amostras positivas, destas 3 (1,14 %) provenientes do sexo masculino e 2 (0,7 %) do sexo feminino (Figura 2D); em 2013 das 292 amostras analisadas, 278 (95 %) foram negativas (55/sexo masculino e 223/sexo feminino), e 14 (5 %) amostras positivas, destas 7 amostras provenientes do sexo masculino (2,5 %) e 7 (2,5 %) do sexo feminino (Figura 2E); e em 2014 das 326 amostras analisadas; 304 (92,7%) amostras foram negativas (44/sexo masculino e 260/sexo feminino), e 22 (7,3 %) amostras positivas, destas 9 (3 %) amostras provenientes do sexo masculino e 13 (4,3 %) do sexo feminino. (Figura 2F).

Quando comparou-se o número de amostras positivas entre os anos, ou seja, 2010 e 2011, 2011 e 2012, 2012 e 2013, 2013 e 2014, não houve diferença significativa no número de amostra positivas entre os anos analisados. Por outro lado, quando

comparou-se o número total de amostras positivas e negativas entre os sexo masculino e feminino, nos anos de 2011 a 2014, o número de amostras positivas do sexo masculino foi significativamente maior que a do sexo feminino, ou seja, 23 (4,05%) das 567 amostras analisadas do sexo masculino foram positivas, enquanto que para o sexo feminino 25 (2,24%) das 1116 amostras analisadas do sexo feminino foram positivas (Figura 2A). Adicionalmente, quando comparou-se o número de amostras positivas e negativas entre os sexo masculino e feminino por ano, o número de amostras positivas do sexo masculino foi significativamente maior que a do sexo feminino anos de 2013 e 2014, ou seja, em 2013, 7 (11,2%) das 62 amostras analisadas do sexo masculino foram positivas, enquanto que para o sexo feminino 7 (3%) das 330 amostras analisadas do sexo feminino foram positivas. Em 2014, 9 (16,9%) das 53 amostras analisadas do sexo masculino foram positivas, enquanto que para o sexo feminino 13 (3,9%) das 273 amostras analisadas do sexo feminino foram positivas. (Figuras 2E e 2F).

Quanto a distribuição por faixa etária, dentre as amostras positivas (n=48), 1 (2,1 %) amostra pertencia à faixa etária infantil, 4 (8,3 %) à faixa etária juvenil, 33 (68,8 %) à faixa etária adulta e 10 (20,8 %) à faixa etária senil (Figura 3A). Quanto a positividade por ano, em 2010 obteve-se 3 amostras positivas, 2 (66,7 %) amostras de indivíduos adultos e 1 (33,3 %) amostra de indivíduo senil (Figura 3B); em 2011 das 4 amostras positivas, 1 (25 %) amostra foi de indivíduo jovens, 2 (50 %) de indivíduos adultos e 1 (25 %) de indivíduo senil (Figura 3C); em 2012 das 5 amostras positivas, 2 (40 %) amostras foram de indivíduos jovens, 2 (40 %) de indivíduos adultos e 1 (20 %) de indivíduo senil (Figura 3D); em 2013 das 14 amostras positivas, 1 (7,1 %) amostra foi de indivíduo jovem, 11 (78,6 %) de indivíduos adultos e 2 (14,3 %) de indivíduos senis (Figura 3E); em 2014 das 22 amostras reagentes, 1 (4,5) amostra pertencia à faixa etária infantil, 16 (72,8 %) amostras foram de indivíduos adultos e 5 (22,7) amostras de indivíduos senis (Figura 3F). Cabe ressaltar que para o resultado positivo (VDRL) referente a amostra da faixa etária infantil realizou-se o teste confirmatório FTA-ABS IgG e IgM, e para ambos, o resultado foi positivo.

Figura 1: Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014. Os gráficos representam o número total de amostras (T) e o número de amostras pertencentes ao sexo masculino (M) e feminino (F). (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras analisadas.

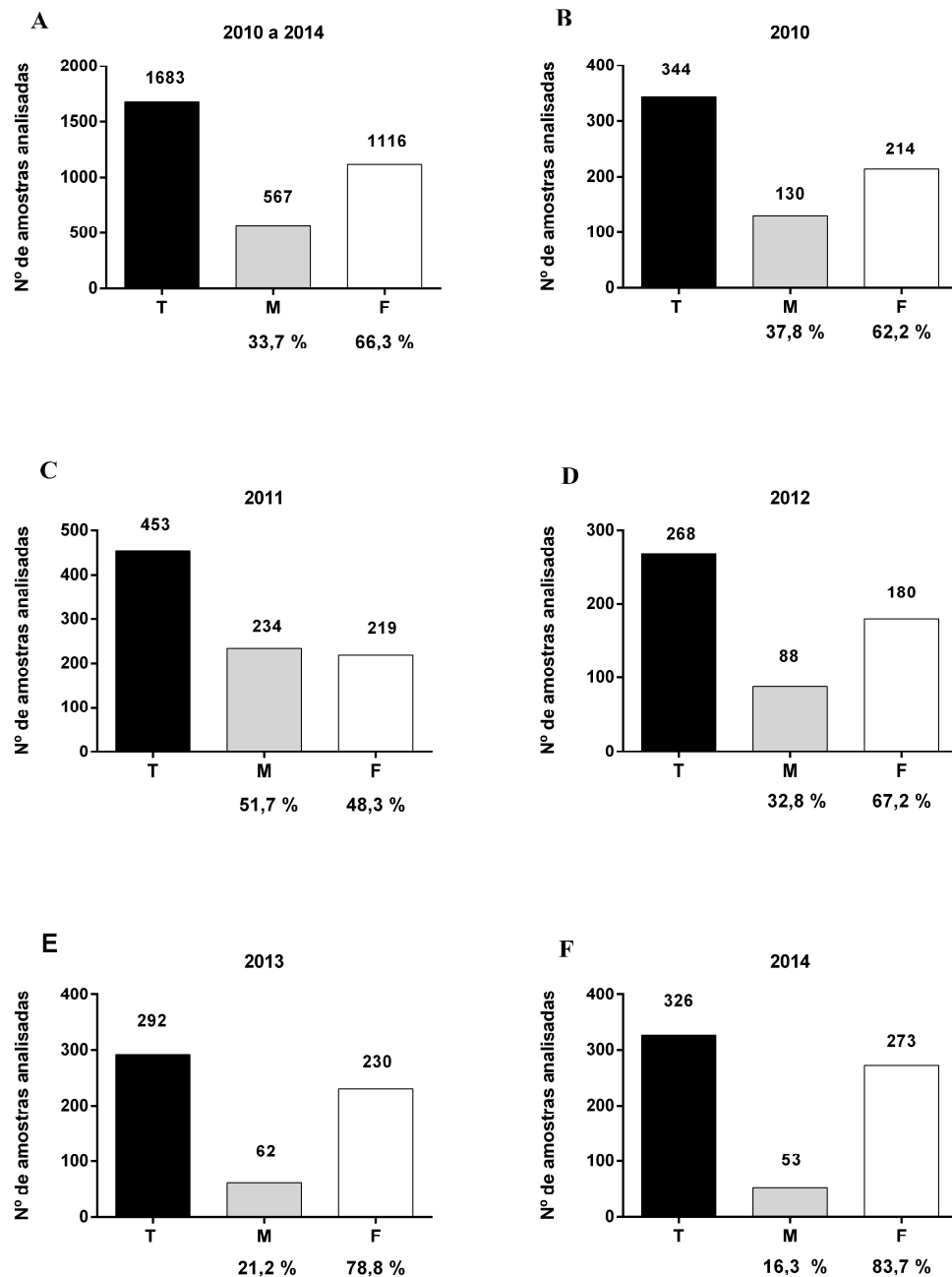


Figura 2: Distribuição das amostras analisadas quanto ao sexo masculino e feminino nos anos de 2010 a 2014. (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. N: Amostras negativas; P: Amostras positivas; N-M: Amostras negativas provenientes do sexo masculino; P-M: Amostras positivas provenientes do sexo masculino; N-F: Amostras negativas provenientes do sexo feminino; P-F: Amostras positivas provenientes do sexo feminino # $p < 0,05$ quando comparou-se o número de amostra positivas e negativas provenientes do sexo masculino com o número de amostra positivas e negativas provenientes do sexo feminino (testes Chi-square/Fisher). Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras.

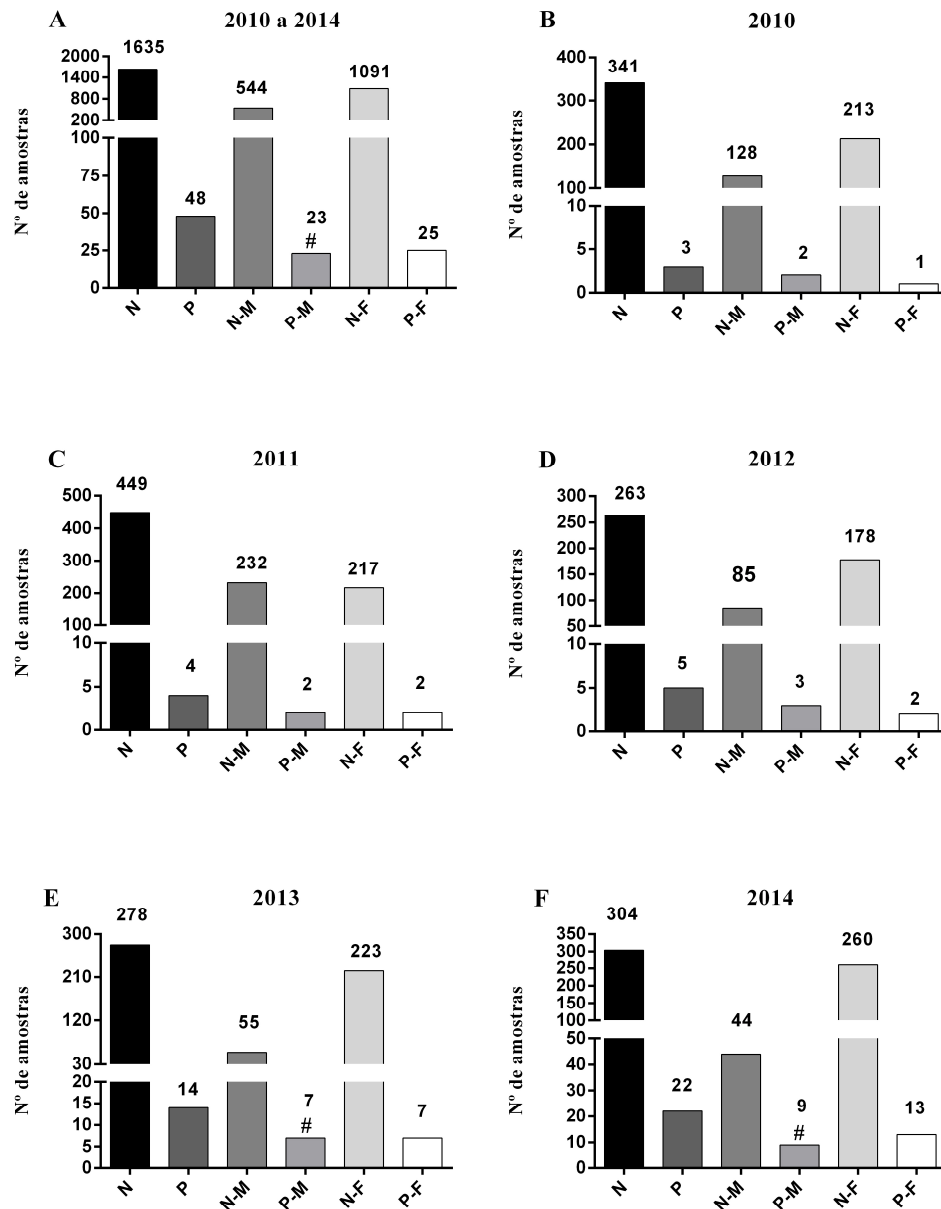
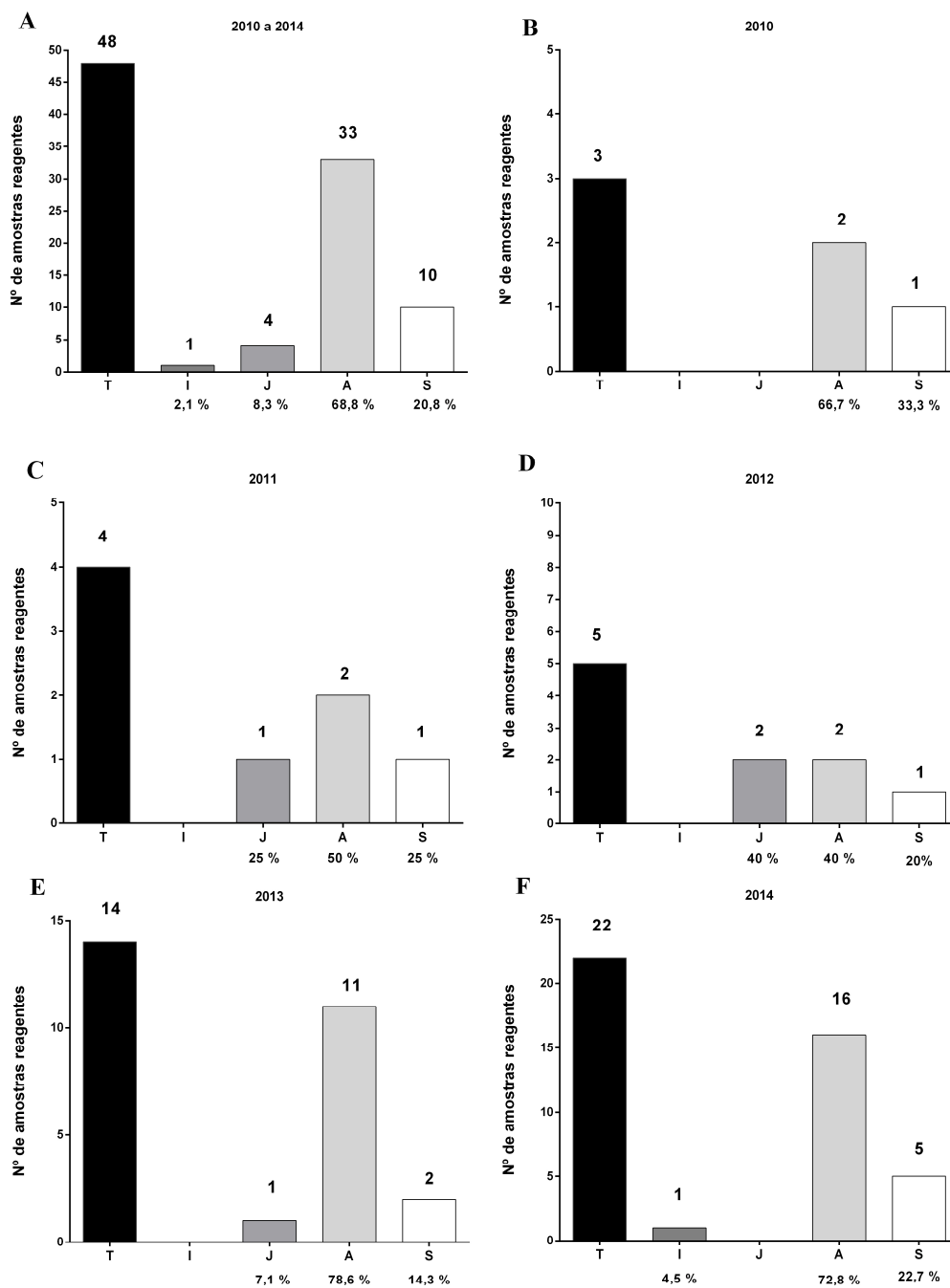


Figura 3: Distribuição das amostras positivas em relação à faixa etária nos anos de 2010 a 2014. (A) Número de amostras analisadas nos anos de 2010 a 2014; (B a F) Número de amostras analisadas no ano de 2010, 2011, 2012, 2013 e 2014. T: número total de amostras positivas; I: indivíduos da faixa etária infantil; J: indivíduos da faixa etária juvenil; A: indivíduos da faixa etária adulta; S: indivíduos da faixa etária senil. Os números relatados em todas as barras nos gráficos abaixo descritos representam o número de amostras reagentes.



6 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho demonstraram que a maioria das amostras analisadas pertenciam ao sexo feminino, fato este, provavelmente decorrente da realização de exames pré-natais executados rotineiramente. Por outro lado, apesar da quantidade total analisada de amostras pertencentes ao sexo masculino ser menor em relação ao sexo feminino, quando avaliou-se o número de amostras positivas e negativas dentro de cada sexo, o número de amostras positivas do sexo masculino no período analisado (2013 a 2014) e nos anos de 2013 e 2014 foi significativamente maior que no sexo feminino. Estes dados corroboram com os publicados no Boletim Epidemiológico AIDS-DST de 2013 pela Secretária do Estado da Saúde de São Paulo, no qual consta que a taxa de infecção é maior no sexo masculino. Adicionalmente, estes resultados são preocupantes, pois, como a quantidade de amostras total analisadas pertencentes ao sexo masculino é metade da avaliada no sexo feminino, pode-se pensar na possibilidade de que a incidência de resultados positivos na população masculina poderá ser maior do que a verificada neste estudo.

Em relação ao número total de amostras positivas, sem a distinção entre sexo, apesar de ocorrer um aumento gradativo no número de amostras positivas no decorrer dos anos analisados (2010 a 2014), não houve diferença significativa entre estes anos. É importante ressaltar que neste estudo, exceto para a amostra pertencente a faixa etária infantil, as amostras VDRL positivas não foram confirmadas por um teste treponêmico, conforme recomendado pelo Ministério da Saúde. Esta confirmação é considerada importante, pois sabe-se que resultados falso-positivos para VDRL podem ocorrer, como por exemplo, nos casos de lúpus, infecções virais e neoplasias. Por outro lado, talvez o médico decida não solicitar o teste confirmatório diante de um resultado VDRL positivo associado a um histórico clínico característico, e além disso, diferente dos testes confirmatórios, o VDRL é um exame de baixo custo.

Quanto a positividade do VDRL entre as faixas etárias, observou-se o predomínio de resultados positivos na idade adulta, provavelmente devido a maior atividade sexual desta faixa etária. Novamente, estes resultados são preocupantes, pois demonstram a ausência de prevenção por parte da população, o que pode acarretar não apenas no desenvolvimento da sífilis, mas também de outras doenças sexualmente transmissíveis. Fatos este que estão de acordo com os publicados no Boletim Epidemiológico AIDS-DST de 2013 pela Secretária do Estado da Saúde de São Paulo.

Outro resultado alarmante, foi a positividade de uma amostra na faixa etária infantil, e neste caso, conforme mencionado anteriormente, este foi confirmado. Este resultado demonstra que mesmo com os programas pré-natais, particulares ou públicos, ainda há mulheres que não aderem aos mesmos, permitindo assim a ocorrência da sífilis congênita. A eliminação da sífilis congênita é uma prioridade global (Organização Mundial de Saúde/OMS), regional (Organização Pan-Americana da Saúde/Opas) e nacional (Ministério da Saúde/MS) e está contida em vários documentos, tais como, “Eliminação Mundial da Sífilis Congênita: Fundamento Lógico e Estratégia para a Ação” (OMS, 2008); “Estratégia e Plano de Ação para a Eliminação da Transmissão Materno-Infantil do HIV e da Sífilis Congênita” (Opas-2010); “Rede Cegonha” (MS-2011).

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que apesar da sífilis ser uma doença de fácil prevenção, diagnóstico e tratamento, ainda permanece presente na região de São Manuel.

7 CONCLUSÃO

Com os resultados obtidos neste estudo pode-se concluir que:

- Apesar do aumento gradativo do número total de testes VDRL positivos no decorrer dos anos analisados (2010 a 2014), não houve diferença significativa no número de amostra positivas entre estes anos.
- Quando analisou-se o número de amostras positivas e negativas entre os sexos masculino e feminino, o número de amostras positivas do sexo masculino foi significativamente maior tanto no período 2010-2014, quanto nos anos de 2013 e 2014.
- No período analisado, todas as faixas etárias apresentaram resultados positivos para o teste VDRL e observou-se predomínio de resultados positivos na idade adulta.

REFERÊNCIA

AMARAL, A. **Sífilis: moléstia e termo**. Rio de Janeiro: Instituto Nacional do Livro. 1966. p. 95-154.

ANTAL, G.M.; LUKEHART, S.A.; MEHEUS, A.Z. **The endemic treponematoses**. *Microbes and Infection*, 2002; 4: 83-94.

ARRIZABALAGA, J.; HENDERSON, J.; FRENCH, R. **The Great Pox the French Disease in Renaissance Europe**. London: Yale University Press; 1997.

AVELLEIRA, J.C.R.; BOTTINO, G. **Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle**. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, 2006; 81(2):111-26.

AZULAY, M.M.; AZULAY, D.R. **Treponematoses**. In: Azulay e Azulay. *Dermatologia*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004. p. 240-51.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Diretrizes de Controle da Sífilis Congênita**. Brasília (DF): Ministério da Saúde, 2005. p. 7-53.

BURSTAIN, J.M.; GRIMPEL, E.; LUKEHART, S.A.; NORGDARD, M.V.; RADOLF, J.D. **Sensitive detection of *Treponema pallidum* by using the polymerase chain reaction**. *J Clin Microbiol*, 1991; 29:62-9.

CARRARA, S. **Tributo a Vênus: a luta contra a sífilis no Brasil, da passagem do século aos anos 40**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 1996. p. 339

CASAL, C.A.D.; ARAÚJO, E.C.; CORVELO, T.C.O. **Aspectos imunopatogênicos da sífilis materno – fetal: revisão de literatura**, Pará, 2012.

CASTRO, R.R. · **Contribuição para o estudo de infecção por *treponema pallidum* subespécie *pallidum* : resposta serológica diagnóstico molecular e genotipagem** . Lisboa : Universidade Nova de Lisboa, Instituto de Higiene e Medicina Tropical, 2004. - XXIV, p. 293.

CHUNG, K.Y.; KIM, K.S.; LEE, M.G.; CHANG, N.S.; LEE, J.B. ***Treponema pallidum* induces up regulation of interstitial collagenase in human dermal fibroblasts**. *Acta Derm Venereol*, 2002; 82:174–178.

COX, P.M.; LOGAN, L.C.; NORINS, L.C. **Automated, quantitative microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies.** Appl. Microbiol, 1969; 18:485-489.

COX, P.M.; LOGAN, L.C.; STOUT, G.W. **Futher studies of a quantitative automated microhemagglutination assay for antibodies to *Treponema pallidum*.** Public Heath Lab, 1971; 29:43-50.

CRT-DST/ AIDS-SP. **Boletim Epidemiológico de DST/Aids de São Paulo.** Brasil; 2013. Disponível em:
<<http://www.saude.sp.gov.br/resources/crt/vig.epidemiologica/boletim-epidemiologico-crt/boletim2013.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

FIELDSTEEL, A.H.; COX, D.L.; MOECKLI, R.A. **Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture.** Infection and Immunity 1981; 32: 908-915.

FIUMARA, N.J. **Treatment of primary and secondary syphilis.** Serological response. JAMA, 1980; 243:2500-2502.

FLUCON IgG/IgM. **Técnica de Imunofluorescência indireta para *T. pallidum*.** WAMA. Disponível em: <<http://www.wamadiagnostica.com.br/bulas/diversos/Flucon-IgG-IgM.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

FORBES, G.; RUTTER, P.; ABRAHAM, C. **Significant cost saving with an automated syphilis screening test.** Transfusion, 1991; 31:S75.

FRASER, C.M.; NORRIS, S.J.; WEINSTOCK, J.M.; WHITE, O.; SUTTON, G.G.; DODSON, R.; GWINN, M. et al. **Complete genome sequence of *Treponema pallidum*: the syphilis spirochete.** Science, 1998; 281: 375- 388.

GARNETT, G.P.; ARAL, S.O.; HOYLE, D.V.; CATES, W.J.; ANDERSON, R.M. **The natural history of syphilis. Implications for the transmission dynamics and control of infection.** Sex Transm Dis, 1997; 24:185-200.

GOLDIM, J.R. **O Caso Tuskegee: quando a ciência se torna eticamente inadequada.** 1999. Disponível em: <www.hcpa.ufrgs.br>. Acesso em: 15 set. 2015.

HAGMAN, K.E.; PORCELLA, S.F.; POPOVA, T.G.; NORGDARD, M.V. **Evidence for a methyl accepting chemotaxis protein gene (mcp1) that encodes a putative sensory transducer in virulent *Treponema pallidum***. *Infect Immun*, 1997; 65:1701–1709.

HUDSON, M.M.; MORTON, R.S. **Fracastoro and syphilis: 500 years on**. *Lancet*, 2006; 348:1495 6.

IBGE. **São Manuel – São Paulo**. Brasil; 2015. Disponível em: <<http://www.cidades.ibge.gov.br/xtras/perfil.php?lang=&codmun=355010&search=sao-paulo|sao-manuel|infograficos:-informacoes-completas>>. Acesso em: 06 dez. 2015.

Imuno-ELISA Anti-TP (Sífilis). **Técnica de ELISA para *T. pallidum***. WAMA Disponível em: <<http://www.wamadiagnostica.com.br/bulas/imuno-elisa/anti-tp-sifilis-1.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

Imuno-Rápido Sífilis. **Técnica de imunocromatografia para *T. pallidum***. WAMA. Acesso em: <<http://www.wamadiagnostica.com.br/bulas/imuno-rapido/S%C3%ADfilis%20Total%201.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

LAFOND, R.E.; LUKEHART, A.S. **Biological Basis for Syphilis**. *Clinical Microbiology Reviews*, 2006; 19(1): 29-49.

LARSEN, S.A.; STEINER, B.M.; RUDOLPH, A.H. **Laboratory, diagnosis and interpretation of tests of syphilis**. *Clin Microbiol*, 1995; 8:1-21.

LEE, J.H.; CHOI, H.J.; JUNG, J.; LEE, M.G.; LEE, J.B.; LEE, K.H. **Receptors for *Treponema pallidum* attachment to the surface and matrix proteins of cultured human dermal microvascular endothelial cells**. *Yonsei Med J.*, 2003; 44:371–378.

LEE, K.H.; CHOI, H.J.; LEE, M.G.; LEE, J.B. **Virulent *Treponema pallidum* 47 kDa antigen regulates the expression of cell adhesion molecules and binding of T-lymphocytes to cultured human dermal microvascular endothelial cells**. *Yonsei Med J.*, 2000; 41:623 633.

LUKEHART, S.A. **Immunology and pathogenesis of syphilis**. In Quinn TC (ed.), *Sexually transmitted diseases*. Raven Press, Ltd., 1992, New York, N.Y.

MAHONEY, J.F.; ARNOLD, R.C.; HARRIS, A. **Penicillin therapy of early syphilis. A preliminary report**. *American Journal of Public Health* 33 (December 1943), 1943.

- MANDELBROT, L.; MARCOLLET, A. **Syphilis and Pregnancy**. La revue du praticien, 2004; 54(4):392-395.
- MORTON, R.S.; RASHID, S. **“The syphilis enigma”: the riddle resolved?** Sex Transm Infect, 2001; 77(5):322-4.
- MUSHER, D.M. **Syphilis, neurosyphilis, penicillin and AIDS**. J Infect Dis., 1991; 163:1201–6.
- NAYAK, S.; ACHARJYA, B. **VDRL Test and its Interpretation**. Indian Journal of Dermatology, 2012; 57(1): 3–8.
- NETO, B.G.; SOLER, Z.A.S.G.; BRAILE, D.M.; DAHER, W. **A sífilis no século XVI – o impacto de uma nova doença**. Revista Arquivos de Ciências da Saúde, 2009; 16(3): 17-9.
- NITRINI, R.; SOUZA, M.C. **Neurossífilis**. In: Walter Belda Júnior. Doenças Sexualmente Transmissíveis. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 31-44.
- O’REGAN, A.W.; CASTRO, C.; LUKEHART, S.A.; KASZNICA, J.M.; RICE, P.A.; JOYCE-BRADY, M.F. **Barking up the wrong tree? Use of polymerase chain reaction to diagnose syphilitic aortitis**. Thorax, 2002; 57:917-8.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Eliminação mundial da sífilis congênita: fundamento lógico e estratégia para ação**. Geneva: OMS; 2008.
- ORTON, S.L.; LIU, H.; DODD, R.Y.; WILLIAMS, A.E. ARCNET Epidemiology Group. **Prevalence of circulating Treponema pallidum DNA and RNA in blood donors with confirmed-positive syphilis tests**. Transfusion, 2002; 42:94-9.
- PALMER, H.M.; HIGGINS, S.P.; HERRING, A.J.; KINGSTON, M.A. **Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom**. Sex Transm Infect, 2003; 79:479-83.
- PENN, C.W.; RHODES, J.G. **Surface-associated antigens of Treponema pallidum concealed by an inert outer layer**. Immunology, 1982; 46:9–16.
- Quétel, C. **The history of syphilis**. Baltimore: Johns Hopkins Paperbacks; 1992.
Tradução de: Le Mal de Naples, Histoire de la syphilis.

RADOLF, J.D.; ARNDT, L.L.; AKINS, D.R.; CURETTY, L.L.; LEVI, M.E.; SHEN, Y. et al. **Treponema pallidum and Borrelia burgdorferi lipoproteins and synthetic lipopeptides activate monocytes/macrophages.** J Immunol, 1995; 154:2866–2877.

RADOLF, J.D.; NORGARD, M.V.; SCHULZ, W.W. **Outer membrane ultrastructure explains the limited antigenicity of virulent Treponema pallidum.** Proc Natl Acad Sci USA, 1989; 86:2051–2055.

RAMOS J.A.N.; MATIDA L.H.; SARACENI V. et al. **Control of mother-to-child transmission of infectious diseases in Brazil: progress in HIV/Aids and failure in congenital syphilis.** Cad Saúde Pública, 2007; 23(3): S370-S8.

RATHLEV, T. **Haemagglutination tests utilizing antigens from pathogenic and apathogenic Treponema pallidum.** WHO/VDT/Res, 1965; 77:65.

REIS, HLB.; SABINO, J.B; CALDELLAS, S. **Sífilis recente em gestante e efeito prozona na sorologia: relato de caso.** DST – J Bras Doenças Sex Transm, 2007; 19(3-4):173-176.

RIBEIRO, Á.S.; DE SOUZA, F.B.; PINTO, S.S. **Triagem para Sífilis: Incidência de Resultados Positivos nas Amostras Analisadas no Hospital Municipal Duque de Caxias, Oriundas do Centro de Testagem e Aconselhamento para DST e AIDS.** News Lab, 2007; 82:142-155.

RIVITTI, EA. **Sífilis Adquirida.** In: Walter Belda Júnior. Doenças Sexualmente Transmissíveis. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 9-21.

SANCHEZ, M.R. **Syphilis.** In: Fitzpatrick's Dermatology in general medicine. 6. ed. USA: McGraw Hill; 2003. p. 2163-88.

SATO, T.; KUBO E.; YOKOTA M.; KAYASHIMA T.; TOMIZAWA T. **Treponema pallidum specific IgM haemagglutination test for serodiagnosis of syphilis.** Br J Vener Dis, 1984; 60:364-70.

SCLIAR, M. **A paixão transformada.** História da Medicina na literatura. São Paulo: Companhia das Letras; 1996.

SELLATI, T.J.; BOUIS, D.A.; CAIMANO, M.J.; FEULNER, J.A.; AYERS, C.; LIEN, E. et al. **Activation of human monocytic cells by Borrelia burgdorferi and**

Treponema pallidum is facilitated by CD14 and correlates with surface exposure of spirochetal lipoproteins. J Immunol, 1999; 163:2049–2056.

SIELING, P.A.; CHUNG, W.; DUONG, B.T.; GODOWSKI, P.J.; MODLIN, R.L. **Toll-like receptor 2 ligands as adjuvants for human Th1 responses.** J Immunol., 2003; 170:194–200.

SMITH, G.; HOLMAN, R.P. **The prozone phenomenon with syphilis and HIV-1 co infection.** South Med J, 2004; 97:379-82.

SUN, E.S.; MOLINI, B.J.; BARRETT, L.K.; CENTURION-LARA, A.; LUKEHART, S.A.; VAN VOORHIS, W.C. **Subfamily I Treponema pallidum repeat protein family: sequence variation and immunity.** Microbes Infect, 2004; 6:725–737.

VDRL. **Técnica de VDRL.** WAMA. Disponível em:
<<http://www.wamadiagnostica.com.br/bulas/diversos/vdrl-sifilis-1.pdf>>. Acesso em: 01 nov. 2015.

WEINSTOCK, G.M.; HARDHAM, J.M.; MCLEOD, M.P.; SODERGREN, EJ; NORRIS, SJ. **The genome of Treponema pallidum: new light on the agent of syphilis.** FEMS Microbiology Reviews, 1998; 22: 323-332.

WICHER, V.; WICHER, R. **Pathogenesis of Maternal-Fetal Syphilis Revisited.** Clinical Infectious Diseases, 2001; 33: 354-363.

WOODS, CR. **Syphilis in Children: Congenital and Acquired. Seminars in Pediatric.** Infectious Diseases 2005; 16: 245-257.

ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA ANÁLISE DOS DADOS DO LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS SÃO MANUEL.

 **LABORATÓRIO
SÃO MANUEL**
Avenida Irmãs Cintra, 579 - Centro
(esquina da Escola Augusto Reis)
São Manuel - SP - CEP 18.650-000
Fone/fax: (14) 3841-4000 - 3841-1881

Dra. Rita de Cássia Pupo da Silveira Lyra - CRF-SP 9.145
Dr. Célio Aparecido Carmelin - CRF-SP 42.477

AUTORIZAÇÃO

Venho por meio desta, informar que o aluno Pedro Felipe Moro Lima, ID: 308818 devidamente matriculado na instituição de ensino Universidade do Sagrado Coração (USC), localizada na Rua Irmã Armanda, 10-50, Jardim Brasil, Bauru-SP, está autorizado a utilizar dados baseados em laudos de exames realizados neste Laboratório, para a realização de seu TCC (Trabalho de Conclusão de Curso).

Informo ainda que o aluno foi devidamente orientado quanto a manutenção do sigilo médico dos clientes, sendo vedada a informação de nomes, datas de nascimento, números de registros ou documentos, respeitando-se os critérios da ética médica e pesquisa clínica.

Sem mais para o momento, subscrevo-me

Atenciosamente



Dra. Rita de Cássia Pupo da Silveira Lyra
Responsável Técnica- CRF SP 9.145

São Manuel, 29 de Junho de 2015