



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

JOSÉ NEWTON BENEVIDES SÁ JÚNIOR

**AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS DA IMPLANTAÇÃO DE UM TESTE
TREPONÊMICO AUTOMATIZADO NA ROTINA DE TRIAGEM SOROLÓGICA
DE DOADORES DE SANGUE NA HEMORREDE DO ESTADO DO CEARÁ.**

FORTALEZA

2022

JOSÉ NEWTON BENEVIDES SÁ JÚNIOR

AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS DA IMPLANTAÇÃO DE UM TESTE TREPONÊMICO
AUTOMATIZADO NA ROTINA DE TRIAGEM SOROLÓGICA DE DOADORES DE
SANGUE NA HEMORREDE DO ESTADO DO CEARÁ.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Patologia da Universidade
Federal do Ceará como requisito parcial à
obtenção do Título de Mestre em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Miyajima

FORTALEZA

2022

S112a Sá Júnior, José Newton Benevides.

Avaliação dos impactos causados pela implantação de um teste treponêmico automatizado, na rotina de triagem sorológica de doadores de sangue, no centro de hemoterapia e hematologia do estado do Ceará. / José Newton Benevides Sá Júnior. – 2023.

91 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Patologia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Fábio Miyajima.

1. sífilis; banco de sangue; automação. I. Título.

CDD 571.9.

JOSÉ NEWTON BENEVIDES SÁ JÚNIOR

AVALIAÇÃO DOS IMPACTOS CAUSADOS PELA IMPLANTAÇÃO DE UM TESTE
TREPONÊMICO AUTOMATIZADO, NA ROTINA DE TRIAGEM SOROLÓGICA DE
DOADORES DE SANGUE, NO CENTRO DE HEMOTERAPIA E HEMATOLOGIA DO
ESTADO DO CEARÁ.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Patologia da Universidade
Federal do Ceará como requisito parcial à
obtenção do Título de Mestre em Patologia.

Aprovado: ____ / ____ / ____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Miyajima (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof. Dr. Fernando Braga Stehling Dias
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr. Eduardo Ruback dos Santos
Pesquisador em Saúde Pública da FIOCRUZ

Dr. Ítalo José Mesquita Cavalcante
Hospital São José de Doenças Infeciosas – SESA/CE

Dedico este trabalho aos meus pais, Newton Sá e Maria José, a minha esposa Sandra, aos meus filhos Pedro e Sofia e aos meus irmãos Marta, Sávio e Paulo, os quais sempre me incentivaram na busca constante pelo crescimento intelectual e pessoal.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a DEUS, pela força e apoio que me concede em todos os momentos difíceis da minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Fábio Miyajima pelos ensinamentos, apoio e parceria.

À Dra. Luciana Carlos, diretora geral do HEMOCE pelo apoio, compreensão e atenção a mim concedidos, não só durante o período do mestrado, como todos os ensinamentos em todos os anos de serviço público no hemocentro.

Ao Dr. Franklin José pelo incentivo a participar da missão e do desafio de cursar um mestrado.

A todos os meus grandes amigos e parceiros de trabalho no HEMOCE, no qual agradeço em nome do Dr. José Lúcio, coordenador do setor de sorologia, e da Dra. Richeyla Custódio, supervisora do setor NAT, pelo apoio e incentivo constante durante todo o período do mestrado.

A todos os professores do programa da Pós-Graduação em Patologia (PPG) pela imensa contribuição em minha formação.

A Valéria, secretária do programa de pós-graduação da patologia, por sua dedicação, amizade e disponibilidade para ajudar não só a mim, mas a todos os mestrandos do programa de patologia.

Aos colegas de turma do mestrado 2019.1, pela amizade, coleguismos e troca de experiências que vivenciamos no período acadêmico.

A minha família que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos.

RESUMO

A sífilis é uma doença infectocontagiosa, de aspecto crônico, que desafia a humanidade provavelmente desde o seu primórdio. Apesar de existir tratamento, na última década, o número de casos de sífilis vem ressurgindo de forma alarmante no Brasil, já sendo considerada atualmente como uma doença reemergente. Além de ser uma doença de alta transmissibilidade sexual, apresenta também comprovada transmissão transfusional, sendo parte, inclusive, da triagem laboratorial obrigatória na atual política do ciclo do sangue, conforme a legislação vigente no país, e que inclui a doação de sangue e distribuição de hemocomponentes. Apesar dos notáveis avanços na segurança transfusional devido a vários fatores, dentre eles a utilização de métodos mais avançados de maior sensibilidade para triagem sorológica do doador, em muitos bancos de sangue ainda são utilizados de rotina testes não-treponêmicos, como VDRL/RPR, para a detecção laboratorial de sífilis, os quais apresentam baixa sensibilidade na fase primária da doença. Soma-se o fato de ainda serem pouco compatíveis com sistemas de automação, o que dificulta a sua escalabilidade e sua implementação para serviços de saúde de alta demanda e elevado número de amostras. Em outubro de 2019, foi introduzido na triagem sorológica da Hemorrede do Ceará um teste treponêmico automatizado, baseado na metodologia de eletroquimioluminescência (ECLIA), com alta sensibilidade na fase primária da doença, modificando assim as rotinas laboratoriais e ocasionando um incremento nas taxas de detecção. Este estudo buscou avaliar os impactos ocasionados por esta implantação, avaliando os desdobramentos do incremento na proporção das amostras reativas para sífilis nos 12 meses subsequentes ao início de sua utilização, comparando-os com um período equivalente antecedente de 12 meses, bem como conhecer o perfil dos doadores reativos e acompanhar seus exames subsequentes. O estudo foi realizado mediante aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, sob o parecer de nº 4.345.218, CAAE 22873219.0.0000.8152, sendo os dados coletados de forma a garantir o anonimato dos doadores e os resultados obtidos interpretados de forma coletiva. Foram avaliados os resultados das sorologias de triagem para sífilis de 194.913 doações ocorridas no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, no período entre outubro de 2018 a outubro de 2020, das quais 102.212 foram submetidas ao teste não-treponêmico (RPR) e 91.913 ao teste treponêmico (ECLIA), em períodos distintos e não concomitantes conforme descrito anteriormente. Os resultados obtidos evidenciaram uma sororreatividade para sífilis em 503/102.212 (0,5%) ao RPR e em 1.003/91.913 (1,1%) ao

ECLIA. O perfil dos doadores reativos ao ECLIA evidenciou que a maioria era residente da macrorregião de Fortaleza 561/1.003 (55,9%), sexo masculino 589/1.003 (58,7%), composta por jovens adultos entre 18-29 anos (279/1.003, 27,8%), 30-39 anos (279/1.003, 27,8%), com ensino médio completo (398/1.003, 39,7%), estado civil solteiro (513/1.003, 51,2%), autodeclarados de raça moreno-parda (721/1.003, 71,9%). Em relação ao histórico de doações, 376/1.003 (37,5%) eram doadores de primeira vez e 627/1.003 (62,5%) doadores de repetição. Dos doadores reativos ao ECLIA, na fase de triagem, 721/1.003 (71,9%) retornaram ao serviço para realização de exames diagnósticos até o mês de julho de 2021, dos quais 650/721 (90,2%) replicaram o resultado reativo para sífilis enquanto 71/721 (9,9%) considerados como não reagentes. Destes, após aplicação dos protocolos de avaliação para reabilitação destes doadores, apenas 17/721 (2,4%) foram caracterizados como reações falso-positivas, e portanto, liberados para realizarem novas doações de sangue e o remanescente (704/721, 97,6%) rejeitados de forma definitiva para novas doações. Ademais, foi realizado comparações de parâmetros demográficos básicos do grupo de Reativos com um grupo de 9,897 doadores do HEMOCE-Fortaleza referentes ao período de janeiro a dezembro de 2020 (Programa de Sorovigilância para COVID-19), que constatou que esses indivíduos reativos apresentavam um perfil de distribuição etário distinto e com maior predominância do sexo feminino comparado ao grupo controle (41,2% vs 37,7%). Em geral, conclui-se que o novo método utilizado na triagem sorológica (ECLIA) ocasionou um aumento na prevalência da sororreatividade para sífilis em relação ao método não treponêmico (RPR) anteriormente utilizado, sendo a maioria dos candidatos reativos composto por adultos jovens, com idades entre 18 a 39 anos, do sexo masculino, solteiros, autodeclarados morenos ou pardos e com ensino médio completo.

Palavras-chave: sífilis; banco de sangue; automação.

ABSTRACT

Syphilis is an infectious disease, with a chronic aspect, that has challenged humanity probably since its beginning. Despite the existence of treatment, in the last decade, the number of syphilis cases has been resurfacing in an alarming way in Brazil, now being considered as a re-emerging disease. In addition to being a highly sexually transmissible disease, it also has proven transfusional transmission, including being part of the mandatory laboratory screening in the current blood cycle policy, according to the legislation in force in the country, which includes blood donation and distribution of blood components. Despite notable advances in transfusion safety due to several factors, including the use of more advanced methods of greater sensitivity for donor serological screening, in many blood banks non-treponemal tests, such as VDRL/RPR, are still routinely used to the laboratory detection of syphilis, which have low sensitivity in the primary phase of the disease. In addition, they are still poorly compatible with automation systems, which makes their scalability and implementation difficult for high-demand health services and a large number of samples. In October 2019, an automated treponemal test was introduced in the serological screening of Hemorrede do Ceará, based on the electrochemiluminescence (ECLIA) methodology, with high sensitivity in the primary phase of the disease, thus modifying laboratory routines and causing an increase in detection rates. This study sought to evaluate the impacts caused by this implantation, evaluating the consequences of the increase in the proportion of reactive samples for syphilis in the 12 months following the beginning of its use, comparing them with an equivalent previous period of 12 months, as well as knowing the profile of reactive donors and follow up on their subsequent examinations. The study was carried out through the approval of the Ethics and Research Committee of the Hematology and Hemotherapy Center of Ceará, under the opinion of No. 4.345.218, CAAE 22873219.0.0000.8152, the data being collected in order to guarantee or anonymity to two donors and results obtained interpreted collectively. The results of the screening serologies for syphilis of 194,913 donations that took place at the Hematology and Hemotherapy Center of Ceará, between October 2018 and October 2020, were evaluated, of which 102,212 were submitted to the non-treponemal test (RPR) and 91,913 to the treponemal test (ECLIA), in different and non-concurrent periods, as described above. The results obtained showed seroreactivity for syphilis in 503/102,212 (0.5%) to RPR and in 1,003/91,913 (1.1%) to ECLIA. The profile of donors reactive to ECLIA showed that the majority were residents of the macro-region of Fortaleza 561/1,003 (55.9%), male 589/1,003

(58.7%), composed of young adults between 18-29 years old (279 /1,003, 27.8%), 30-39 years old (279/1,003, 27.8%), with complete high school (398/1,003, 39.7%), single marital status (513/1,003, 51.2 %), self-declared as brown/brown (721/1,003, 71.9%). Regarding the donation history, 376/1,003 (37.5%) were first-time donors and 627/1,003 (62.5%) were repeat donors. Of the donors reactive to ECLIA, in the screening phase, 721/1,003 (71.9%) returned to the service for diagnostic tests until July 2021, of which 650/721 (90.2%) replicated the result reactive for syphilis while 71/721 (9.9%) were considered non-reactive. Of these, after applying the evaluation protocols for the rehabilitation of these donors, only 17/721 (2.4%) were characterized as false-positive reactions, and therefore, released to make new blood donations and the remainder (704/721, 97.6%) definitively rejected for new donations. Furthermore, it was carried out a comparative analysis for basic demographic parameters between the Reactive group with data from a blood donor group of 9,897 individuals from Hemoce Fortaleza obtained between January and December 2020 (Programme for Serosurveillance of COVID-19), which found that reactive individuals presented a distinct age profile and a higher proportion of Females compared to the control group (41.2% vs 37.7%). By conclusion, the new method used in serological triage (ECLIA) caused an increase in the prevalence of sero-reactivity for syphilis in relation to the non-treponemal method (RPR) previously used, with the majority being two reactive candidates composed of young adults, with ages between 18 and 39 years old, male, single, self-declared dark or brown and with a full middle age.

Keywords: syphilis; blood bank; automation.

ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Fotomicrografia eletrônica de varredura do <i>Treponema pallidum</i> ssp <i>pallidum</i>	20
Figura 2 - Ordem cronológica do desenvolvimento dos testes laboratoriais para detecção de sífilis.....	27
Figura 3 - Relação entre os testes para diagnóstico da Sífilis, as fases da doença, o curso clínico da infecção e o tempo.....	31
Figura 4 - Representação esquemática de uma micela, antígeno presente nos testes não treponêmicos.....	31
Figura 5 - Representação esquemática da reação de floculação, na qual os anticorpos não treponêmicos presentes na amostra se ligam a várias micelas simultaneamente.	36
Figura 6 - Mapa representativo da Hemorrede do Ceará denotando os cinco Hemocentros do Estado, tendo Fortaleza como Hemocentro Coordenador.....	46
Figura 7 - Fluxograma para triagem sorológica para sífilis com utilização de um método não treponêmico (VDRL/RPR).....	47
Figura 8 - Fluxograma para triagem sorológica para sífilis com utilização do método reverso, utilizando um método treponêmico (eletroquimioluminescência)..	50
Figura 9 - Fluxograma para realização do diagnóstico laboratorial reverso de sífilis baseado em testes imunológicos automatizados.....	51
Figura 10 - Fluxograma de liberação de paciente para realizar novas doações, após retorno para diagnósticos de sífilis.....	53
Figura 11 - Fluxograma dos resultados obtidos na fase 3 do estudo, na etapa de diagnóstico.	76
Figura 12 - Densidade de distribuição etária para doadores Reativos versus Não-Reativos.	77
Figura 13 - Densidade de distribuição etária para doadores Reativos versus Não-Reativos estratificado por sexo.	78
Figura 14 - Densidade de distribuição etária para doadores Reativos por sexo	78

GRÁFICOS

Gráfico 1- Percentuais mensais de soroprevalência para sífilis com a utilização de um teste não treponêmico, no período de novembro de 2018 a setembro de 2019.....	65
Gráfico 2 - Percentuais mensais de soroprevalência para sífilis com a utilização de um teste treponêmico (ECLIA), no período de novembro de 2019 a outubro de 2020.....	67
Gráfico 3 - Doações reativas para sífilis, através do método treponêmico ECLIA, com correlação entre sexo e faixa etária.....	70

TABELAS

Tabela 1 - Principais Polipeptídeos do <i>Treponema pallidum</i> envolvidos na Resposta Imune do Hospedeiro.....	25
Tabela 2 - Sensibilidade dos testes não treponêmicos.....	29
Tabela 3 - Reações cruzadas dos testes não treponêmicos.....	30
Tabela 4 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de VDRL/RPR no período de novembro de 2018 a setembro de 2019.....	64
Tabela 5 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de VDRL/RPR, no período de novembro de 2018 a setembro de 2019, por região do Estado.....	65
Tabela 6 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de ECLIA no período de novembro de 2019 a outubro de 2020.....	66
Tabela 7 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de ECLIA no período de novembro de 2019 a outubro de 2020, por região do Estado.	68
Tabela 8 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação a variável sexo.....	68
Tabela 9 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável faixa etária.....	69
Tabela 10 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável grau de instrução.....	70
Tabela 11 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável estado civil.....	71
Tabela 12 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável raça.....	72
Tabela 13 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao tipo de doador.....	72
Tabela 14 - Dados referentes aos doadores de repetição, reativos ao teste de treponêmico ECLIA, em relação à quantidade de doações anteriores antes de reatividade ao método implantado na triagem sorológica.....	73
Tabela 15 - Combinação de resultados de testes treponêmicos e não treponêmicos para diagnóstico reverso de sífilis.....	76

Tabela 16 - Resultados dos testes obtidos dos doadores que retornaram ao serviço para diagnóstico, durante a fase 3 do estudo.....	75
--	----

ABREVIATURAS E SIGLAS

AIDS – Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida
CDC - Centros de Controle e Prevenção de Doenças
ECLIA - Eletroquimioluminescência
ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FITC - Isotiocianato de Fluoresceína
FTA-Abs - Absorção de anticorpos treponêmicos fluorescentes
HBV - Hepatitis B Virus
HCV - Hepatitis C Virus
HEMOCE - Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará
HIV - Vírus da imunodeficiência humana
HTLV - Vírus Linfotrópico de Células T Humanas
IgG - Imunoglobulina G
IgM - Imunoglobulina M
IST - Infecções Sexualmente Transmissíveis
OMS - Organização Mundial da Saúde
RPR - Reação Plasmática Rápida
RST – Teste de Reação de Tiagem
SNC - Sistema Nervoso Central
TpN - *Treponema pallidum* de Nichols
TRUST - Teste de Toluidina Vermelha em Soro Não Aquecido
USR - Reação de Soro Não Aquecido
VDRL - Pesquisa Laboratorial para Doenças Venéreas

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	18
1.1	Sífilis.....	18
1.1.1	Agente Etiológico.....	19
1.1.2	Transmissão.....	21
1.1.3	Tipos de sífilis.....	22
1.1.4	Resposta imunológica ao patógeno.....	24
1.2	Diagnóstico laboratorial.....	26
1.2.1	Exames diretos.....	27
1.2.2	Exames indiretos (imunológicos ou sorológicos).....	28
1.3	Efeito prozona.....	36
1.4	Cicatriz sorológica.....	37
1.5	Vantagens e desvantagens dos testes treponêmicos e não-treponêmicos.....	37
1.6	Situação epidemiológica da sífilis na atualidade.....	38
1.7	Triagem para detecção de sífilis em serviços de hemoterapia.....	39
1.8	Breve análise da legislação nacional sobre serviços de hemoterapia.....	42
1.9	Centro de hematologia e hemoterapia do Ceará (HEMOCE).....	44
1.9.1	Triagem sorológica para sífilis.....	46
2	Justificativa.....	55
3	Perguntas de partida.....	55
4	Objetivos.....	56
4.1	Objetivo geral.....	56
4.2	Objetivos específicos.....	56
5	Materiais e métodos.....	56
5.1	Aspectos éticos e legais.....	56
5.2	Tipo de estudo.....	57
5.3	População do estudo.....	57
5.4	Local do estudo.....	57
5.5	Critérios de inclusão.....	57
5.6	Critérios de exclusão.....	58

5.7	Coleta de dados.....	58
5.8	Triagem e diagnóstico sorológico da sífilis.....	59
5.9	Parâmetros para o teste sorológico não treponêmico (RPR).....	59
5.10	Parâmetros para os testes sorológicos treponêmicos (ECLIA e FTA-Abs).....	60
5.11	Parâmetros para classificação de doadores que retornaram para testes confirmatórios	62
5.12	Desenho do estudo.....	62
5.13	Análise de dados.....	64
6	Resultados.....	64
6.1	Resultados obtidos na fase 01 do estudo.....	64
6.2	Resultados obtidos na Fase 02 do estudo.....	66
6.3	Resultados obtidos na Fase 03 do estudo.....	73
7	Discussão dos resultados.....	79
8	conclusões.....	84
9	Referências bibliográficas.....	86

1 INTRODUÇÃO

A sífilis é uma doença infectocontagiosa, de aspecto crônico, que desafia há séculos a humanidade. Devido sua ação sistêmica ela acomete praticamente todos os órgãos e tecidos do organismo. Embora tenha um tratamento medicamentoso eficaz e de baixo custo, mantém-se como um problema importante de saúde pública até os dias atuais. Seus registros iniciais ocorreram na Europa no final do século XV, e sua rápida disseminação por todo o continente transformou-a em uma das principais pragas mundiais (AVELLEIRA e BOTTINO, 2006).

Nos últimos anos, mesmo com as facilidades de diagnóstico e com tratamento acessível e de baixo custo, disponíveis em toda a rede básica do sistema de saúde brasileiro, o número de casos de sífilis vem ressurgindo de forma alarmante em todo o país, principalmente devido à diminuição das práticas de sexo seguro (DOMINGUES e LEAL, 2016; COHEN SE *et al.*, 2013).

A sífilis é considerada atualmente como uma doença reemergente. Conforme dados da Organização Mundial da Saúde, estima-se que cerca de doze milhões de novos casos da doença ocorram a cada ano, sendo que destes aproximadamente três milhões ocorram na América Latina e no Caribe (MATTEI *et al.*, 2012; WHO, 2006).

1.1 Sífilis

A sífilis é uma patologia exclusiva do ser humano, sendo causada pela bactéria *Treponema pallidum* (*T. pallidum*), e que, quando não tratada precocemente, pode evoluir para uma enfermidade com sequelas irreversíveis em longo prazo (HORVATH, 2011; BRASIL, 2015).

No decorrer da evolução da doença no organismo, ocorrem períodos que apresentam características clínicas, imunológicas e histopatológicas distintas, sendo estas intercaladas por períodos de latência, ou seja, nos quais não se observa a presença de sinais ou sintomas (JANIER *et al.*, 2014; OMS, 2015).

Atualmente a doença apresenta uma distribuição mundial, com maiores prevalências em países em subdesenvolvidos ou em desenvolvimento, e, conforme os indicadores, não tem predileção por raça ou sexo sendo muito recorrente entre os jovens (BRASIL, 2004).

A sífilis é um importante agravo na saúde pública mundial. Além de ser uma enfermidade infectocontagiosa que tem o poder de acometer o organismo de maneira severa quando não tratada. Ela tem o potencial de aumentar significativamente o risco do seu portador se infectar com outros tipos de patologias, como é o caso da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), visto que as lesões sifilíticas atuam como porta de entrada para este vírus. A presença do *T. pallidum* no organismo além de facilitar o contágio pelo HIV também tem o potencial de acelerar a evolução da infecção para a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS) (HORVATH, 2011; BRASIL, 2015).

1.1.1 Agente etiológico

O agente etiológico da sífilis foi descoberto no ano de 1905 em Berlim, por Fritz Richard Schaudinn e Paul Erich Hoffman, que observaram a presença de espiroquetas em um fluido coletado de lesões secundárias coradas, sendo inicialmente catalogado como *Spirochaeta pallida*, devido sua forma espiralada, flexível, fina e com a presença de um endoflagelo ou filamento axial (figura 1) (SINGH e ROMANOWSKI, 1999; SOUZA, 2005).

O patógeno recebeu vários nomes após sua descoberta, sendo finalmente o organismo causador da sífilis designado como pertencente ao gênero *Treponema*, devido a sua semelhança com um fio torcido, e *pallidum* por causa de sua cor pálida (SINGH e ROMANOWSKI, 1999; GIACANI e LUKEHARTA, 2014).

O agente causador da sífilis é uma bactéria do gênero *Treponema*, família *Treponemataceae* e denominada de *Treponema pallidum*. (AVELLEIRA e BOTTINO, 2006).

O *T. pallidum* apresenta aspectos morfológicos distintos. Possui forma de espiral (com 10 a 20 voltas em torno de um eixo central), com comprimento de aproximadamente de 5µm a 20µm e apenas 0,1µm a 0,2µm de espessura. Não possui membrana celular, sendo

protegido por um envelope externo com três camadas ricas em moléculas de ácido N-acetil murâmico e N-acetil glucosamina. Apresenta flagelos que se iniciam na extremidade distal da bactéria, junto à camada externa e ao longo do seu eixo longitudinal. A locomoção do patógeno ocorre por rotação do corpo com a ação destes filamentos (SINGH, e ROMANOWSKI, 1999).

Figura 1 - Fotomicrografia eletrônica de varredura do *Treponema pallidum*.



Fonte: Biblioteca de imagens de saúde pública.
Centers for Disease Control and Prevention.
<https://phil.cdc.gov/default.aspx>.

As dimensões diminutas do *T. pallidum* o tornam invisível à microscopia de luz (SINGH e ROMANOWSKI, 1999). Sua visualização é feita através de microscopia de campo escuro, de fase ou impregnação por prata em cortes de tecido. São facilmente destruídos pelo calor, frio, dissecação, desinfetantes e alterações osmóticas (SANTOS JÚNIOR, 1996; SMITH *et al.*, 2008).

O *T. pallidum* não resiste fora do organismo humano por mais de 24 horas, apresenta afinidade por um ambiente com baixo teor de oxigênio e não é cultivável *in vitro*. Apesar de ser um patógeno exclusivo dos seres humanos, também pode causar infecções, quando inoculado de forma experimental, em outros tipos de organismos como macacos e ratos (NETO, 2007).

Outra característica do *T. pallidum* é de apresentar uma baixa sobrevivência em bolsas de sangue, visto que elas são armazenadas em baixas temperaturas (4°-8°C). A presença de

citrato em bolsas de sangue também é outro fator que diminui a sobrevivência deste patógeno no meio. O tempo de inativação do *T. pallidum* em hemocomponentes aparenta estar diretamente relacionado com a carga bacteriana presente no fluido biológico, sendo assim, quanto maior a carga maior deve ser o tempo de acondicionamento necessário para sua inativação, podendo este prazo chegar até cinco dias (SAEZ-ALQUEZAR, 2007).

1.1.2 Transmissão

A transmissão do *T. pallidum* ocorre predominantemente através do contato sexual. Outras formas de transmissão podem ocorrer por via transplacentária para o feto ou pela contaminação deste durante o parto, no caso da presença de lesões genitais maternas, e por transfusão de sangue ou componentes sanguíneos de doadores com sífilis ativa (ADEGOKE *et al.*, 2011).

Conforme a via de transmissão, a sífilis é classificada em adquirida ou congênita. A sífilis adquirida é a mais comum e ocorre devido à penetração do treponema por pequenos ferimentos decorrentes da relação sexual. Após a penetração no organismo o treponema atinge o sistema linfático e se dissemina para outras partes do corpo. A resposta imune local causa o aparecimento de uma úlcera com aspecto morfológico característico no local de inoculação. Já a disseminação sistêmica resulta na produção de complexos imunes circulantes que podem depositar-se em qualquer órgão (PEELING *et al.*, 2017).

A sífilis congênita ocorre quando o *T. pallidum*, presente na corrente sanguínea da gestante infectada, atravessa a barreira transplacentária e penetra na corrente sanguínea do feto. A transmissão pode ocorrer em qualquer momento da gestação, sendo maior nas infecções que ocorrem nos primeiros trimestres da gravidez (MAGALHÃES *et al.*, 2011).

A ocorrência da sífilis congênita se dá quando o *T. pallidum* ultrapassa a barreira placentária, normalmente entre a 9ª e a 16ª semanas de gestação, ou durante o parto quando o bebê entra em contato com lesões genitais infecciosas da mãe. A transmissão materna quase sempre resulta em aborto, natimorto ou criança com malformações congênitas (KALININ *et al.*, 2015).

A sífilis congênita pode ser dividida, de acordo com seu tempo de diagnóstico, em etapa precoce e etapa tardia. Na etapa precoce o diagnóstico é realizado nos primeiros dois anos de vida, incluindo natimortos. Já na etapa tardia o diagnóstico é realizado após os dois anos de idade e, geralmente, se manifesta próximo à puberdade, afetando principalmente os ossos, dentes e sistema nervoso (CHAKRABORTY e LUCK, 2008).

A sífilis congênita tardia é equivalente à sífilis terciária adquirida. As manifestações se assemelham às do adulto, exceto pelo raro acometimento cardiovascular (PHISKE, 2014).

A sífilis congênita precoce é caracterizada pela presença de hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia generalizada, lesões dermatológicas que muitas vezes se assemelham ao quadro no adulto, alterações ósseas, manifestações hematológicas inespecíficas, síndrome nefrótica ou nefrite e comprometimento do SNC (ARAÚJO *et al.*, 2012).

1.1.3 Tipos de sífilis

Quando não tratada a patologia é dividida clinicamente em três fases: sífilis primária, sífilis secundária e sífilis terciária (BRASIL, 2010).

Sífilis primária

A lesão inicial é chamada de cancro, aparecendo geralmente em torno de duas semanas após a exposição ao patógeno, porém, o período de incubação pode durar até 40 dias. A lesão geralmente é erosiva ou ulcerada, singular, indolor, com infiltração de base e margens elevadas, endurecidas, ocorrendo com frequência nas regiões anogenital e oral (HOOK, 2017).

A proliferação bacteriana promove uma infiltração celular no local de inoculação, causando uma lesão de aspecto avermelhado e que progride rapidamente para uma ulceração. Esta lesão aumenta em tamanho (0,5 a 2,0cm) em uma a duas semanas evoluindo até a típica lesão ulcerada, indolor, com bordos endurecidos, bem delimitados, com fundo liso e brilhante.

O cancro duro geralmente é único, podendo ocorrer lesões múltiplas que diferem na aparência clínica, desaparecendo após 3 a 8 semanas, com ou sem tratamento (BRASIL, 2014).

Durante o desenvolvimento da sífilis primária há mudanças sistêmicas como a disseminação do sítio da infecção via linfática para o sangue em poucas horas. A resposta imune precoce é caracterizada por esplenomegalia e linfadenopatia regional, sendo a ocorrência desta última de sete a dez dias após o desenvolvimento do cancro genital (NYATSANZA e TIPPLE, 2016).

Sífilis secundária

A sífilis secundária ocorre entre duas e dez semanas após o primeiro contato com o *T. pallidum*. Esse estágio resulta da disseminação hematogênica e da colonização de vários órgãos pelos microrganismos. As manifestações mucocutâneas, como erupções de extensões variáveis, são os sintomas mais comuns presentes, não causam pruridos e evoluem como máculas simétricas róseas ou avermelhadas, podendo progredir para pápulas ou pústulas. Se não tratadas, as manifestações mucocutâneas se resolvem em algumas semanas sem demais complicações (PEELING *et al.*, 2017).

As pápulas que afetam áreas quentes e úmidas apresentam geralmente em região das genitálias tanto masculina como feminina, com aspecto de verrugas virais. Estas também desaparecem com ou sem a utilização de medicamentos, reaparecendo mais tarde. Na sífilis secundária, todos os testes sorológicos são reagentes (READ e DONOVAN, 2012).

Sífilis terciária

A sífilis terciária ocorre em um a dez anos, com casos de até cinquenta anos para que a evolução se manifeste. Caracterizam-se por lesões localizadas na pele e mucosas, no sistema cardiovascular e no sistema nervoso central (SNC). Geralmente, as lesões terciárias apresentam-se como granulomas destrutivos e ausência quase total de treponemas. Podem acometer também outros tipos de tecidos, como ósseo, o muscular e o hepático (DAMASCENO *et al.*, 2014).

Na pele, as lesões aparecem como nódulos, tubérculos, úlceras e gomas. As lesões são únicas ou em pequeno número, assimétricas, endurecidas com pouca inflamação, bordas bem demarcadas, em formatos circular destrutivo, com tendência à cura central com extensão periférica, formação de cicatrizes e hiperpigmentação periférica. Lesões gomosas podem invadir e perfurar o palato e destruir a base óssea do septo nasal (CARLSON *et al.*, 2013).

O envolvimento neurológico se caracteriza pela invasão do *T. pallidum* no sistema nervoso central. A infecção pode seguir um dos vários cursos: resolução espontânea, meningite assintomática ou meningite sífilítica aguda. Depois disso, a doença pode tanto permanecer assintomática ou evoluir para sífilis meningovascular ou *tabes dorsalis* (degeneração dos neurônios) (SUKTHANKAR, 2010).

O comprometimento cardiovascular é um dos principais sinais clínicos desta fase e um dos mais agravantes. A aortite é o acometimento mais comum, sendo a aorta ascendente afetada em 50% dos casos seguindo-se, em ordem decrescente, a crossa da aorta, a aorta descendente e a aorta abdominal, podendo haver comprometimento dos óstios coronarianos e da valva aórtica. A principal causa de morte, em cerca de 80% dos casos, é a ruptura de aneurisma sacular, quando não tratado cirurgicamente (SARAIVA *et al.*, 2010).

1.1.4 Resposta imunológica ao patógeno

O *T. pallidum* possui uma notável capacidade de escapar das respostas humorais e celulares dos hospedeiros. Sua estrutura diferenciada da membrana externa e arquitetura molecular é a responsável por esta característica. A membrana exterior possui baixa quantidade proteica, tornando-a pouco imunogênica. As proteínas que apresentam alto poder imunogênico, as lipoproteínas, se encontram na camada mais interna de sua estrutura, localizadas próximo à membrana citoplasmática (RADOLF, 1995).

A antigenicidade limitada de *T. pallidum* foi comprovada através de técnicas de microscopia imunoeletrônica e de imunoensaio que demonstraram que suas principais estruturas imunogênicas não estão expostas em sua superfície. Devido a esta estrutura celular diferenciada, o organismo não consegue produzir resposta imune suficiente para combater a infecção, além de dificultar a produção de vacinas eficazes (RADOLF, 1995).

Após infecção, a resposta imune do hospedeiro se desenvolve em poucas semanas e em torno da sexta semana consegue clarear quase totalmente a bactéria, criando imunidade contra o cancro formado na infecção primária, inclusive em casos de reinfecção. Um pequeno número de bactérias viáveis persiste de forma latente por anos (NORRIS, 1993).

Os antígenos mais importantes para a resposta imune dos hospedeiros parecem ser os proteolipídios presentes abaixo da bicamada fosfolipídica. Além disto, a bactéria pode adsorver proteínas do próprio hospedeiro, o que causa um atraso na resposta humoral (MATTEI *et al.*, 2012; SMITH *et al.*, 2008).

Os polipeptídios pertencentes ao *T. pallidum* foram identificados e padronizados utilizando uma nomenclatura que se baseia no prefixo TpN (*Treponema pallidum* Nichols), seguido logo após por sua massa molecular relativa (NORRIS, 1993).

Tabela 1 - Principais Polipeptídeos do *Treponema pallidum* envolvidos na Resposta Imune do Hospedeiro.

POLIPEPTÍDEO	PROPRIEDADES
TpN83	Proteína de ligação a fibronectina
TpN47	Principal proteína de membrana; altamente imunogênica; ativa células endoteliais.
TpN44.5a	Lipoproteína de membrana.
TpN38	Ainda não identificada; reativa com soro de pessoas com sífilis.
TpN37	Proteína do flagelo.
TpN35	Lipoproteína de membrana.
TpN34.5	Proteína do flagelo.
TpN33	Proteína de flagelo.
TpN30	Proteína do flagelo, relacionada com proteínas flagelares de outras bactérias.
TpN19	Proteína imunogênica.
TpN17	Principal lipoproteína de membrana.
TpN15	Lipoproteína; induz resposta de anticorpo durante infecção.

Fonte: (NORRIS, 1993)

Conforme SANDES, as primeiras respostas imunes detectadas na sífilis primária estão relacionadas à presença de anticorpos contra os polipeptídeos TpN47 e proteínas de

flagelo (TpN37, TpN33 e TpN30). Antes dos sintomas clínicos é possível detectar IgG anti-TpN47 e IgM anti-TpN83. Já na fase secundária, os principais anticorpos encontrados são contra TpN47, TpN44.5a, TpN37, TpN34.5, TpN33, TpN30, TpN17, e TpN15, com diminuição da reatividade durante as fases latente e tardia (SANDES, 2015).

Anticorpos contra o *T. pallidum* das classes IgG e IgM estão presentes nas fases ativas da doença com diminuição progressiva da IgM nas fases mais tardias e após tratamento. Em pessoas que nunca tiveram sífilis podem ser encontradas pequenas quantidades de anticorpos reativos contra o TpN47 e algumas proteínas do flagelo (TpB33 e TpN30) (SANDES, 2015).

1.2 Diagnóstico laboratorial

No decorrer da evolução da sífilis no organismo, ocorrem períodos que apresentam características clínicas, imunológicas e histopatológicas distintas (JANIER et al., 2014; OMS, 2015).

O diagnóstico laboratorial da sífilis está diretamente relacionado à fase da infecção, sendo divididos basicamente em duas categorias: exames diretos e exames indiretos (imunológicos ou sorológicos) (BRASIL, 2016).

O primeiro método de diagnóstico laboratorial para sífilis foi a reação de fixação de complemento de Wassermann, Neisser e Brück, descrito em 1907, com a qual foi detectada a taxa de 80% de positividade em 94 amostras estudadas. Os testes de VDRL e FTA-abs, que apresentavam maior especificidade para detecção de sífilis, foram descritos em 1946 e 1964, respectivamente. Os testes baseados em reações de quimioluminescência, com antígenos recombinantes de *T. pallidum*, foram desenvolvidos somente na década de 2000 (BRASIL, 2014).

A cronologia histórica do desenvolvimento dos testes para detecção de sífilis pode ser observada de forma resumida na figura 02.

Figura 2 - Ordem cronológica do desenvolvimento dos testes laboratoriais para detecção de sífilis.

FONTE: Diagnóstico da sífilis, Ministério da Saúde, Telelab 2014.

1.2.1 Exames diretos

Exame em campo escuro

A microscopia de campo escuro utilizada para a pesquisa de *T. pallidum* por pode ser realizada tanto nas lesões primárias como nas lesões secundárias da sífilis. A amostra utilizada é o exsudato seroso das lesões ativas, devendo ser livres de eritrócitos, de restos de tecido e de outros microrganismos. Apresenta sensibilidade que varia entre 74% e 86% e sua especificidade pode alcançar 97%, dependendo da experiência do técnico (LARSEN *et al.*, 1995; OMS, 2015).

Além de ser um teste de baixo custo, este método é considerado o mais eficiente para determinar o diagnóstico direto da sífilis. Porém, a microscopia de campo escuro não é recomendada para material proveniente de lesões orais, visto que a cavidade oral é frequentemente colonizada por outras espécies de espiroquetas, fato este que podem confundir o diagnóstico (OMS, 2015).

Pesquisa direta com material corado

Os métodos disponíveis para pesquisa direta de sífilis com materiais corados são: Método Fontana-Tribondeau (utiliza coloração a base de nitrato de prata, o qual impregna a parede celular do treponema, permitindo sua visualização ao microscópio); Método de Burri (utiliza tinta da China, nanquim); Método de coloração pelo Giemsa (cora o *T. pallidum* de maneira tênue, palidamente, sendo difícil a observação das espiroquetas) e Método de Levaduti (utiliza a prata para coloração de cortes histológicos). As técnicas de microscopia utilizando materiais corados apresentam sensibilidades inferiores à microscopia de campo escuro (BRASIL, 2016).

1.2.2 Exames indiretos (imunológicos ou sorológicos)

São testes que pesquisam a presença de anticorpos anti-treponêmicos nas amostras biológicas em questão. Existem dois tipos de testes imunológicos para sífilis: os não treponêmicos, que detectam a presença de anticorpos anticardiolipina (que não são específicos para os antígenos do *T. pallidum*) e os treponêmicos (que detectam anticorpos específicos para os antígenos presentes no *T. pallidum*) (BRASIL, 2016).

Testes não-treponêmicos

O VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*) é teste mais realizado no mundo para o diagnóstico e seguimento terapêutico da sífilis, devido sua execução e à propriedade de ser passível de titulação. Possui como antígeno a cardiolipina acrescida de colesterol e lecitina, sendo um método qualitativo e quantitativo. Sua sensibilidade é de 70% na sífilis primária, 99% a 100% na sífilis secundária e de 70% a 80% na terciária. Sua especificidade é de 98% para o diagnóstico da sífilis (OMS, 2008).

O teste de VDRL se torna positivo entre cinco e seis semanas após o início da infecção e entre duas e três semanas após o surgimento do cancro. A titulação é extremamente importante, pois permite o controle de tratamento e cura, através da comparação periódica dos títulos. Os títulos em geral são altos nas treponematoses (acima de 1/16), podendo ser superiores a 1/512. Os casos de falso negativos na sífilis secundária (1 a 2%) decorrem do excesso de anticorpos, denominado efeito pró-zona (AVELLEIRA e BOTTINO, 2006).

O RPR (*Rapid Plasma Reagin*) é uma variação do VDRL, com resultados semelhantes a este. No RPR, o soro do paciente reage com a cardioplipina contendo partículas de carbono em um cartão plástico. Este teste apresenta uma maior estabilidade do antígeno, possibilidade de uso de plasma e soro nas reações e aumenta a probabilidade de automação do método, sendo mais prático para uso em laboratório (LAFOND e LUKEHART, 2006).

A sensibilidade do teste oscila de acordo com o estágio da doença. A sensibilidade do RPR na fase primária é de 86%, sendo maior do que a do VDRL. Pode apresentar resultado falso positivo pela possibilidade de reação cruzada com anticorpos contra hepatites virais, artrite reumatoide ou lúpus eritematoso sistêmico. Em idosos também existe o risco de resultado falso positivo em função do aumento de auto-anticorpos. Nos Estados Unidos é utilizado como triagem devido ao baixo custo e simplicidade (LAFOND e LUKEHART, 2006).

O USR (*Unheated Serum Reagin*), o RST (*Reagin Screen Test*) e o TRUST (*Toluidine Red Unheated Serum Test*) são outros tipos de testes não treponêmicos que se baseiam em reações semelhantes ao VDRL e ao RPR, porém não são muito eficazes na sífilis terciária, conforme consta na tabela 2.

Tabela 2 - Sensibilidade dos testes não treponêmicos.

Teste	Sensibilidade (%) de acordo com o estágio da sífilis				Especificidade (%)
	Primária	Secundária	Latente	Terciária	
VDRL	78(74-87)	100	95(88-100)	71(37-97)	98(96-99)
RPR	86(77-100)	100	98(95-100)	73	98(93-99)
USR	80(72-88)	100	95(88-100)	-	99
RST	82(77-86)	100	95(88-100)	-	97
TRUST	85(77-86)	100	98(95-100)	-	99(98-99)

FONTE: Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília: M.S., 2010.

Os testes não treponêmicos são de baixo custo e possibilitam o monitoramento da resposta ao tratamento. Porém, possuem baixa sensibilidade na sífilis primária, na sífilis latente e na tardia. Podem também gerar resultados falso-positivos, devido à existência de outras enfermidades que causam degeneração celular. Os resultados falso-positivos podem ser

transitórios, quando a reatividade do teste persiste por até seis meses, ou permanentes, quando a reatividade do teste persiste por mais de seis meses (tabela 3). Os resultados falso-positivos, geralmente, apresentam títulos inferiores à 1:8, porém, vale ressaltar que o título da amostra não pode ser utilizado para definir os casos suspeitos de falso-positivos. As amostras com resultados falso-positivos que apresentam elevados títulos podem ocorrer, embora não seja muito comum, em indivíduos que utilizam drogas injetáveis, pessoas com hanseníase, nas colagenoses e em pessoas vivendo com HIV/AIDS (JANIER *et al.*, 2014; OMS, 2015).

Tabela 3 - Reações cruzadas dos testes não treponêmicos.

Situações que podem gerar resultados falso-positivos TRANSITÓRIOS	Situações que podem gerar resultados falso-positivos PERMANENTES
<ul style="list-style-type: none"> • Algumas infecções • Após vacinações • Uso concomitante de medicamentos • Após transfusões de hemoderivados • Gravidez • Em idosos 	<ul style="list-style-type: none"> • Portadores de lúpus eritematoso sistêmico • Síndrome antifosfolipídica e outras colagenoses • Hepatites virais crônicas • Usuários de drogas ilícitas injetáveis • Hanseníase • Malária • Idoso

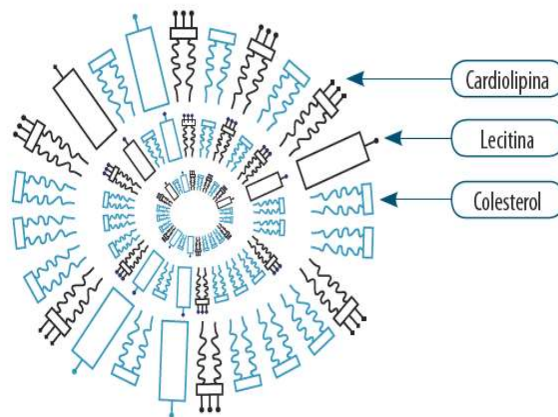
FONTE: Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

Os testes VDRL, RPR, USR, RST e TRUST são testes não treponêmicos que se usam como princípio reações de floculação. As reações de floculação baseiam-se em uma suspensão antigênica que contém cardiolipina, colesterol e lecitina. No preparo da suspensão antigênica, as ligações desses componentes ocorrem de maneira aleatória, resultando na formação de estruturas arredondadas denominadas de micelas (figura 2). Os anticorpos não treponêmicos presentes na amostra ligam-se às cardiolipinas das micelas (figura 3). Essa ligação é vista na forma de flocos ou grumos, grandes ou pequenos, que podem ser visualizados a olho nu em alguns testes e em outros com auxílio de microscópio (BRASIL, 2010).

O VDRL e o RPR são testes de execução rápida e simples, porém podem apresentar resultados errôneos, caso não seja seguida a padronização necessária para a execução destas metodologias. Geralmente, a padronização inerente à execução destes testes não é observada em muitos laboratórios, isto gera resultados divergentes quando uma mesma amostra é testada em diferentes locais. Outro fato que gera discordância de resultados é

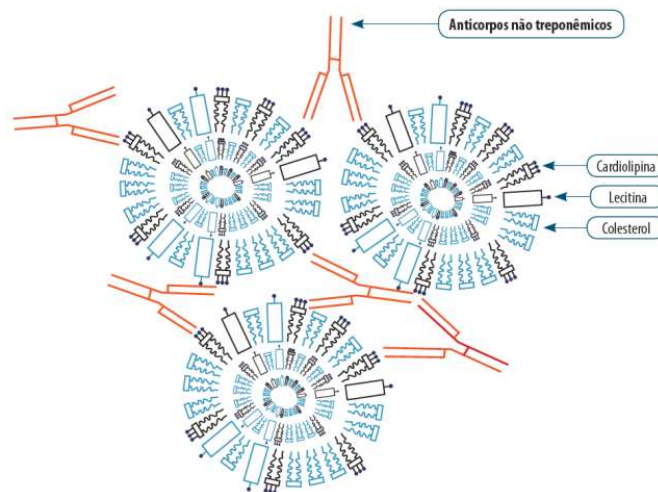
quando são usados testes não treponêmicos de procedência distinta na mesma amostra, reforçando então a importância do uso de testes treponêmicos confirmatórios de qualidade para identificar possíveis resultados falso-positivos (SANTOS *et al.*, 2007).

Figura 3 - Representação esquemática de uma micela, antígeno presente nos testes não treponêmicos.



FONTE: Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

Figura 4 - Representação esquemática da reação de floculação, na qual os anticorpos não treponêmicos presentes na amostra se ligam a várias micelas simultaneamente.



FONTE: Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

Testes treponêmicos

Os testes treponêmicos detectam a presença de anticorpos específicos para *T. pallidum* na amostra em análise. A sorologia reagente indica que houve uma infecção por *T. pallidum* em algum momento da vida, porém, não é capaz de distinguir uma infecção tratada de uma que não recebeu nenhum tratamento (CDC, 2008).

Os testes treponêmicos são os primeiros a apresentar resultado reagente após a infecção, sendo comuns na sífilis primária resultados reagentes em um teste treponêmico e não reagentes em um teste não treponêmico. Esses testes são úteis também nos casos em que os testes não treponêmicos apresentam pouca sensibilidade, como, por exemplo, na sífilis tardia (LARSEN et al., 1998).

Aproximadamente em 85% dos casos, os testes treponêmicos permanecem reagentes durante toda a vida nas pessoas que contraem sífilis, independentemente de tratamento (SCHROETER et al., 1972). Dessa forma, os testes treponêmicos não são úteis para o monitoramento da resposta a terapia (JANIER et al., 2014; OMS, 2015).

Existem vários tipos de testes treponêmicos atualmente no mercado, porém, devido à natureza deste trabalho, nos concentraremos nos testes treponêmicos que são mais utilizados nas rotinas dos serviços de hemoterapia do Brasil.

ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*)

É uma técnica baseada na interação antígeno-anticorpo cuja reação que pode ser mensurada através da atividade de uma enzima sobre um substrato específico. Conforme a atividade enzimática durante a execução do método podem ser classificados como homogêneos, onde a atividade da enzima é inibida pela presença do anticorpo na amostra, ou como heterogêneo, onde a atividade enzimática não é alterada pelo anticorpo presente, sendo necessário separar os anticorpos específicos que foram ligados a uma fase sólida através da

utilização de etapas de lavagens. O ELISA é um tipo de imunoensaio enzimático heterogêneo colorimétrico, onde é utilizado um cromógeno como substrato da enzima conjugada, originando produtos que podem ser detectados e mensurados através de espectrofotometria, podendo ser utilizados tanto para a pesquisa de antígenos como de anticorpos (BUENO, 2010).

Para triagem sorológica de sífilis, as amostras de soro são processadas em placas que contém pequenos poços recobertos com extratos antigênicos de *T. pallidum*. Para detecção de anticorpos do tipo IgM emprega-se o ELISA IgM com conjugado anti-IgM. O teste ELISA IgM apresenta uma maior sensibilidade e especificidade do que o teste FTA-Abs IgM, sendo mais apropriado para o diagnóstico de sífilis congênita precoce (FERREIRA e ÁVILA, 1996).

O teste ELISA é utilizado para detecção de anticorpos presentes nas fases precoces da sífilis. Apresenta uma sensibilidade de 94% na fase primária, 85% na secundária e 82% na latente precoce, com especificidade de 90%. O teste de captura de anticorpos tipo IgG na rotina laboratorial pode ser utilizado tanto para triagem como para teste confirmatório, porém, resultados falso positivos podem ocorrer devido a possibilidade de reação cruzada com espiroquetas comensais (LARSEN *et al.*, 1995).

O ELISA e suas variações, por possuírem características que permitem a automação do processo, são utilizados atualmente como testes de triagem em laboratórios ou em hemocentros que possuem grande rotina (BRASIL, 2010).

Teste imunoenzimático com revelação quimioluminescente

Os testes de quimioluminescência com antígenos recombinantes específicos para detecção de *T. pallidum* foram desenvolvidos no início da década de 2000 (BRASIL, 2010).

O processo de quimioluminescência baseia-se nas reações químicas com moléculas que, quando passam de um estado de excitação para um estado eletrônico basal, emitem luz. Nesta técnica, a detecção da reação antígeno-anticorpo é realizada através de uma enzima que

tem como substrato uma molécula, ou mistura de moléculas emissoras de luz. Esse tipo de teste é mais sensível que o ELISA (SANCHEZ, 2001; BUENO e VAZ, 2010).

A quimiluminescência é um teste laboratorial imunoenzimático que utiliza bases imunoquímicas para detectar ou quantificar uma substância específica, em uma amostra de sangue ou em hemoderivados. Os testes imunoenzimáticos apresentam alta sensibilidade e especificidade. Sua especificidade vem da utilização de anticorpos e de antígenos purificados como reagentes, assim podendo detectar e mensurar a formação de complexos antígeno-anticorpos através de uma reação química (WILD, 2000).

Os testes imunoenzimáticos e suas variações, dentre eles o método de quimioluminescência, utilizam antígenos recombinantes de *T. pallidum* fixados em uma fase sólida. Para revelação da reação utilizam um marcador baseado na dissociação de ligações químicas fracas que é excitável pela luz para emissão de fluorescência. As emissões de fluorescência são aferidas por um fotomultiplicador de luz. Esses antígenos se ligarão os anticorpos presentes na amostra do usuário. A execução do teste é totalmente automatizada e necessita de equipamentos específicos (BRASIL, 2000).

Os testes imunoenzimáticos representam um grande avanço no rastreamento sorológico da sífilis nos últimos anos, pois apresentam elevada sensibilidade e especificidade, sendo de fácil execução, possibilitam a redução dos custos e eliminam a subjetividade inerente ao observador devido ao processo automatizado (CRUZ *et al.*, 2011).

Testes não treponêmicos podem apresentar-se não reativos no início da infecção sífilítica e em estágios mais avançados da doença. Já os testes treponêmicos apresentam-se reagentes nos estágios iniciais e podem permanecer reativos durante toda a vida, mesmo após um tratamento bem sucedido (CDC, 2011).

Teste de anticorpos treponêmicos fluorescentes com absorção (FTA-Abs)

O FTA-Abs é o primeiro teste a apresentar resultado reagente após a infecção pelo *T. pallidum*. Para sua realização é necessário a utilização de um microscópio de fluorescência, de reagentes com boa qualidade e de profissionais capacitados em microscopia de

fluorescência. É considerado um teste com boa especificidade, devido à absorção ou bloqueio de anticorpos não específicos, pela utilização de treponemas saprófitos (treponema de Reiter), que eventualmente possam estar presentes no soro (SAEZ-ALQUEZAR, 2007).

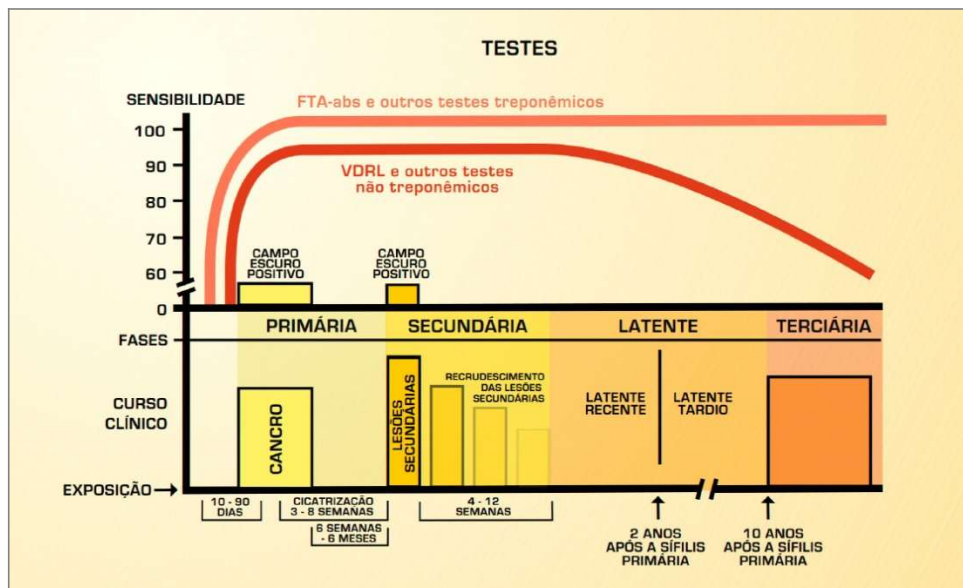
O método é realizado em lâminas nas quais são fixados antígenos do *T. pallidum* (cepa *Nichols*), extraídos do tecido testicular de coelhos infectados. As lâminas podem ser obtidas comercialmente ou preparadas no laboratório próprio. O teste também utiliza imunoglobulina anti-humana (antigamaglobulina) marcada com isotiocianato de fluoresceína (FITC, do inglês fluorescein isothiocyanate). Se a amostra possuir anticorpos *anti-T. pallidum*, eles se ligarão aos antígenos fixados na lâmina, formando um complexo antígeno-anticorpo. Em seguida, a anti-gamaglobulina marcada com FITC se liga ao complexo antígeno-anticorpo. Ao ocorrer à reação, os treponemas podem ser visualizados ao microscópio, apresentando cor verde brilhante (BRASIL, 2016).

A presença de anticorpos anti-treponemas é evidenciada pela emissão de fluorescência dos treponemas marcados. Na sífilis secundária e na sífilis latente recente a sensibilidade e a especificidade são comparáveis aos demais testes sorológicos (treponêmicos ou não treponêmicos), alcançando reatividade em 99% a 100% dos casos (AZEVEDO et al, 2006).

A positividade no FTA-Abs pode permanecer durante toda a vida do paciente, mesmo após o término do tratamento, devido a presença de anticorpos de memória do tipo IgG, razão pela qual este exame se torna inadequado para avaliação da eficácia do tratamento para sífilis (AZEVEDO et al, 2006).

De forma consolidada, podemos observar a relação entre os testes diagnósticos para sífilis e as fases de desenvolvimento da patologia na figura 03.

Figura 5 - Relação entre os testes para diagnóstico da Sífilis, as fases da doença, o curso clínico da infecção e o tempo.



FONTE: Diagnóstico da sífilis, Ministério da Saúde, Telelab 2014.

1.3 Efeito prozona

O efeito prozona é a ausência de reatividade em uma amostra que, embora contenha anticorpos não treponêmicos, quando testada sem diluir, ou mesmo em baixas diluições, apresenta um resultado não reagente durante o teste. Esse fenômeno decorre da relação desproporcional entre quantidade dos antígenos e dos anticorpos presentes na reação não treponêmica, gerando resultados falso-negativos (BRASIL, 2010).

Nos testes não treponêmicos, especialmente na sífilis secundária, quando há grande produção de anticorpos, podem ocorrer resultados falso-negativos em decorrência do fenômeno de prozona. Por esse motivo, é fundamental que ao se realizar qualquer teste qualitativo não treponêmico, a amostra sempre seja testada pura e na diluição 1:8 (BRASIL, 2016).

O fenômeno de prozona não ocorre nos testes treponêmicos (LARSEN et al., 1995; BRASIL, 2014).

1.4 Cicatriz sorológica

Cicatriz sorológica é o termo utilizado para as situações nas quais o indivíduo, comprovadamente tratado, ainda apresenta reatividade nos testes treponêmicos e não treponêmicos. Nestes casos, os testes treponêmicos são geralmente reagentes e os testes não treponêmicos quantitativos apresentam baixos títulos de anticorpos presentes nas amostras. Porém, é um erro considerar títulos baixos nos testes não treponêmicos apenas como cicatriz sorológica ou como uma reação falsamente positiva. A presença de baixos títulos de anticorpos nos testes não treponêmicos também são encontrados na sífilis primária, quando os anticorpos estão circulando em baixas concentrações, e na sífilis latente não tratada. Só é possível determinar que seja realmente de uma cicatriz sorológica quando for comprovado que o usuário teve sífilis e realizou tratamento corretamente (BRASIL, 2010).

1.5 Vantagens e desvantagens dos testes treponêmicos e não-treponêmicos

Como inerente a todo método diagnóstico, os testes treponêmicos e os não treponêmicos também apresentam vantagens e desvantagens inerentes a sua execução.

O baixo custo, a rapidez na realização, a capacidade de detectar uma situação de reinfecção e o monitoramento do curso da doença através da determinação dos títulos de anticorpos na reação, são fatores positivos em favor dos testes treponêmicos. Já como pontos negativos, podemos citar a sua baixa sensibilidade para sífilis primária e latente, a alta incidência de falsos positivos devido a reações cruzadas e a existência de falsos negativos devido ao fenômeno de prozona. Outro ponto desfavorável é que estes testes são realizados manualmente, fato que, em rotinas com grande volume de amostras, demanda mais tempo e requer maior custo com pessoal capacitado, pois devido à leitura em placas fica sujeito a subjetividade de interpretação do profissional (JINDAL e BANSAL, 2012.; SEÑA *et al.*, 2010).

Em relação aos testes treponêmicos as principais vantagens mais relatadas na literatura dizem respeito a sua capacidade de automação do procedimento analítico e a geração de resultados com maior clareza e objetividade. Outro ponto importante é que estas características viabilizam o interfaceamento dos resultados direto do equipamento para os

softwares do laboratório, diminuído o tempo de execução e aumentando a segurança do processo. Como pontos negativos, dos testes treponêmicos, podemos citar a característica de não ter a capacidade de diferenciar entre sífilis tratada e não tratada e a ocorrência de falsos positivos, em especial em populações de baixa prevalência da doença (KAUR e KAUR, 2015.; MO *et al.*, 2010).

1.6 Situação epidemiológica da sífilis na atualidade

A Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que, mundialmente, ocorra mais de um milhão de casos de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST) por dia. Anualmente, estima-se cerca de 357 milhões de novas infecções, entre clamídia, gonorreia, sífilis e tricomoníase (BRASIL, 2017).

A sífilis afeta um milhão de gestantes por ano em todo o mundo, causando mais de 300 mil mortes fetais e neonatais e colocando em risco de morte prematura mais de 200 mil crianças. Estima-se que na América Latina e Caribe nasçam anualmente entre 166 e 344 mil crianças com sífilis (BRASIL, 2017).

As notificações compulsórias de sífilis em todo território nacional foram instituídas através de portarias ministeriais, sendo a de sífilis congênita pela Portaria nº 542 (de 22 de dezembro de 1986), a de sífilis em gestantes pela a Portaria nº 33 (de 14 de julho de 2005) e a de sífilis adquirida através da Portaria nº 2.472 (de 31 de agosto de 2010). Atualmente, a portaria vigente que define a Lista Nacional de Notificação Compulsória de doenças, agravos e eventos de saúde pública nos serviços de saúde públicos e privados em todo o território nacional e dá outras providências é a Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017.

O Brasil vive atualmente um período de aumento considerável dos casos de sífilis nos últimos anos. Em 2018, foram notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) 158.051 casos de sífilis adquirida (taxa de detecção de 75,8 casos/100.000 habitantes); 62.599 casos de sífilis em gestantes (taxa de detecção de 21,4/1.000 nascidos vivos); 26.219 casos de sífilis congênita (taxa de incidência de 9,0/1.000 nascidos vivos); e

241 óbitos por sífilis congênita (taxa de mortalidade de 8,2/100.000 nascidos vivos) (BRASIL, 2019).

Entre os anos de 2010 a 2018 observou-se uma evolução das taxas de sífilis no Brasil. Nesse período, a taxa de incidência de sífilis congênita aumentou 3,8 vezes, passando de 2,4 para 9,0 casos por mil nascidos vivos. No mesmo período a taxa de detecção de sífilis em gestantes aumentou 6,1 vezes, passando de 3,5 para 21,4 casos por mil nascidos vivos (BRASIL, 2019).

Já a sífilis adquirida, que se tornou um agravo de notificação compulsória a partir do ano de 2010, teve sua taxa de detecção aumentada de 34,1 casos/100.000 habitantes, em 2015, para 75,8 casos/100.000 habitantes, em 2018 (BRASIL, 2019).

Entre os anos de 2017 e 2018, verificou-se o crescimento das taxas de detecção de sífilis adquirida em todo território nacional. De forma geral, no Brasil o aumento foi de 28,3% dos casos sífilis adquiridas (de 59,1 para 75,8 casos/100.000 hab.). Os dados regionais são os seguintes: Região Norte, incremento de 59,3% (de 34,1 para 54,4 casos/100.000 hab.), Região Nordeste, incremento de 71,1% (de 27,4 para 46,9 casos/100.000 hab.), Região Sudeste, incremento de 12,2% (de 73,0 para 81,9 casos/100.000 hab.), Região Sul, incremento de 24,9% (de 99,1 para 123,7 casos/100.000 hab.) e Região Centro-Oeste, incremento de 58,9% (de 50,3 para 79,9 casos/100.000 hab (BRASIL, 2019).

Em relação à faixa etária, no ano de 2018, a maior parte das notificações de sífilis adquirida ocorreu em indivíduos entre 20 e 29 anos (35,1%), seguidos por aqueles na faixa entre 30 e 39 anos de idade (21,5%) (BRASIL, 2019).

1.7 Triagem para detecção de sífilis em serviços de hemoterapia

É fundamental para um doador receber a informação correta sobre os riscos de transmissão de doenças. Nas últimas três décadas, foram notáveis os avanços na segurança transfusional. Devido às ações de prevenção, o risco de adquirir uma doença transmitida por meio de transfusão de sangue vem sendo reduzido significativamente (BRASIL, 2004).

Minimizar a possibilidade de transmissão de doenças pela transfusão requer ações que possam garantir a segurança do sangue transfundido (CARRAZZONE *et al.*,2004).

A possibilidade de existir a presença de uma viremia, bacteremia ou parasitemia e sua respectiva transmissibilidade por sangue, com consequências clínicas comprovadas para o receptor, constituem-se em obrigatoriedade de investigação na triagem sorológica de doadores de sangue (JULLIEN *et al.*,1988).

A segurança transfusional depende de alguns fatores que, em conjunto, vão determinar a qualidade dos hemocomponentes a serem transfundidos. Dentre eles podemos destacar a seleção da população de doadores pela triagem clínica, realização dos testes imunohematológicos, triagem sorológica e o uso racional dos hemocomponentes. A triagem sorológica, empregada para evitar a transmissão de agentes infecciosos, apresenta um significado estratégico especial, no sentido de poder validar ou não a utilização dos hemocomponentes a serem utilizados nos procedimentos hemoterápicos (SAEZ-ALQUEZAR, 2007a).

A implementação de critérios mais rígidos na seleção do doador, o desenvolvimento de testes cada vez mais sensíveis e altos padrões de qualidade estão sendo estabelecidos (JULLIEN *et al.*, 1988; PROETTI e CIOFFI, 2008).

A sensibilidade é exigida nos testes de triagem sorológica para aumentar a segurança. Todavia, testes com baixa especificidade ocasionam falso-positivos, gerando transtornos aos doadores, descarte das bolsas e desperdício de sangue (CARRAZZONE *et al.*,2004).

Fatores como o perfil epidemiológico da população na qual se faz a captação dos candidatos à doação, a seleção criteriosa na triagem clínica e hematológica, a triagem sorológica de infecções/doenças transmitidas pelo sangue são imprescindíveis para garantir a segurança das transfusões (BRASIL, 2004).

A triagem clínica consiste na avaliação da história clínica e epidemiológica, do estado atual de saúde, dos hábitos e comportamentos do candidato à doação para determinar

sua aptidão para doar sangue sem que haja prejuízo à saúde do doador e do potencial receptor (BRASIL, 2015).

A triagem clínica é uma das etapas principais, consistindo na avaliação da história clínica e epidemiológica do doador, de seu estado atual de saúde, seus hábitos e comportamentos cotidianos, para determinar se ele está em condições de doar sangue, sem que haja prejuízos à sua saúde ou do receptor (BRASIL, 2001).

Após a fase de triagem clínica dos doadores suas respectivas doações de sangue são submetidas a exames laboratoriais para detecção de doenças passíveis de transmissão sanguínea. Entretanto, existe um período de tempo, compreendido entre o momento em que a pessoa se contamina e o momento em que um teste detectará a infecção, denominado “janela do teste” ou “janela imunológica”. Durante esse período, mesmo com o resultado do teste sendo não reagente para os parâmetros analisados, a transfusão daquele sangue poderá levar à contaminação do receptor. Por essa razão, além de testes laboratoriais de alta sensibilidade, é obrigatória a aplicação de um questionário para excluir da doação naquele momento, ou de maneira definitiva (BRASIL, 2015).

São preconizados testes para infecções transmissíveis pelo sangue com o intuito de reduzir os riscos de transmissão de doenças. A etapa de triagem laboratorial consiste na realização de testes sorológicos para detecção de anticorpos para os agentes infecciosos causadores da doença de Chagas, Sífilis, HIV, HTLV I/II, hepatite B (HBV) e hepatite C (HCV) (BRASIL, 2016).

Historicamente, a transmissão de sífilis por transfusões sanguíneas é reconhecida, embora seja considerada rara (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2007).

Nos dias atuais, o risco de transmissão da sífilis através de transfusões sanguíneas é baixo devido à realização de procedimentos mais rigorosos como relação à seleção de doadores, a aplicação de testes sorológicos de triagem nas doações e a transfusão de hemocomponentes refrigerados e estocados, visto à incapacidade de a bactéria sobreviver por mais que 48 horas nessas condições (GARDELLA *et al.*, 2002).

Uma das limitações dos testes para sífilis é que durante a espiroquetemia. Os testes sorológicos ainda são não reativos limitando sua utilidade na prevenção de transmissão transfusional de sífilis (CARNEIRO-PROIETTI *et al.*, 2007; KATZ, 2009).

Existe uma corrente que considera desnecessária a triagem sorológica para sífilis em serviços hemoterápicos. Eles alegam que, pelo fato do *T. pallidum* não sobreviver além de 72h em bolsas estocadas entre 4°C e 8°C a triagem sorológica para sífilis não seria necessária. Além disso, alegam também que a justificativa de inaptar doadores com sorologia reativa para sífilis visando garantir maior segurança contra o risco residual de transmissão do HIV, não foi comprovada em dados mais recentes que mostram que a triagem para sífilis não tem valor como marcador indireto para HCV, HBV ou HTLV, podendo prevenir apenas um caso de janela imunológica de HIV para cada 148 milhões de doações (CHAMONE, 2001; ZOU *et al.*, 2009).

A favor da realização dos testes de triagem sorológica para sífilis há de se levar em consideração que nem todos os hemocomponentes permanecem refrigerados por pelo menos 72 horas, principalmente serviços hemoterápicos com poucas doações e com estoques baixos. Outro ponto é que o concentrado de plaquetas fica armazenado a temperatura ambiente, aumentando assim o risco de viabilidade da espiroqueta (CARNEIROPROIETTI *et al.*, 2007).

Outro argumento importante é levar em consideração o papel dos serviços hemoterápicos na saúde pública, pois o doador se beneficia da chance de diagnóstico e encaminhamento para tratamento de uma doença que talvez só fosse descoberta mais tardiamente, evitando suas complicações e transmissão para mais pessoas (KATZ, 2009).

1.8 Breve análise da legislação nacional sobre serviços de hemoterapia

Desde meados dos anos 50 que a triagem sorológica para sífilis, em doadores de sangue, vem sendo realizada. Na maioria dos países, as recomendações oficiais não especificam qual tipo de teste sorológico deve ser utilizado para esta finalidade (SAEZ-ALQUEZAR, 2007a).

Em 1988, com a promulgação da Lei Nº 7.649 (25 de janeiro de 1988), que regulamentou a triagem sorológica em doadores de sangue no Brasil, a qual estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue, bem como critérios para a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, objetivando a prevenção contra a propagação de doenças através das transfusões de hemocomponentes.

Em 2001, através da Lei Nº 10.205 (21 de março de 2001), foi regulamentado o § 4º do art. 199 da Constituição Federal, relativo à coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados, estabelece o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades.

No mesmo ano, através do Decreto nº 3.990, datado de 30 de outubro de 2001, foi regulamentado o art. 26 da Lei no 10.205, o qual dispôs sobre a coleta, processamento, estocagem, distribuição e aplicação do sangue, seus componentes e derivados, e estabelecendo o ordenamento institucional indispensável à execução adequada dessas atividades.

Em 2004, a resolução RDC nº 153, data de 14 de junho de 2004, do Ministério da Saúde, dispôs que todas as bolsas de sangue coletadas devem ser obrigatoriamente, submetidas aos testes para detectar as seguintes infecções: Sífilis, Hepatites B e C, Doença de Chagas, HIV (tipos 1 e 2), HTLV I e II e Malária (sendo este último parâmetro só nas áreas endêmicas para a doença).

Atualmente os processos referentes a serviços de hemoterapia, em todo o território nacional, são orientados pela Portaria de Consolidação nº 5, datada de 28 de setembro de 2017, a qual objetiva a consolidação das normas sobre as ações e os serviços de saúde do Sistema Único de Saúde no Brasil.

Dentre os assuntos discorridos na referida portaria, vale ressaltar os seguintes pontos:

A introdução de novas técnicas no serviço de hemoterapia será precedida de avaliação e validação dos procedimentos para assegurar os critérios de qualidade (PRT MS/GM 158/2016, Art. 18, § 6º).

Os exames serão realizados em laboratórios específicos para triagem laboratorial de doadores de sangue, com conjuntos diagnósticos (kits) próprios para esta finalidade, registrados na ANVISA (Origem: PRT MS/GM 158/2016, Art. 130, § 2º).

O teste para sífilis será por intermédio da detecção de anticorpo anti-treponêmico ou não-treponêmico (Origem: PRT MS/GM 158/2016, Art. 130, § 11).

1.9 Centro de hematologia e hemoterapia do Ceará (HEMOCE)

O Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará foi criado em 1979 e iniciou suas atividades no ano de 1983, situado na cidade de Fortaleza e fazendo parte da estrutura de rede da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará.

Desde sua concepção, tem por finalidade básica planejar e executar toda a política de sangue na rede pública do Ceará, sendo seu objetivo primordial a atuação e a cobertura em Hemoterapia e Hematologia em todo o território estadual.

Sua missão é de promover a política estadual do sangue e atuar com excelência e inovação em hemoterapia, hematologia e transplantes, como suporte ao sistema de saúde.

Tem como visão de consolidar-se como rede autossustentável e de referência internacional na atenção, geração de conhecimento e soluções na área do sangue e transplantes.

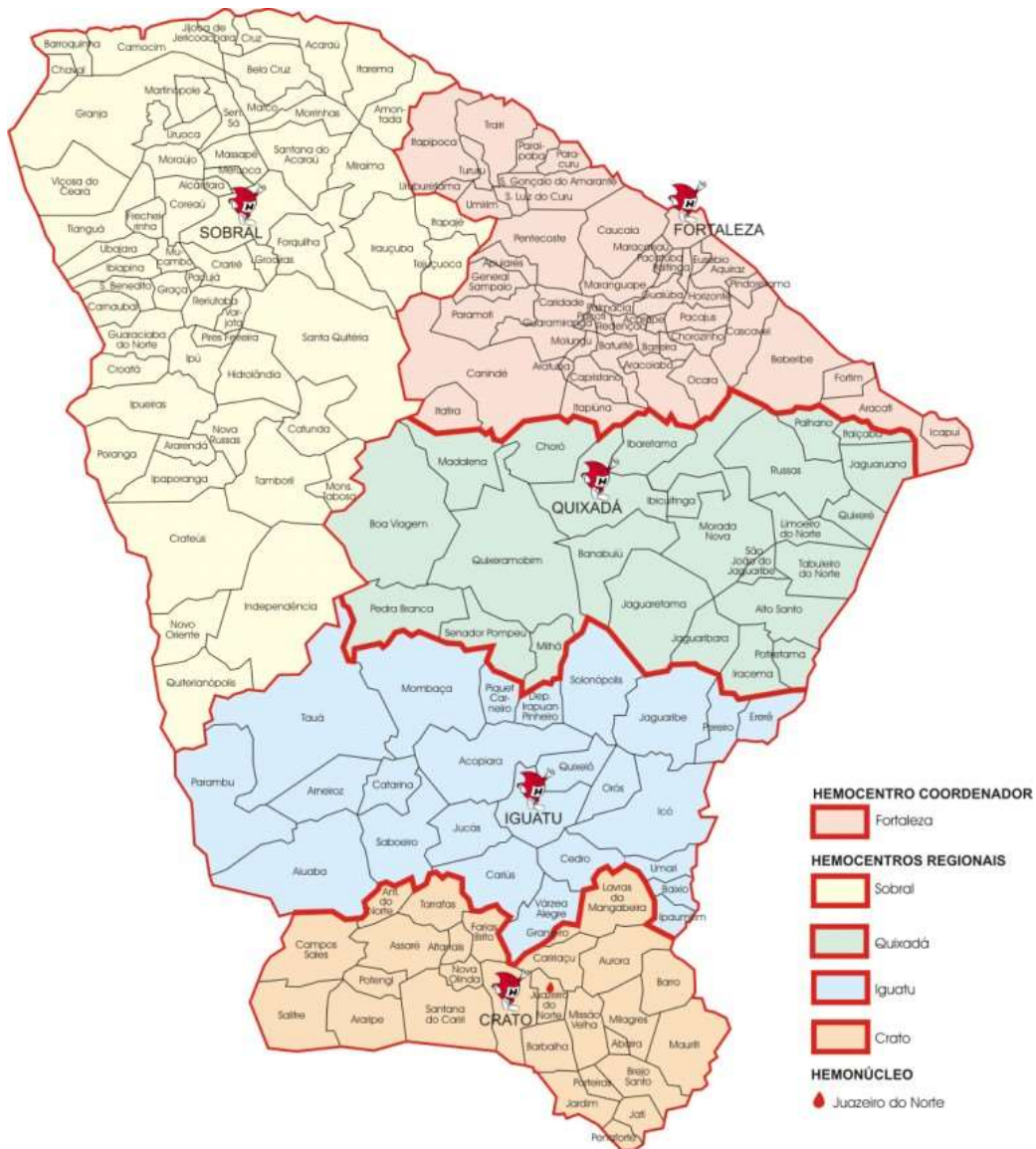
Sua política de qualidade é ter o compromisso de gerar produtos e serviços na área do sangue e transplante confiáveis e seguros, buscando melhoria contínua dos processos, com sustentabilidade, inovação, desenvolvimento profissional e geração de conhecimento para alcançar a satisfação das partes interessadas.

Seus principais valores pressupõem também o conjunto de regras a serem cumpridas para que obtenha os resultados positivos esperados pela organização, seus clientes

e parceiros. Solidariedade, ética, responsabilidade, humanização, excelência, modernização, organização, confiança e empatia fazem o conjunto de valores que guiam o Hemoce em suas ações e desafios.

A Hemorrede do Ceará está estruturada e organizada para atender a população cearense em todo o território estadual. A regionalização dos serviços possibilita o atendimento descentralizado aos 184 municípios do Estado. Sua estrutura funcional foi ampliada através das inaugurações dos Hemocentros Regionais, sendo eles: o de Sobral (1991), do Crato (1991), Iguatu (1993) e Quixadá (2004) (figura 4). O hemonúcleo de Juazeiro do Norte, vinculado ao hemocentro do Crato, foi criado em 1998.

Figura 6 - Mapa representativo da Hemorrede do Ceará denotando os cinco Hemocentros do Estado, tendo Fortaleza como Hemocentro Coordenador.



FONTE: Site oficial do HEMOCE; www.hemoce.ce.gov.br.

1.9.1 Triagem sorológica para sífilis

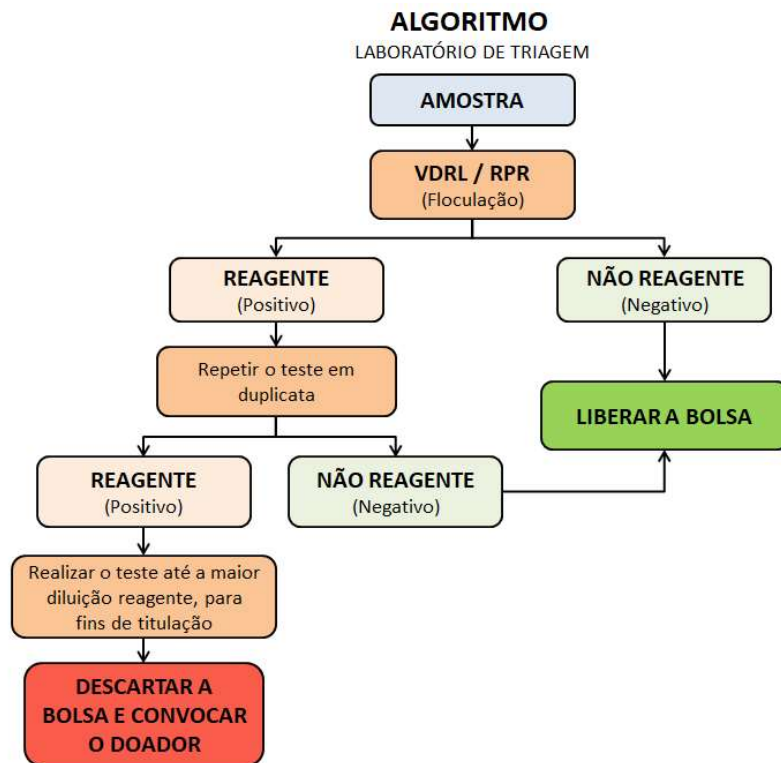
O Hemoce recebe mensalmente cerca de 10 mil amostras de sangue coletadas de doadores provenientes das cinco grandes regiões do Estado do Ceará. A realização dos testes sorológicos é centralizada em sua sede, a qual fica localizada em Fortaleza, sendo o setor de sorologia responsável pela testagem de todas as amostras e liberação dos respectivos resultados, com qualidade e em tempo hábil.

O método predominante utilizado na central de triagem sorológica é o de quimioluminescência, o qual se aplicava para avaliação dos parâmetros HIV, HCV, HBV, HTLV I e II e CHAGAS. O único parâmetro que não se aplicava esta metodologia era o de SIFÍLIS, que utilizava o VDRL/RPR, método não treponêmico, para análise das amostras.

Nos últimos anos a sífilis é a patologia com maior impacto nos percentuais mensais de soropositividade, na fase de triagem, em relação aos demais parâmetros de testagem sorológica obrigatória na central de sorologia do HEMOCE.

O processo para análise e liberação dos testes relativos ao parâmetro de sífilis, através do VDRL/RPR, seguia um protocolo padronizado, conforme descrito na figura 5.

Figura 7 - Fluxograma para triagem sorológica para sífilis com utilização de um método não treponêmico (VDRL/RPR).



FONTE: Laboratório de Sorologia do HEMOCE

Como descrito algoritmo 01, as amostras de soro, coletadas das doações para análise laboratorial eram submetidas ao teste não treponêmico VDRL/RPR. Quando apresentavam resultados não reagentes as amostras eram concluídas como negativas e as

respectivas bolsas liberadas para o parâmetro sífilis. Quando a análise apresentava um resultado reagente, à amostra em questão era submetida novamente ao teste VDRL/RPR, em duplicata. Caso apresentasse um resultado negativo nas duas retestagens a amostra era concluída como negativa e a respectiva bolsa liberada para o parâmetro sífilis. Caso o resultado continuasse reagente, em uma ou nas duas repetições, a bolsa era descartada e o doador convocado para coletar nova amostra com o objetivo não mais de doação e sim para diagnóstico de infecção por sífilis.

É importante salientar que os testes de triagem sorológica, nos serviços de hemoterapia, não tem como objetivo primordial o diagnóstico de doenças infectocontagiosas nos doadores e sim de garantir hemocomponentes com o máximo de isenção de contaminantes para posterior transfusão, por isso utilizando testes com alta sensibilidade de detecção para triagem.

Os testes de VDRL/RPR eram feitos manualmente em placas de Kline e lidas individualmente em microscópio ótico. Considerando a alta demanda de doações recebidas no hemocentro, à quantidade de diluições seriadas, por amostra, necessárias para conclusão de um resultado, a subjetividade da interpretação do resultado pelo profissional e a alimentação manual dos todos os resultados da rotina no sistema informatizado, tem-se então a noção de como o processo de utilização do teste de VDRL/RPR, em rotina de serviços de hemoterapia, é demorado e exige pessoal com alto grau de treinamento para execução de todos os procedimentos com qualidade e sem erros.

Objetivando a automação de todos os testes sorológicos realizados pelo setor de sorologia e garantir cada vez mais hemocomponentes confiáveis e seguros, com excelente qualidade, iniciou-se então o processo de implantação de teste treponêmico, para realização dos testes de sífilis, neste hemocentro.

Trata-se da metodologia de quimioluminescência (eletroquimioluminescência), a qual já estava disponível no mercado e sendo utilizada em diversos serviços de hemoterapia, substituindo a tradicional metodologia de floculação (VDRL/RPR), que estava em uso há vários anos neste setor.

A escolha da nova metodologia em questão é uma tendência mundial nos laboratórios de banco de sangue. Sua implantação buscou proporcionar, ao laboratório de sorologia do HEMOCE, mais um salto tecnológico, ou seja, imunoenaios 100% automatizados, bem como sua importância analítica, por apresentar altíssima sensibilidade, superior à dos testes não treponêmicos, na fase inicial da doença.

Além de aumentar a segurança técnica, garantindo cada vez mais um sangue transfusional de excelência, aprimoram-se as condições de trabalho dos profissionais, visto que os benefícios e vantagens desta nova metodologia são indispensáveis devido a otimização do processo analítico e aumento da qualidade dos resultados.

Dentre os benefícios vislumbrados por esta implantação, podemos citar: a maior sensibilidade, exatidão e precisão nos testes; o menor tempo para liberação dos resultados sorológicos; a redução dos custos com pessoal, reagentes e manutenções; a maior facilidade para treinamento, padronização de processos e maior eficiência no uso de recursos humanos; a redução de repetições, por ser uma tecnologia mais exata e precisa; e, por último e não menos importante, a clara diferenciação entre resultados positivos e negativos, devido a não subjetividade de interpretação dos resultados como era inerente as leituras das lâminas do VDRL/RPR.

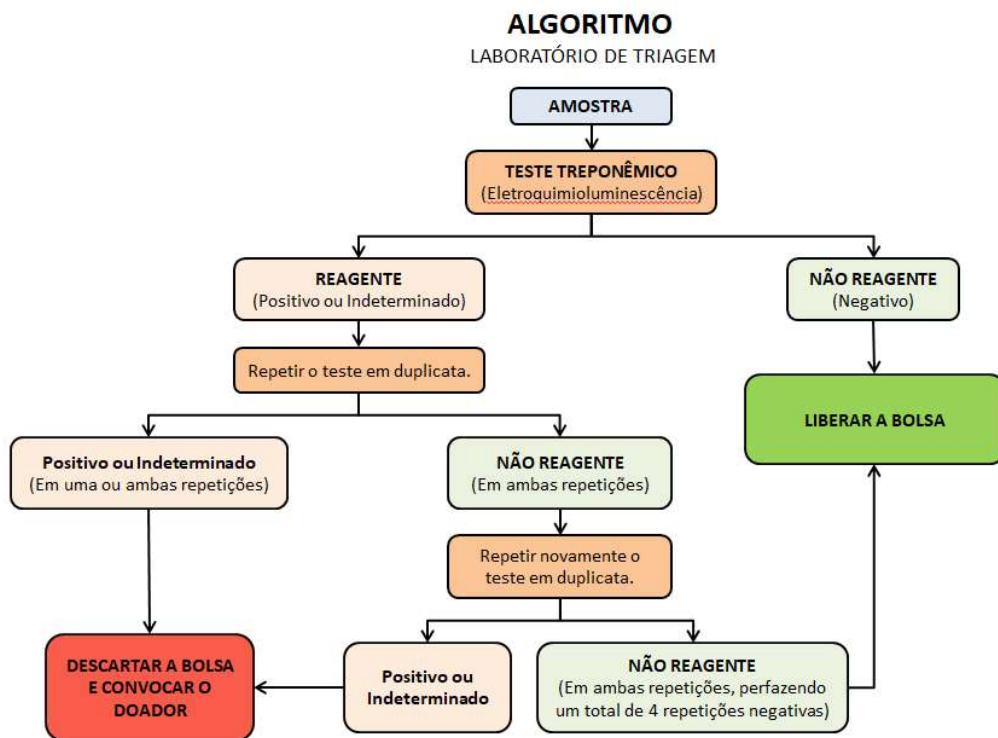
No final do mês de outubro de 2019, a testagem das amostras por VDRL/RPR no setor de sorologia do Hemoce foi substituída pelo método de quimioluminescência.

O processo de análise e liberação do parâmetro sífilis passou a ser definido conforme o fluxograma descrito na figura 6.

Conforme o algoritmo de triagem sorológica para sífilis em uso atualmente no setor de sorologia (algoritmo 2), as amostras de soro coletada dos doadores são submetidas a um teste treponêmico automatizado (quimioluminescência), que apresentam resultados interfaceados diretamente do equipamento de análise para os sistemas informatizados do setor. Quando o resultado obtido é não reagente a amostra é concluída como negativa e a respectiva bolsa liberada para o parâmetro sífilis. Quando a análise apresenta um resultado reagente, neste caso podendo ser positiva ou indeterminada (de acordo com o cut off de

referência), a amostra é repetida em duplicata. Caso persista o resultado reagente (positivo ou indeterminado) a amostra é concluída como positiva ou indeterminada e a respectiva bolsa é descartada, sendo então o doador convocado para iniciar o processo de diagnóstico. Caso a amostra apresente um resultado não reagente (em ambas as repetições) ela é novamente submetida a mais duas repetições, persistindo então os resultados não reagentes (perfazendo um total de quatro repetições seguidas negativas) a amostra é concluída como negativa e a respectiva bolsa liberada para o parâmetro sífilis.

Figura 8 - Fluxograma para triagem sorológica para sífilis com utilização do método reverso, utilizando um método treponêmico (eletroquimioluminescência).



FONTE: Laboratório de Sorologia do HEMOCE.

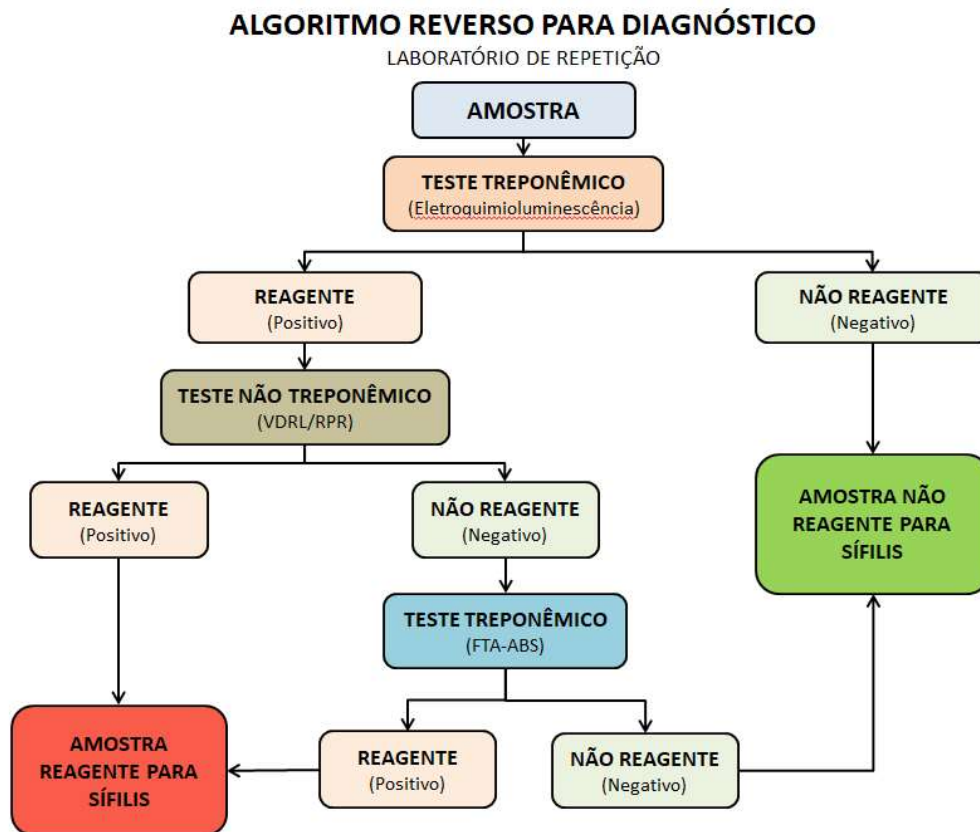
Devido ao processo de automação, todas estas repetições são processadas no mesmo dia, otimizando consideravelmente o processo de análise e liberação dos resultados, com rapidez, qualidade e objetividade.

O processo de triagem sorológica para doação de hemocomponentes conclui-se com o descarte ou liberação das bolsas após a aplicação do algoritmo 02, porém o Hemoce, através do setor de hemovigilância, notifica e convoca todos os doadores que apresentaram

alterações em seus exames de triagem para que possam retornar ao hemocentro e fazer exames com o intuito de diagnóstico, sendo eles encaminhados para o setor de repetição de exames de doadores.

Para diagnóstico de sífilis é utilizado atualmente o algoritmo de diagnóstico reverso sugerido pelo Ministério da Saúde, o qual é indicado para serviços que processam diariamente grande quantidade de amostras de forma automatizada e que necessitam de liberação rápida dos resultados. O fluxo de procedimentos pode ser visualizado na figura 7.

Figura 9 – Fluxograma para realização do diagnóstico laboratorial reverso de sífilis baseado em testes imunológicos automatizados.



FONTE: Laboratório de Sorologia do HEMOCE.

O fluxograma adotado consiste basicamente em uma abordagem reversa a convencional para diagnóstico de sífilis através de testes imunológicos, onde se realiza inicialmente um teste treponêmico (quimioluminescência), seguido por um teste não treponêmico (VDRL/RPR) para a confirmação do diagnóstico.

Caso o teste não treponêmico (VDRL/RPR) seja não reagente, utiliza-se um terceiro teste treponêmico com metodologia diferente do primeiro teste realizado, no caso do Hemoce utiliza-se o teste FTA-Abs.

São consideradas como “NÃO REAGENTE PARA SÍFILIS” as amostras que forem não reagentes ao primeiro teste treponêmico (quimioluminescência) e as que se apresentarem reagentes ao teste inicial (treponêmico) e não reagentes aos dois testes subsequentes (não treponêmico e treponêmico com metodologia diferente do primeiro).

As amostras serão consideradas “REAGENTES PARA SÍFILIS” as que apresentem resultados reagentes nos dois testes (treponêmico e não treponêmico) bem como as amostras que sejam reagentes nos dois testes treponêmicos (quimioluminescência e FTA-Abs) e não reagente no teste não treponêmico (VDRL/RPR).

Quando o resultado for reagente somente no primeiro teste treponêmico, e não reagente nos outros dois testes (não treponêmico e no segundo teste treponêmico) considera-se que o primeiro teste apresentou resultado falso-positivo.

Quando o resultado for reagente nos dois testes treponêmicos e não reagente no teste não treponêmico, devem-se considerar as seguintes possibilidades:

- a) O teste não treponêmico não foi capaz de detectar os anticorpos da amostra, por tratar-se de infecção muito recente;
- b) Trata-se de uma cicatriz sorológica pós-tratamento;
- c) Pode ter ocorrido um resultado falso-negativo no teste não treponêmico.

Para conclusão efetiva do caso deve-se verificar se o indivíduo foi recém-infectado, realizou a testagem antes da soroconversão e por isso apresentou resultado não reagente no teste não treponêmico. Nesse caso, a testagem de uma nova amostra após 30 dias provavelmente permitira a conclusão diagnóstica, pois deveria ocorrer a soroconversão e o teste não treponêmico apresentara resultado reagente.

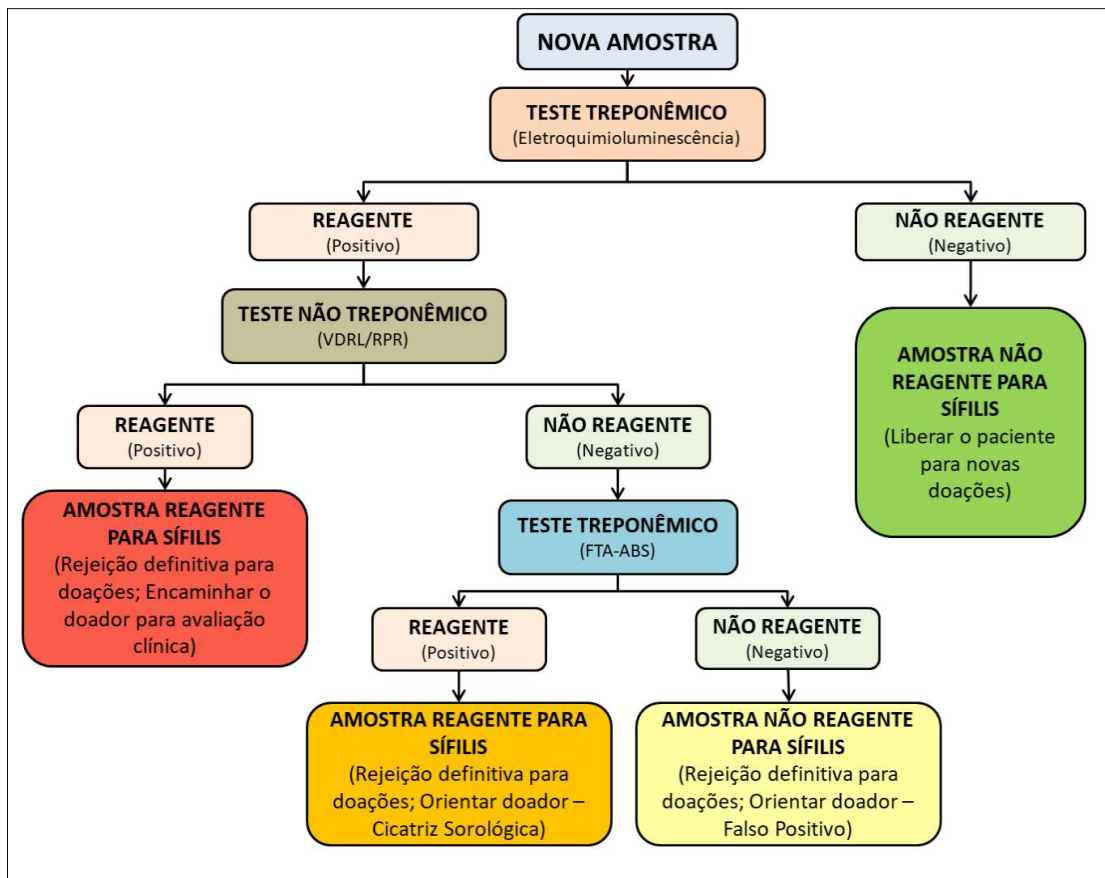
Caso o indivíduo já possua histórico de sífilis e registro de tratamento progressivo, a amostra poderá apresentar resultados discordantes entre os testes treponêmicos e não treponêmicos, nesse caso, trata-se de cicatriz sorológica.

Porém, ao se tratar de liberação de doadores com sorologia reativa para sífilis na fase de triagem sorológica, para realização de novas doações após retorno para diagnóstico, nem todos os considerados ao final do processo como “NÃO REAGENTE PARA SÍFILIS” podem novamente se tornarem doadores de hemocomponentes.

Conforme descrito na figura 8, os únicos doadores reativos ao ECLIA, na fase de triagem sorológica, com resultado de nova amostra não reagente ao mesmo teste (ECLIA), já na fase de diagnóstico, é que podem ser liberados para retornar a serem doadores de sangue, pois, conforme a interpretação do conjunto dos resultados obtidos tratou-se de uma reação falso positiva ao teste treponêmico na fase de triagem sorológica para doação.

Os demais doadores considerados “NÃO REAGENTES PARA SÍFILIS” na fase diagnóstica, que apresentaram ECLIA reagente e resultados não reagentes ao teste não treponêmico (RPR ou VDRL) e ao treponêmico FTA-Abs, são rejeitados de forma definitiva para realização de novas doações, visto a alta probabilidade de sempre apresentarem reações positivas ao ECLIA na fase de triagem, sendo assim bloqueados automaticamente na triagem sorológica de novas doações e encaminhados novamente para diagnóstico, gerando transtorno ao indivíduo e elevação dos custos financeiros para o serviço de hemoterapia.

Figura 10 - Fluxograma de liberação de paciente para realizar novas doações, após retorno para diagnósticos de sífilis.



FONTE: Laboratório de Sorologia do HEMOCE

2 JUSTIFICATIVA

Embora a segurança transfusional tenha aumentado consideravelmente nas últimas décadas, no intuito de fornecer hemocomponentes de alta qualidade aos receptores, o processo sempre apresentará um risco residual implícito de contaminação por algum tipo de patógeno sanguíneo.

Considerando a recomendação descrita na Política Nacional de Gestão de Tecnologias em Saúde, que visa garantir a qualidade e a melhor relação custo-benefício na assistência prestada à população, sendo necessária a avaliação contínua das tecnologias incorporadas no sistema de saúde (BRASIL, 2011).

Considerando a recente mudança do método diagnóstico utilizado para triagem sorológica do parâmetro Sífilis no HEMOCE, passando de um teste não treponêmico manual

para um teste treponêmico automatizado, que apresenta altíssima sensibilidade, superior a dos testes não treponêmicos na fase inicial da doença.

Faz-se necessário então, o acompanhamento e avaliação dos resultados obtidos posteriormente a esta implantação, objetivando conhecer melhor essa tecnologia, suas propriedades, seu desempenho na prática de rotina de triagem em doações de sangue, seu perfil de reatividade perante os doadores e evidenciar possíveis impactos que esta mudança possa causar na liberação dos hemocomponentes, obtendo assim informações importantes que possam auxiliar na elaboração de novas estratégias, visando melhorar de forma contínua a eficácia dos procedimentos adotados por este hemocentro.

3 PERGUNTAS DE PARTIDA

- Qual o impacto ocasionado pela mudança na metodologia de triagem sorológica para sífilis na taxa de descarte de hemocomponentes do Hemoce?

- Considerando que a nova metodologia para triagem de sífilis em banco de sangue apresenta uma maior sensibilidade que o método anterior, o incremento na proporção de reativos se manteve alto de forma constante nos doze meses subsequentes a implementação do novo algoritmo ou houve tendência para redução de detecção dos resultados reativos?

- Qual o perfil dos doadores com sorologia reativa para sífilis com esta nova metodologia?

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar o impacto causado pela mudança de metodologia utilizada para a triagem sorológica de sífilis, no Centro de Hemoterapia e Hematologia do Estado do Ceará.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar prevalência de doadores reativos para sífilis, na rede pública do estado do Ceará, através da utilização de um teste treponêmico automatizado nas rotinas de triagem sorológica.

- Comparar o percentual de descarte dos hemocomponentes, para o parâmetro sífilis, entre o teste de eletroquimioluminescência e o teste de RPR.

- Determinar a quantidade de amostras consideradas positivas para sífilis, conforme fluxograma vigente no serviço, após o retorno dos doadores para exames de diagnóstico.

- Conhecer o perfil dos doadores com sorologia reativa na triagem sorológica (positiva ou indeterminada) para sífilis com a utilização do método de eletroquimioluminescência (sexo, idade, raça, grau de instrução e estado civil).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 Aspectos éticos e legais

O estudo foi realizado mediante aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará, sob o parecer de nº 4.345.218, CAAE 22873219.0.0000.8152.

Para sua realização foram coletados dados de forma a garantir o anonimato dos doadores e os resultados obtidos foram interpretados de forma coletiva.

5.2 Tipo de estudo

Trata-se de um estudo observacional descritivo, de caráter retrospectivo e exploratório.

5.3 População do estudo

O estudo foi realizado através do levantamento de dados referentes aos resultados de sorologia, para o parâmetro sífilis, de todas as doações ocorridas no Centro de Hematologia e Hemoterapia, em todo o território da unidade federativa do Estado do Ceará, no período entre os meses de outubro de 2018 a outubro de 2020.

Foram também coletados os resultados dos testes laboratoriais de todos os doadores que apresentaram testes reagentes ou indeterminados, na triagem sorológica para doação, que retornaram ao serviço de hematologia para diagnóstico de sífilis, entre os meses de novembro de 2020 a julho de 2021.

5.4 Local do estudo

A pesquisa foi realizada na sede do Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (Hemoce), localizada em Fortaleza, no estado do Ceará.

5.5 Critérios de inclusão

Para inclusão neste estudo, foram consideradas todas as doações dos indivíduos classificados como aptos à doação de hemocomponentes pela triagem clínica do HEMOCE, com idade entre 18 e 69 (sessenta e nove) anos, 11 (onze) meses e 29 (vinte e nove) dias.

5.6 Critérios de exclusão

Foram excluídas deste estudo as doações dos indivíduos com idade entre 16 e 17 anos.

Foram também excluídas desta pesquisa todas as doações realizadas no mês de outubro de 2019, devido este ter sido um período de transição entre as metodologias de RPR e de quimiluminescência no setor de sorologia.

5.7 Coleta de dados

Foram coletados todos os resultados obtidos durante o processo de triagem sorológica para detecção de sífilis, com a utilização de teste não treponêmico (RPR) ou teste treponêmico (ECLIA), no período compreendido entre outubro de 2018 a outubro de 2020.

Após análise dos resultados dos doadores que foram submetidos à metodologia treponêmica automatizada, recentemente inserida no serviço de triagem sorológica, foram coletadas informações dos doadores que apresentaram testes reagentes ou indeterminados para sífilis, através de consulta ao sistema informatizado SBS-WEB, referentes aos parâmetros: sexo, idade, grau de instrução, estado civil e raça.

Foram monitorados mensalmente quais doadores, considerados reativos para sífilis no processo de triagem, retornaram ao serviço de hematologia para a realização dos testes confirmatórios de diagnóstico, sendo então coletados os resultados dos testes não treponêmico (RPR) e/ou testes treponêmicos (ECLIA e/ou FTA-Abs) realizados.

Foi obtido acesso a dados demográficos de um grupo controle de 10 mil doadores Não-Reativos para o teste treponêmico ECLIA de doadores de sangue do Hemoce Fortaleza que foram obtidos do Programa de Sorovigilância para COVID-19, referentes ao período entre janeiro e dezembro de 2020. Destes, 9.897 apresentaram registros válidos e foram utilizados como grupo comparador para fins de avaliação de parâmetros demográficos básicos com o grupo de Reativos deste estudo.

5.8 Triagem e diagnóstico sorológico da sífilis

No laboratório de sorologia do Hemoce, até meados de outubro de 2019, foi utilizado para detecção do parâmetro sífilis o método não treponêmico RPR. A partir desse mês os métodos não treponêmicos foram substituídos por um método treponêmico automatizado de eletroquimioluminescência (ECLIA).

Para realização do diagnóstico laboratorial para sífilis foram utilizados uma combinação de métodos não treponêmico (RPR) e treponêmicos (ECLIA e FTA-Abs), conforme descrito na figura 7, a qual descreve o fluxograma para realização do diagnóstico laboratorial reverso de sífilis baseado em testes imunológicos automatizados, normatizado pelo Ministério da Saúde.

5.9 Parâmetros para o teste sorológico não treponêmico (RPR)

Durante o período da realização deste estudo foi utilizado, tanto na fase de triagem quanto na fase diagnóstica, o método RPR para detecção da presença de anticorpos inespecíficos no soro de doadores com possível infecção sífilítica.

O kit RPR-BRÁS, utilizado no Hemocentro, consiste em uma suspensão de VDRL estabilizada e pronta para uso, que emprega como amostra soro não inativado ou plasma.

Trata-se de um teste baseado no princípio de floculação em que as amostras de soro coletadas dos doadores são submetidas a uma reação com uma suspensão antigênica contendo partículas de colesterol revestidas com cardiolipina e lecitina promovendo uma floculação, visível ao microscópio.

Foram consideradas reagentes as amostras que apresentaram presença de floculação durante a leitura direta feita no microscópio com aumento de 100x (ocular e objetiva de 10x).

Foram consideradas não reagentes as amostras com ausência de floculação durante a leitura direta feita no microscópio com aumento de 100x (ocular e objetiva de 10x).

5.10 Parâmetros para os testes sorológicos treponêmicos (ECLIA e FTA-Abs)

O teste treponêmico inserido na triagem e no diagnóstico laboratorial para sífilis, no Hemoce, é baseado em um método de eletroquimioluminescência (ECLIA) para detecção da presença de anticorpos específicos para *T. pallidum* em amostras de soro provenientes de doadores.

Trata-se de um imunoenensaio que utiliza uma técnica de sanduiche com processamento da amostra em duas incubações sequenciais.

Na primeira incubação reagem entre si: a amostra de soro do doador, os antígenos recombinantes específicos para *T. pallidum* biotinilados e os antígenos recombinantes de *T. pallidum* marcados com complexo de rutênio. Essa etapa tem o objetivo de formar um imunocomplexo quando anticorpos específicos para *T. pallidum* estão presentes na amostra de soro do doador.

Na segunda incubação, são adicionadas micropartículas revestidas de estreptoavidina na mistura gerada durante a primeira incubação. As micropartículas tem a finalidade de se ligarem ao imunocomplexo formado anteriormente, através da interação entre a biotina e da estrepetoadivina.

Após a segunda incubação a mistura de reação é aspirada para uma célula de leitura do equipamento onde as micropartículas são fixadas magneticamente à superfície do eletrodo de detecção. Todos os elementos não ligados são removidos por um tampão específico utilizado no equipamento. É aplicada então uma corrente elétrica ao eletrodo onde estão fixadas as micropartículas, sendo induzida uma emissão quimioluminescente, a qual é captada e aferida por um fotomultiplicador.

Os resultados são determinados automaticamente pelo software do equipamento, o qual compara o sinal de eletroquimioluminescência obtido do produto de reação da amostra com o sinal do valor de *cut off* anteriormente obtido pela calibração do ensaio.

O kit utilizado nas fases de triagem e diagnóstica foi o Elecsys Syphilis Cobas, com sensibilidade de 100% e especificidade de 99,93% (conforme informações constantes na bula do kit).

Os resultados são interpretados, de forma qualitativa, da seguinte forma:

- Reagente: leitura maior ou igual a 1,00.
- Não Reagentes: leitura menor que 0,90.
- Indeterminadas: leitura maior ou igual a 0,90 e menor que 1,00.

O segundo método treponêmico utilizado pelo Hemoce é o FTA-Abs. Trata-se de um método de imunofluorescência indireta baseada na detecção da presença de anticorpos específicos *anti- T. pallidum* em soro humano através de leitura por microscopia de fluorescência.

O FTA-Abs é considerado um teste de referência para diagnóstico de sífilis, sendo o primeiro a se tornar após a infecção por *T. pallidum*, possuindo alta sensibilidade e especificidade. Devido suas características é utilizado como teste confirmatório para sífilis.

Neste teste os anticorpos *anti- T. pallidum* presentes no soro do ligam-se a um antígeno fixado em uma lâmina, sendo revelados por uma antigamaglobulina humana marcada com isotiocianato de fluoresceína.

A amostra de soro é inativada por 30 minutos a uma temperatura de 56°C e diluída de 1:5 com solução absorvente pertencente ao kit. Após a inativação as amostras são adicionadas sobre as áreas específicas de uma lâmina reativa com suspensão de *T. pallidum* e incubadas em câmara úmida por 30 minutos. Posteriormente são lavadas com solução tampão

e retornam para a câmara úmida onde é adicionado às áreas específicas solução de antigamaglobulina humana marcada e incubada novamente por 30 minutos. Novamente as lâminas são submetidas a lavagens com tampão para retirada do excesso de reagentes. As lâminas são preparadas com glicerina tamponada e cobertas com uma lamínula, evitando a formação de bolhas. Finalmente são lidas em microscópio de fluorescência.

Os resultados são interpretados da seguinte forma no setor de repetição do Hemoce:

- Reagente: presença de fluorescência amarelo-esverdeada característica da espiroqueta.
- Não Reagentes: ausência de fluorescência amarelo-esverdeada característica da espiroqueta.
- Inconclusivas: visualização tênue de fluorescência, fracamente positivas, gerando interpretação dúbia da leitura.

5.11 Parâmetros para classificação de doadores que retornaram para testes confirmatórios

Os doadores que retornaram ao serviço de hematologia, após convocação, por apresentarem testes reativos ou indeterminados para o teste ECLIA, na fase de triagem analítica, foram classificados neste estudo da seguinte forma:

- **Doador de primeira vez:** são os doadores que fizeram uma única doação, a qual já apresentou algum tipo de reatividade ao teste ECLIA no processo de triagem sorológica.
- **Doador de repetição:** são os doadores que já haviam realizado pelo menos uma doação anterior com resultados negativo para detecção de sífilis, e apresentaram algum tipo de reatividade ao teste ECLIA.

Para melhor conhecimento do perfil dos doadores de repetição reativos ao teste ECLIA, foram coletadas informações sobre a quantidade de doações com resultados negativos para sífilis realizadas antes de apresentarem reatividade, sendo então subdivididas em categorias da seguinte forma:

- a) Até duas doações anteriores.
- b) Entre três e dez doações anteriores.
- c) Mais que dez doações anteriores.

5.12 Desenho do estudo

Para organizar a coleta de dados e facilitar a interpretação dos resultados posteriormente, o estudo em questão foi dividido em três fases distintas:

FASE 01:

Foram coletados os resultados dos exames de triagem sorológica submetidas ao teste não treponêmico RPR, no período de doze meses que antecederam a mudança de método, ou seja, entre os meses de outubro de 2018 a setembro de 2019.

As informações foram obtidas através de levantamento feito no sistema informatizado SBS-WEB.

Os dados obtidos eram compilados em planilha padronizada no programa Excel 2010 (Microsoft Office).

FASE 02:

Foram coletados os resultados dos exames de triagem sorológica submetidas ao teste treponêmico de eletroquimioluminescência (ECLIA), no período de doze meses após a mudança de método, ou seja, entre os meses de novembro de 2019 a outubro de 2020.

Em relação às amostras que se apresentaram reativas ou indeterminadas a esta metodologia (quimioluminescência) foram coletadas informações sobre os parâmetros sexo, idade, grau de instrução, estado civil e raça.

As informações foram obtidas através de levantamento feito no sistema informatizado SBS-WEB.

Os dados obtidos eram compilados em planilha padronizada no programa Excel 2010 (Microsoft Office).

FASE 03:

Foi procedido o monitoramento mensal, no sistema SBS-WEB, dos doadores reagentes ao teste de triagem sorológica (ECLIA) que, após convocação, retornavam ao Hemocentro para realização de testes confirmatórios para o diagnóstico de sífilis, até o mês de julho de 2021.

Os resultados do teste não treponêmico (RPR) e treponêmicos (ECLIA e FTA-Abs) obtidos foram registrados em planilha padronizada no programa Excel 2010 (Microsoft Office).

5.13 Análise de dados

Os dados subsequentemente gerados por este estudo foram compilados em planilha padronizada no programa Excel 2010 (Microsoft Office). Posteriormente integrados e analisados em por meio do programa estatístico Stata, versão 11.0, para análise de estatística descritiva e comparativa.

6 RESULTADOS

6.1 Resultados obtidos na fase 01 do estudo

De acordo com o levantamento realizado no período de outubro de 2018 a setembro de 2019, foram submetidos ao teste não treponêmico RPR, na central sorológica do HEMOCE, 102.212 amostras de soro provenientes das doações realizadas em todo o Estado do Ceará, das quais 503 (0,49%) foram reativas ao teste, com reações positivas, conforme descrito na tabela 4.

Tabela 4 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de RPR no período de novembro de 2018 a setembro de 2019.

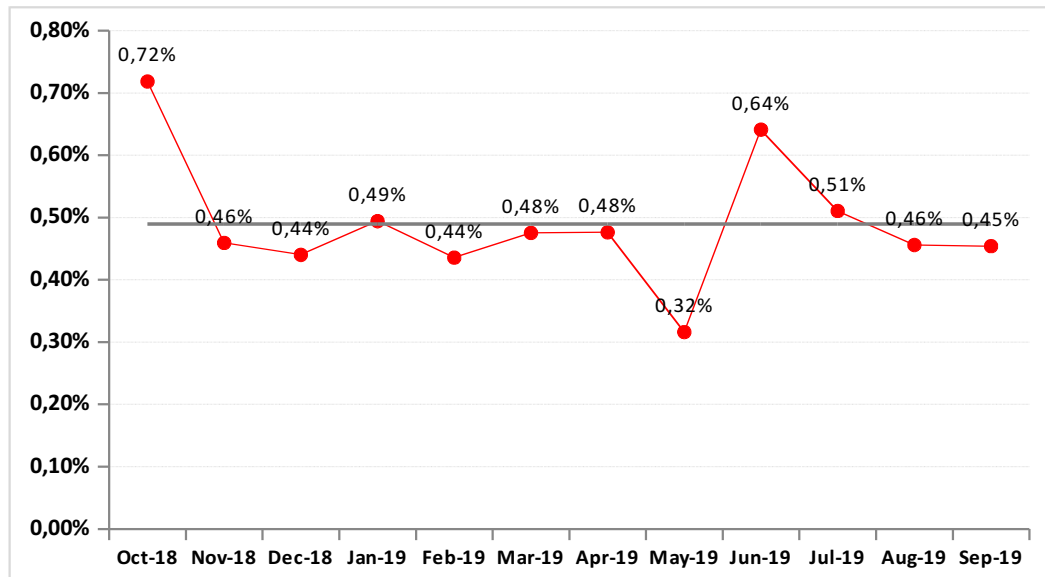
Mês / Ano	Doações	Amostras
Outubro 2018	9.466	68 (0,72%)
Novembro 2018	9.148	42 (0,46%)
Dezembro 2018	8.409	37 (0,51%)
Janeiro 2019	7.489	37 (0,49%)
Fevereiro 2019	9.186	40 (0,44%)
Março 2019	7.997	38 (0,48%)
Abril 2019	8.192	39 (0,46%)
Mai 2019	8.229	26 (0,32%)
Junho 2019	8.424	54 (0,64%)
Julho 2019	9.404	48 (0,52%)
Agosto 2019	8.337	38 (0,46%)
Setembro 2019	7.931	36 (0,45%)
Total	102.212	503(0,49%)

FONTE: Autor

A média de doações relativas a este período foi de 8.517,67 amostras/mês, com desvio padrão de 635,67. Já as amostras reativas ao teste não treponêmico RPR apresentaram uma média de 42,33 amostras/mês, com desvio padrão de 10,55. Já os percentuais de soroprevalência apresentaram uma média de 0,49%, com desvio padrão de 0,10%.

As variações mensais dos percentuais de amostras reativas ao teste RPR podem ser melhores observadas no gráfico 1, onde oscilam em torno da linha da média.

Gráfico 1- Percentuais mensais de soroprevalência para sífilis com a utilização de um teste não treponêmico, no período de novembro de 2018 a setembro de 2019.



FONTE: Autor

Em relação à soroprevalência para sífilis nas doações reativas ao RPR a macrorregião de Fortaleza apresentou a maior quantidade de reatividade com 285 (56,10%) amostras, com a macrorregião de Sobral em segundo lugar, com 72 (14,17%) de amostras reativas. As quantidades das demais regiões podem ser observadas na tabela 5.

Tabela 5 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de RPR, no período de novembro de 2018 a setembro de 2019, por região do Estado.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Região	Fortaleza	280 (55,67%)
	Sobral	72 (14,31%)
	Quixadá	33 (6,56%)
	Crato	42 (8,35%)
	Juazeiro	55 (10,93%)
	Iguatu	21 (4,17%)
Total		503 (100,00%)

FONTE: Auto

6.2 Resultados obtidos na Fase 02 do estudo

Em relação ao período de novembro de 2019 a outubro de 2020, no qual o setor já estava utilizando o método de quimiluminescência para triagem sorológica, foram analisadas 91.913 amostras de doações, das quais 1.003 (1,08%) foram reativas ao teste automatizado, com reações positivas ou indeterminadas, conforme descrito na TABELA 5.

Tabela 6 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de ECLIA no período de novembro de 2019 a outubro de 2020.

Mês / Ano	Doações	Amostras
Novembro 2019	8.903	148 (1,66%)
Dezembro 2019	8.025	91 (1,13%)
Janeiro 2020	7.498	103 (1,37%)
Fevereiro 2020	8.901	100 (1,12%)
Março 2020	7.113	73 (1,04%)
Abril 2020	8.914	110 (1,25%)
Mai 2020	5.265	65 (1,23%)
Junho 2020	6.352	62 (0,98%)
Julho 2020	7.748	67 (0,86%)
Agosto 2020	7.812	57 (0,73%)
Setembro 2020	7.255	53 (0,73%)
Outubro 2020	8.127	74 (0,91%)
Total	91.913	1.003 (1,08%)

FONTE: Autor

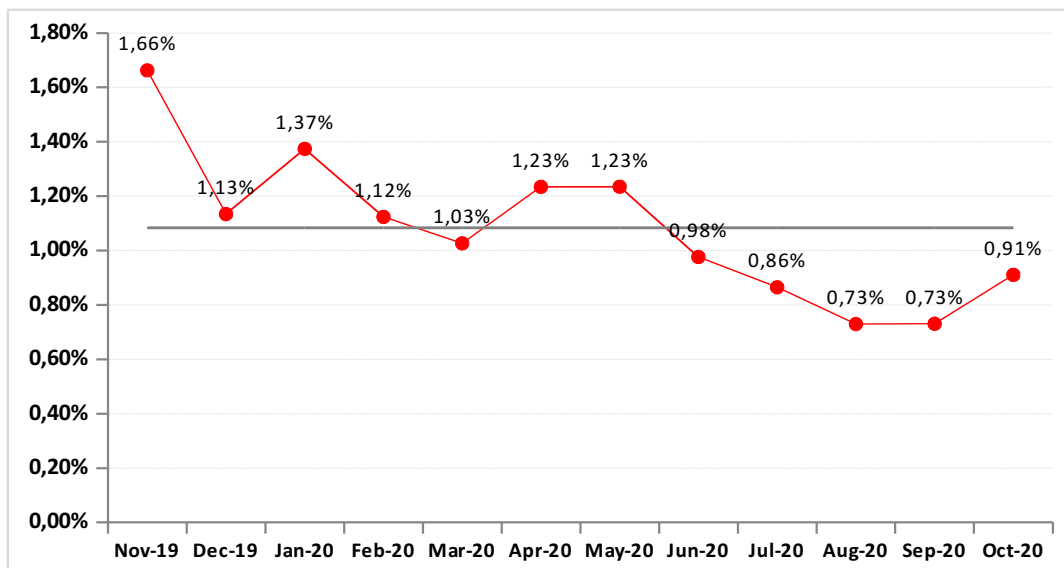
A média mensal de doações foi de 7.659,42 amostras/mês, com desvio padrão de 1.086,11. Já as amostras reativas ao teste treponêmico ECLIA, com reação positiva ou indeterminada, para detecção de sífilis apresentaram uma média de 83,58 amostras/mês, com desvio padrão de 27,76. Já os percentuais de soroprevalência apresentaram uma média de 1,08%, com desvio padrão de 0,26%.

Em relação ao tipo reatividade ao teste ECLIA observou-se que 983 amostras (98,01%) foram positivas, ou seja, com resultado de cutoff maior ou igual a 1,0 e 20 amostras (1,99%) foram indeterminadas, ou seja, com resultados de cutoff situados entre 0,90 e 1,00.

Nos doze primeiros meses imediatamente após a implementação no novo teste sorológico, seis apresentaram valores percentuais de soroprevalência acima da média e seis

com valores abaixo da média, dos quais cinco correspondem aos últimos meses do período monitorado, com podemos observar no gráfico 2.

Gráfico 2 - Percentuais mensais de soroprevalência para sífilis com a utilização de um teste treponêmico (ECLIA), no período de novembro de 2019 a outubro de 2020.



FONTE: Autor

No que diz respeito à soroprevalência para sífilis nas doações submetidas ao ECLIA, à macrorregião de Fortaleza apresentou a maior quantidade de reatividade com 561 (55,93%) amostras, com a macrorregião de Sobral em segundo lugar, com 164 (16,53%) de amostras reativas. As quantidades observadas no estudo podem ser observadas na tabela 7.

Tabela 7 - Soroprevalência das amostras de doações reativas para sífilis através do método de ECLIA no período de novembro de 2019 a outubro de 2020, por região do Estado.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Região	Fortaleza	561 (55,93%)
	Sobral	164 (16,35%)
	Quixadá	59 (5,88%)
	Crato	77 (7,68%)
	Juazeiro	88 (8,77%)
	Iguatu	54 (5,38%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Em relação ao parâmetro sexo dos doadores que apresentaram sorologia reativa para sífilis com o uso método treponêmico automatizado, observou-se que das 1.003 amostras reativas, 590 (58,72%) eram de doadores do sexo masculino, enquanto que 415 (41,28%) eram provenientes de doadores do sexo feminino, como podemos observar na tabela 8.

Tabela 8 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação a variável sexo.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Sexo	Masculino	589 (58,72%)
	Feminino	414 (41,28%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Relativo à faixa etária dos doadores que apresentaram sorologia reativa para sífilis, com o uso método ECLIA, observou-se que das 1.003 amostras reativas, as faixas etárias que apresentaram as maiores soroprevalências foram à dos doadores jovens, com idade entre 18 e 29 anos, e os com idade entre 30 e 39 anos, ambos os grupos apresentaram 279 amostras reativas, o que representa um percentual de 27,76%.

Os demais grupos apresentaram as seguintes soroprevalências, por ordem decrescente: grupo 40 a 49 anos – 194(19,30%); grupo 50 a 59 anos – 179(17,81%) e grupo 60 a 69 anos – 72(7,16%), conforme descrito na tabela 9.

Tabela 9 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável faixa etária.

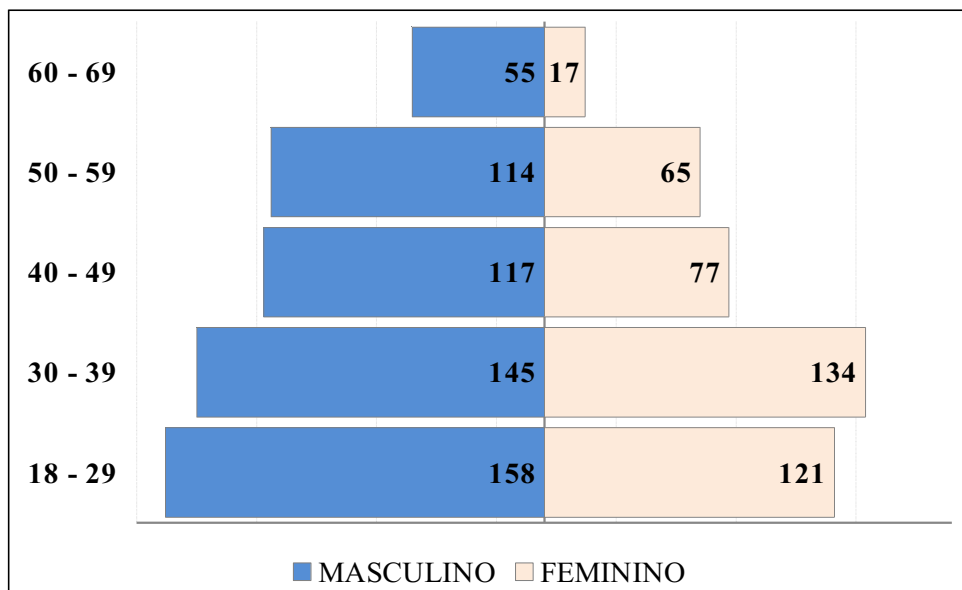
VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Faixa Etária	18 - 29	279 (27,82%)
	30 - 39	279 (27,82%)
	40 - 49	194 (19,34%)
	50 - 59	179 (17,85%)
	60 - 69	72 (7,18%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Ao correlacionarmos as informações dos parâmetros sexo e faixa etária dos doadores que apresentaram sorologia reativa para sífilis com a utilização do teste treponêmico automatizado, observou-se que os doadores de sexo masculino apresentaram maior soroprevalência em todas as faixas etárias.

A faixa etária que apresentou quantidades semelhantes entre de doadores do sexo masculino e do feminino, com sorologia reativa para sífilis, foi o grupo com idade entre 30 e 39 anos, visto que, neste grupo, a soroprevalência foi de 145 para os homens e de 134 para mulheres, como podemos observar no gráfico 3.

Gráfico 3 - Doações reativas para sífilis, através do método treponêmico ECLIA, com correlação entre sexo e faixa etária.



FONTE: Autor

Em relação ao grau de instrução dos doadores reativos para sífilis através de ECLIA, o grupo que relatou possuir ensino médio completo apresentou uma soroprevalência de 398(39,68%) amostras, bem distante do segundo grupo com maior reatividade, que foi o de terceiro grau completo, com 142 (14,16%) amostras reativas, conforme tabela 10.

Tabela 10 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável grau de instrução.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Grau de Instrução	Fundamental I	73 (7,28%)
	Fundamental II	124 (12,36%)
	Ens Medio Incomp	91 (9,07%)
	Ens Medio Comp	398 (39,68%)
	Terc Grau Incomp	116 (11,57%)
	Terc Grau Comp	142 (14,16%)
	Não Alfabetizado	10 (1,00%)
	Pós-Graduado	21 (2,09%)
	Mestrado	1 (0,10%)
	Especialização	2 (0,20%)
	Doutorado	0 (-)
	Não Informado	25 (2,49%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

No tocante à variável estado civil, o grupo dos solteiros apresentou uma soroprevalência de 515(51,24%) amostras, sendo este grupo responsável por mais da metade dos doadores com reatividade para sífilis. O grupo dos casados foi o segundo grupo com maior reatividade, apresentando 352 (32,34%) amostras reativas, conforme podemos observar na tabela 11.

Tabela 11 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável estado civil.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Estado Civil	Amasiado	56 (5,58%)
	Casado	325 (32,40%)
	Divorciado	60 (5,98%)
	Outros	10 (1,00%)
	Solteiro	513 (51,15%)
	Viúvo	12 (1,20%)

	Não informado	27 (2,69%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Referente à declaração de raça feita pelos doadores reativos para sífilis, o grupo que se autodeclarou moreno ou pardo apresentou a soroprevalência de 721(71,88%) amostras, sendo este grupo de doadores responsável pela maior reatividade para sífilis neste parâmetro. O grupo segundo grupo com maior reatividade foi se autodeclararam como brancos, apresentando 159 (15,85%) amostras reativas. Os demais dados podem ser observados na tabela 12.

Tabela 12 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao a variável raça.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Raça	Branca	159 (15,85%)
	Amarela	26 (2,59%)
	Negra	38 (3,79%)
	Morena/parda	721 (71,88%)
	Índia	0 (-)
	Não informado	59 (5,88%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Ao avaliarmos os doadores que foram reativos ao teste treponêmico ECLIA quanto à quantidade de doações negativas anteriores, através do teste não treponêmico VDRL/RPR, observamos que 376 (37,49%) eram doadores de primeira vez, ou seja, não havia ainda feito doações anteriores a esta ao Hemoce, enquanto que 627 (62,51%) já haviam realizados ao menos uma doação não reagente, conforme consta na tabela 13.

Tabela 13 - Dados referentes aos doadores reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação ao tipo de doador.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Tipo de doador	Primeira doação	376 (37,49%)
	Doador de Repetição	627(62,51%)
Total		1.003 (100,00%)

FONTE: Autor

Ao analisarmos os doadores reativos ao teste ECLIA para sífilis, que possuíam doações anteriores negativas ao teste não treponêmico, observamos que a maioria deles haviam feito entre três e dez doações anteriores (283/627), os que haviam realizados entre uma ou duas doações anteriores ficaram em segundo lugar (235/627) e os com mais de dez doações anteriores foram o de menor quantidade (109/627), conforme consta na tabela 14.

Tabela 14 - Dados referentes aos doadores de repetição, reativos ao teste de treponêmico ECLIA, em relação à quantidade de doações anteriores antes de reatividade ao método implantado na triagem sorológica.

VARIÁVEL	CATEGORIA	N (%)
Doações anteriores	Até 02 doações	235 (37,48%)
	Entre 03 e 10 doações	283 (45,14%)
	Mais que 10 doações	109 (17,38%)
Total		627 (100,00%)

FONTE: Autor

6.3 Resultados obtidos na Fase 03 do estudo

A terceira fase deste estudo se concentrou no monitoramento do retorno dos doadores que foram reativos, na fase de triagem sorológica, com o método treponêmico automatizado.

Dos 1.003 doadores que foram reativos ao ECLIA, na fase de triagem, 721 (71,88%) retornaram ao hemocentro para serem submetidos aos testes diagnósticos para sífilis

e 282 (28,12%) doadores não compareceram ao serviço hemoterápico, até o dia 31 de julho de 2021, para realização dos testes diagnósticos.

Ao verificarmos em relação ao parâmetro sexo dos doadores que retornaram ao serviço para realização de testes diagnósticos para sífilis, 424/721 (58,80%) eram do sexo masculino e 297/721 (41,20%) do sexo feminino.

As amostras de sangue coletada dos indivíduos que retornaram ao serviço foram submetidos ao fluxograma de diagnóstico reverso para sífilis, conforme descrito na figura 7. Após a realização das análises a combinação dos dados obtidos para diagnóstico foram classificados conforme descrito na tabela 15.

Tabela 15 - Combinação de resultados de testes treponêmicos e não treponêmicos para diagnóstico reverso de sífilis.

Resultados por método			Resultado diagnóstico
ECLIA	VDRL/RPR	FTA-Abs	
Negativo	-	-	Amostra negativa para sífilis
Positivo	Negativo	Negativo	
Indeterminado	Negativo	Negativo	
Positivo	Positivo	-	Amostra positiva para sífilis
Positivo	Negativo	Positivo	
Positivo	Positivo	-	
Positivo	Negativo	Indeterminado	

FONTE: Laboratório de Sorologia do Hemoce.

Ao correlacionarmos os resultados dos testes realizados tanto na fase de triagem quanto na fase diagnóstica obtivemos os resultados descritos na tabela 16.

Podemos observar que a grande maioria dos doadores que foram reativos ao teste treponêmico ECLIA, na fase de triagem sorológica, mantiveram-se reativos ao mesmo teste na fase de diagnóstico (641/721), correspondendo a 88,90% dos que retornaram ao serviço para fase diagnóstica.

Outro fato importante observado foi que 1,25% dos doadores que retornaram ao serviço para diagnóstico (9/721) apresentaram um resultado indeterminado para FTA-Abs, ou seja, com leitura da lâmina fracamente positiva e não conclusiva pelo profissional, somando-se então aos pacientes considerados positivos para fins de diagnóstico, pelos critérios adotados pelo Hemoce. Nesse caso o percentual total dos doadores com diagnóstico reagente para sífilis foi de 90,15% (650/721).

Tabela 16 - Resultados dos testes obtidos dos doadores que retornaram ao serviço para diagnóstico, durante a fase 3 do estudo.

Fase da realização do teste					Parcial (%)	Total (%)	Conclusão
Triagem	Diagnóstico						
ECLIA	ECLI	VDRL/RPR	FTA-Abs				
Ind	Neg	-	-	11 (1,53%)			
Ind	Pos	Neg	Neg	2 (0,28%)			
Ind	Ind	Neg	Neg	2 (0,28%)			
Pos	Neg	-	-	6 (0,83%)	71 (9,85%)	Negativo para sífilis	
Pos	Ind	Neg	Neg	3 (0,42%)			
Pos	Pos	Neg	Neg	47 (6,52%)			
Pos	Pos	Pos	-	213(29,54%)	641 (88,90%)	Positivo para sífilis	
Pos	Pos	Neg	Pos	428(59,36%)			
Pos	Pos	Neg	Ind	9 (1,25%)	9 (1,25%)		
TOTAL				721 (100,00%)	721(100,00%)		

FONTE: Autor

Legendas: Pos (positivo), Neg (negativo) e Ind (indeterminado).

Nesta fase do estudo, foi observado que 9,85% (71/721) foram diagnosticados como não reagentes para sífilis, porém apenas 17/721 (2,36%) foram habilitados novamente para realizarem doações futuras de hemocomponentes, conforme a figura 8 (Algoritmo de liberação de paciente para realizar novas doações, após retorno para diagnósticos de sífilis).

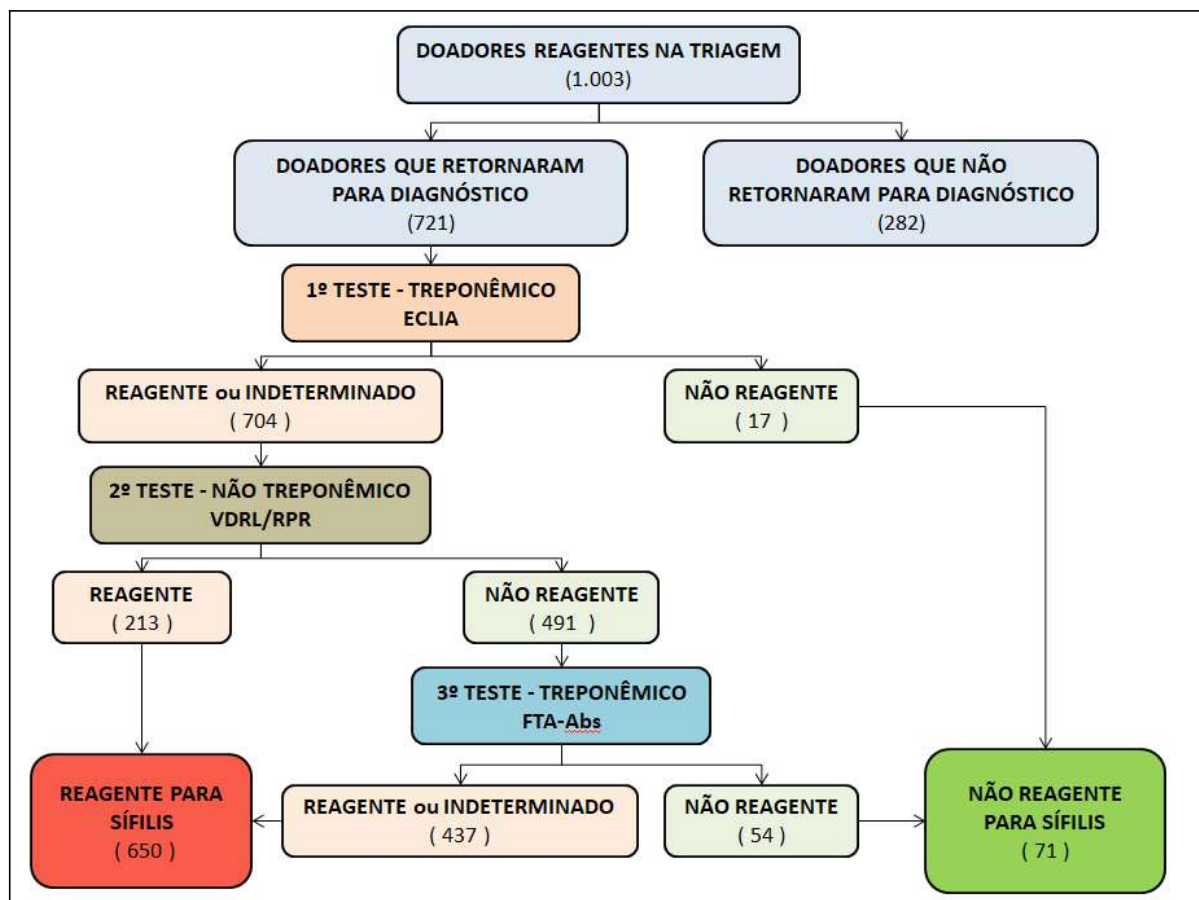
Vale salientar que 1,53% (11/721) dos doadores apresentaram sorologia indeterminada na fase de triagem, com a utilização de ECLIA, e sorologia não reagente ao ECLIA na fase de diagnóstico, bem como 0,28% (2/71) mantiveram-se indeterminados ao ECLIA nas duas fases e 0,28% (2/71) modificaram seu resultado de indeterminado na fase de

triagem para reagente da fase diagnóstica, porém foram considerados negativos a sífilis, pois os demais testes subsequentes na fase diagnóstica foram não reagentes.

Observou-se também que, conforme descrito na tabela 16, 6,52% (47/721) dos pacientes mantiveram resultado reagente ao ECLIA nas duas fases (triagem e diagnóstico), mostrando reprodutibilidade das amostras ao teste, porém foram concluídos como negativos para sífilis, pois apresentaram resultados não reagentes no RPR e FTA-Abs.

Para melhor visualização dos procedimentos realizados na fase de diagnóstico, foi compilado um fluxograma que correlaciona as etapas de execução das análises com a quantidade das amostras com resultados reativos ou não reativos aos testes não treponêmicos e treponêmicos utilizados, conforme podemos observar na figura 8.

Figura 11 – Fluxograma dos resultados obtidos na fase 3 do estudo, na etapa de diagnóstico.



FONTE: Autor

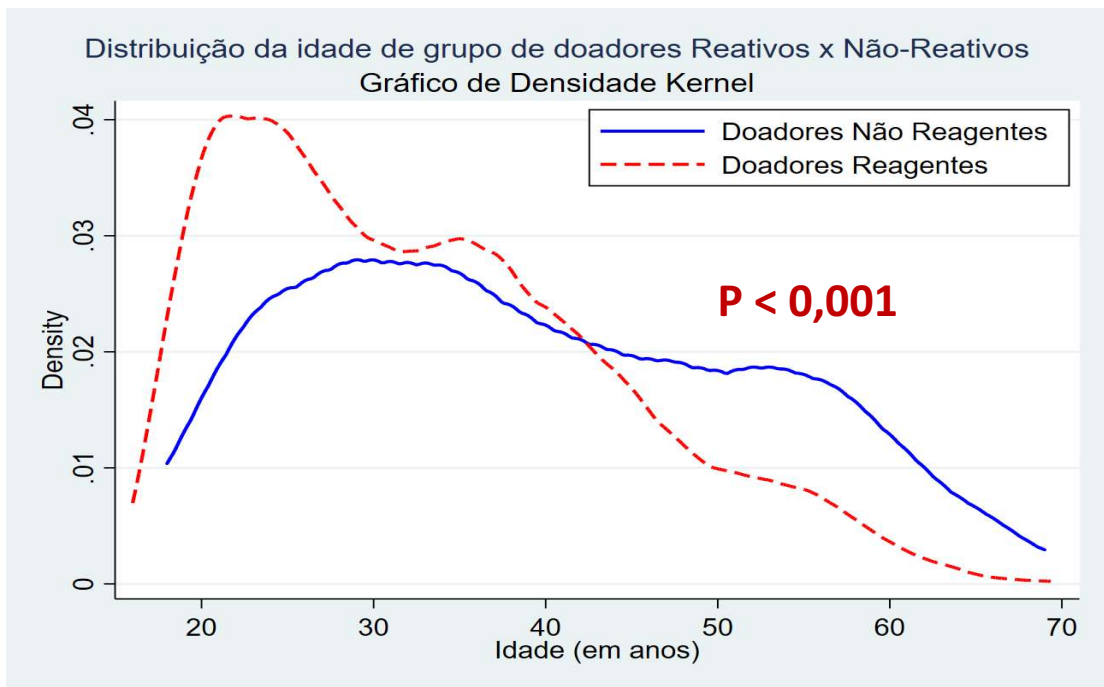
Dos 721 doadores que retornaram para diagnóstico, 494 (68,51%) eram doadores de repetição no hemocentro, ou seja, já haviam doado no mínimo uma vez antes da implementação do teste treponêmico ECLIA, em que eram considerados não reagentes ao teste VDRL/RPR na fase de triagem sorológica, já 227 (31,49%) eram doadores de primeira vez.

Ao voltarmos nossa análise especificamente para os 494 doadores de repetição que retornaram para diagnóstico observou-se que 482/494 (97,57%) foram classificados como reagentes para sífilis e 12/494 (2,43%) como não reagentes para sífilis.

Ao centralizarmos então a análise somente nos 650 doadores que foram classificados como reagentes para sífilis ao final do processo de diagnóstico, este estudo observou que 482 (74,15%) eram doadores de repetição usual, considerados anteriormente negativos para sífilis através do método não treponêmico RPR, sendo agora considerados doadores inaptos para doação através desta nova metodologia.

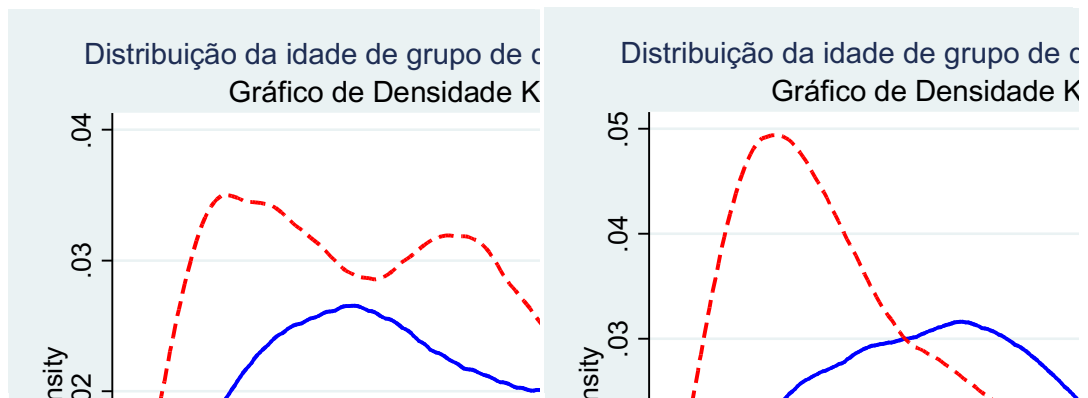
Além disso, a comparação dos indivíduos reativos para o teste treponêmicos com uma população de doadores do Hemoce para parâmetros demográficos básicos como idade e sexo, indicou distintos perfis de distribuição etária e de representação de sexo (figuras 12, 13 e 14).

Figura 12 – Dados referentes aos doadores Reativos versus grupo controle de doadores Não-Reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação à Idade para densidade de distribuição etária (teste não-paramétrico Mann-Whitney, $p < 0.01$).



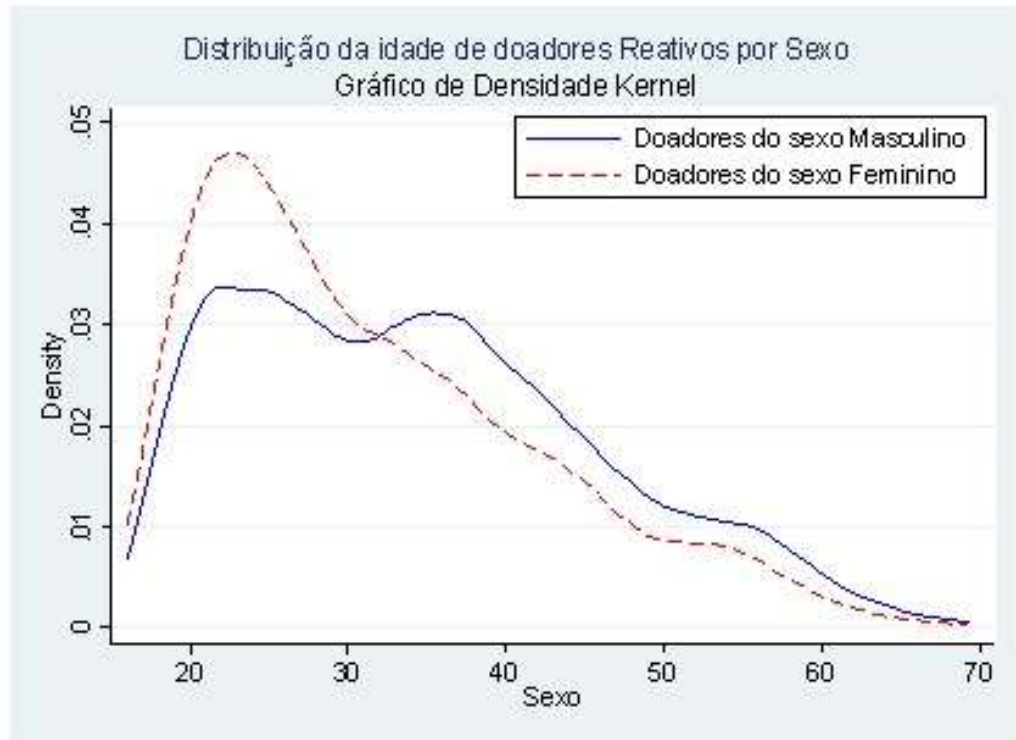
FONTE: Autor

Figura 13 – Dados referentes aos doadores Reativos versus grupo controle de doadores Não-Reativos ao teste de treponêmico ECLIA em relação à Idade e estratificado por sexo para densidade de distribuição etária (teste não-paramétrico Mann-Whitney, $p < 0.01$)



FONTE: Autor

Figura 14 - Dados referentes aos doadores Reativos ao teste treponêmico ECLIA em relação ao sexo para densidade de distribuição etária (teste não paramétrico Mann-Whitney, $p < 0.01$)



FONTE: Autor

7 DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Os dados obtidos deste estudo constataram que das 102.212 doações, realizadas entre outubro de 2018 e setembro de 2019, 503 apresentaram reatividade para o teste não treponêmico (RPR) em uso na triagem sorológica, o que corresponde a um percentual de soroprevalência para sífilis de 0,49%. Em 2015 e 2016, Arruda *et al.*, realizou uma análise epidemiológica dos candidatos a doação de sangue soropositivos para sífilis no Centro de Hematologia e Hemoretapia do Ceará, utilizando o método não treponêmico VDRL na triagem sorológica, onde observou uma soroprevalência de 0,50% em 2015 e de 0,45% em 2016. Os valores relatados por Arruda *et al.* são muito semelhantes ao valor de soroprevalência encontrado neste estudo, que foi de 0,49%, não havendo variações consideráveis de soropositividade para sífilis, na triagem sorológica, com a utilização de métodos não treponêmicos (VDRL ou RPR).

Já os dados sobre a soroprevalência para sífilis através do método treponêmico de eletroquimioluminescência (ECLIA), obtidos entre novembro de 2019 a outubro de 2020, constatou que entre as 91.913 doações 1.003 apresentaram-se reativas para este parâmetro, correspondendo a 1,08% do total de doações, o dobro do valor percentual observado nos doze meses anteriores a implantação deste método.

Um estudo realizado por meio da análise dos registros de doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe (HEMOSE), durante os anos de 2015 a 2017, constatou que 1,4% (1.130/77.791) das doações apresentaram sorologia positiva para sífilis através do método de quimioluminescência (TELES *et al*, 2021). O percentual de positividade encontrado na triagem sorológica para sífilis no HEMOCE assemelha-se bastante ao encontrado neste estudo, mostrando que o valor encontrado não diverge muito dos valores encontrados em outros serviços de hemoterapia. A alta sensibilidade do método treponêmico (ECLIA) em relação aos métodos não treponêmicos usuais explica essa alta nos percentuais de sororeatividade.

No decorrer do acompanhamento mensal dos valores percentuais de sororeatividade para sífilis através do método de treponêmico (ECLIA) foi observado um súbito aumento em seus valores logo nos meses iniciais após a implementação do novo teste. Porém, esse aumento não se manteve constante com o passar do tempo, apresentando tendências à redução dos valores nos últimos cinco meses contemplados no estudo (com valores percentuais que oscilaram entre 0,98% e 0,73%). Essa tendência à redução pode ser um indicativo de seleção sorológica dos candidatos que apresentavam anticorpos treponêmicos circulantes no momento da doação, sejam eles por infecção recente ou por cicatriz sorológica, porém essa constatação fica somente como uma hipótese observacional deste estudo, devido a limitações do desenho do estudo deste trabalho, podendo ser comprovadas ou não em ensaios futuros.

Ao correlacionarmos os percentuais de detecção para sífilis, por região do Estado, e os métodos utilizados na triagem sorológica, foi observado que não houve alteração na ordem de sororeatividade, mantendo-se a seguinte sequência: Fortaleza (55,67% / 55,95%); Sobral (14,31% / 16,35%); Juazeiro do Norte (10,93% / 8,77%); Crato (8,35%/ 7,68%); Quixadá (6,56%/ 5,88%) e Iguatu (4,17% / 5,38%), sendo o primeiro valor correspondente ao

método não treponêmico RPR e o segundo referente ao método treponêmico ECLIA. Esse padrão pode ser explicado de acordo com o volume das doações recebidas por estas macrorregiões do Estado.

Ao voltarmos às ponderações em relação ao perfil dos candidatos que se mostraram reativos para sífilis ao método de ECLIA foi observado que a maioria do sexo masculino 590/1.003 (58,72%) ficando o sexo feminino com 414/1.003 (41,28%). Esse fato vai de encontro a valores de descarte por sífilis encontradas em doadores no HEMOCE. Com uma maior prevalência para o sexo masculinos 73,7% e 26,3% para o feminino (TELES *et al*, 2021).

Em relação ao sexo e a faixa etária dos candidatos com sorologia reativa para sífilis (ECLIA) os de sexo masculino apresentaram maior soroprevalência em todos os grupos etários utilizados neste estudo. O fato dos candidatos do sexo masculino apresentarem a maior prevalência pode ser explicado pelo maior comportamento sexual de risco adotado pelos homens, que incluem baixa rotina de realização de exames preventivos, multiplicidade de parceiras e cobrança social para demonstração de virilidade (SIGNORINI *et al*, 2007).

Embora Brenner *et al*. (2008) e Caran *et al*. (2010) relatem que a faixa etária com maior soroprevalência para sífilis seja a de 18 a 29 anos, neste estudo a faixa etária de 18 a 29 anos apresentou a mesma quantidade de candidatos reativos para sífilis que a faixa etária de 30 e 39 anos, as quais apresentaram 279/1.003 (27,76%) casos detectados. Esse fato pode ser indicativo de alguma mudança no comportamento sexual da faixa etária de 30 a 39 anos.

Os candidatos à doação com grau de instrução de ensino médio completo apresentaram maior sororeatividade para sífilis, com 39,68% (398/1.003), quantidade esta bem superior ao do segundo grupo com maior reatividade, que foi os com terceiro grau completo, com 14,16% (142/1.003). As informações obtidas são semelhantes às observadas em um estudo realizado entre os anos de 2007 e 2012 no Hemocentro de São Luís, onde foi constatado que os candidatos com ensino médio completo apresentaram maior reatividade na triagem sorológica para sífilis nos anos de 2007 (37,20%), 2008 (36,85%), 2010 (47,73%), 2011 (51,28%) e 2012 (45,35%) (MATINS *et al*, 2013).

No que tange ao estado civil, foi constatado que os indivíduos solteiros apresentaram uma maior frequência de reatividade para sífilis (ECLIA) com 51,24% (515/1.003). Os hábitos sexuais dos solteiros, provavelmente por se exporem a uma maior multiplicidade de parceiros ou a prática de sexo desprotegido, os colocam em situação maior de risco para contrair doenças sexualmente transmissíveis (NETO, 2007).

Com relação à cor da pele dos candidatos, os autodeclarados morenos ou pardos representaram 71,88% (721/1.003) dos casos reativos para sífilis (ECLIA). Esse achado pode ser explicado com base na predominância da população cearense que, conforme dados do informe nº187, de 2020, do Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará (IPECE), cerca de 72,0% da população total se declarou preta ou parda, no ano de 2019, no Estado do Ceará, sendo este achado mais relacionado a aspectos demográficos do que propriamente a fatores de risco (IPECE, 2020).

Outro ponto observado neste estudo foi que 62,51% (627/1.003) dos candidatos reativos para sífilis (ECLIA) já haviam realizados ao menos uma doação anterior neste hemocentro, sendo elas não reagentes ao teste não treponêmico (VDRL/RPR). Tendo em vista que os testes imunoenzimáticos apresentam alta sensibilidade e especificidade (WILD, 2000) e que os testes não treponêmicos podem apresentar-se não reativos no início da infecção sífilítica, enquanto que os testes treponêmicos apresentam-se reagentes nos estágios iniciais e podem permanecer reativos durante toda a vida (CDC, 2011). O fato da maioria dos candidatos reativos ao método de ECLIA possuírem doações anteriores submetidas ao método não treponêmico (VDRL/RPR), com resultados não reagentes, pode ser explicado devido a várias hipóteses, dentre elas: a obtenção de resultados falso-positivos na fase de triagem, a detecção de cicatrizes sorológicas ou a possibilidade de realmente estarem em fase inicial da infecção no momento da doação. A confirmação de qual hipótese se trata, só poderá ser feita no momento que os candidatos retornem ao serviço para realizar o diagnóstico.

Ao concentrarmos as análises em relação aos 1.003 doadores reativos para sífilis (ECLIA) na fase de triagem, foi constatado que 71,88% (721) retornaram ao serviço para realização dos testes diagnósticos e que 28,12% (282) não retornaram até o prazo do levantamento de dados vigente nesta fase, sendo que, dos que retornaram 58,80% (424/721) eram do sexo masculino e 41,20% (297/721) do sexo feminino. Ao compararmos com os

valores de percentual de retorno dos candidatos convocados para fase diagnóstica para sífilis obtidos neste estudo com os relatados por Arruda *et al*, no HEMOCE, nos anos de 2015 (65,65%) e 2016 (49,90%), foi observado um aumento na quantidade de indivíduos que retornaram ao serviço para realização dos testes diagnósticos, esse fato pode ser explicado por uma provável evolução na estratégia do serviço de hemovigilância da instituição para convocação e busca dos candidatos reativos na fase de triagem.

Dos 721 candidatos que retornaram para a fase diagnóstica, 90,15% (650/721) apresentaram um diagnóstico reagente para sífilis e 9,85% (71/721) não reagente. Já o percentual de positividade dos candidatos que retornaram ao serviço para diagnóstico nos anos de 2015 e 2016 foi de, respectivamente, 54,77% e 59,2%, ainda conforme Arruda *et al*. O algoritmo utilizado no estudo de 2015 e 2016 contemplava somente a utilização de um teste não treponêmico (VDRL) e um treponêmico (FTA-Abs) na fase diagnóstica. A utilização de um novo fluxograma, o qual insere mais um teste treponêmico de alta sensibilidade na fase diagnóstica e a diminuição da subjetividade de interpretação dos resultados de um teste não treponêmico, podem ser fatores que ocasionaram o aumento dos percentuais de positividade na fase diagnóstica observadas neste estudo.

As comparações de parâmetros demográficos básicos do grupo de Reativos com um grupo de 9,897 doadores Não-Reativos revelaram um perfil distinto de distribuição etária bastante distinto e com maior predominância do sexo feminino comparado ao grupo controle (41,2% vs 37,7%). Todavia, análises comparativas adicionais de outros períodos serão requeridas para se determinar o perfil sócio-demográfico e comportamental desses indivíduos e que podem constituir em geração de conhecimento pertinente no aprimoramento da triagem clínica e laboratorial da sífilis e de outros agravos par ao ciclo do sangue.

Dos 650 indivíduos classificados como reagentes para sífilis ao final do processo de diagnóstico, 74,15% (482) eram doadores de repetição usual, sendo agora considerados doadores inaptos para novas doações. Esse achado implica em perda de candidatos a doação que anteriormente eram classificados com aptos a doação através dos testes não treponêmicos, porém, devido a limitações inerentes ao desenho deste estudo, não temos como afirmar se estes indivíduos apresentavam infecção recente ou cicatriz sorológica, pois para isto seria necessário realizar um acompanhamento clínico detalhado dos mesmos, sendo considerada

uma limitação a ser considerada para análises futuras e outros estudos. A obtenção de dados quantitativos dos testes treponêmicos, e aquisição de dados laboratoriais adicionais são parâmetros tangíveis e objetivos que para o seguimento deste estudo e que poderão constituir em ferramentas de potencial utilidade clínica para a discriminação de casos de cicatriz imunológica e de infecção ativa transmissão. Uma limitação adicional deste trabalho, foi a impossibilidade de se realizar uma investigação comparativa de fatores sócio-demográficos entre os doadores reativos para os testes não-treponêmicos e os reativos para os testes treponêmicos, particularmente referentes ao período imediatamente anterior a implementação da nova triagem laboratorial para sífilis. Além disso, durante o período investigado de 2020, é inevitável não se considerar o provável impacto da pandemia na saúde geral da população e na captação de doadores de sangue, o que conseqüentemente pode ter introduzido vieses de seleção, e potenciais alterações do perfil geral da população de doadores como um todo.

8 CONCLUSÃO

Os dados obtidos no decorrer deste estudo evidenciaram que a implantação de um método treponêmico automatizado (ECLIA), na fase de triagem sorológica de candidatos a doação de sangue, ocasionou um aumento na prevalência da sororreatividade para sífilis em relação ao método não treponêmico (RPR) anteriormente utilizado, sendo a prevalência observada de 1,08% para o teste ECLIA e 0,49% para o RPR. Esse incremento já era esperado, visto que o novo teste apresenta uma alta sensibilidade de detecção da patologia nas fases iniciais da doença, o que ocasiona um aumento considerável na segurança transfusional e qualidade dos hemocomponentes disponibilizados para quem deles necessitam. Porém, o aumento não se manteve constante durante todo o período do estudo, apresentando uma tendência à redução nos meses finais do acompanhamento.

Outro fato constatado neste estudo foi que dos candidatos considerados reativos na fase de triagem sorológica ao novo teste treponêmico (ECLIA) e convocados para fase diagnóstica, 71,88% retornaram ao serviço sendo eles a maioria do sexo masculino (58,80%).

Destes 90,15% tiveram seu diagnóstico confirmado, conforme os fluxogramas de diagnósticos utilizados no serviço, sendo considerados inaptos para novas doações e encaminhado para orientação clínica.

Em relação ao perfil dos candidatos reativos ao teste ECLIA a maioria era composta por adultos jovens, com idades entre 18 a 39 anos, do sexo masculino, solteiros, autodeclarados morenos ou pardos e com ensino médio completo.

Em relação ao perfil geral dos doadores de sangue, é muito provável que a população de sororreativos para os teste treponêmicos apresente um distinto perfil de distribuição etária e de sexo, sugestivo dos achados deste estudo, mas que requerem avaliações adicionais de parâmetros sócio-demográficos e comportamentais dos doadores de sangue.

Ao final das análises não foi possível determinar a quantidade exata de infecções recentes ou cicatrizes sorológicas entre os candidatos considerados positivos para sífilis ao final do processo diagnóstico, visto que, para isto, seria necessário um acompanhamento clínico individual, fato este não contemplado no desenho deste estudo, ficando como sugestões para futuros projetos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADEGOKE AO, AKANNI O, DIRISU J. Risk of transfusion-transmitted syphilis in a tertiary hospital in Nigeria. *N Am J Med Sci*. 2011; 3(2): 78–81.

ARAÚJO CL DE, SHIMIZU HE, SOUSA AIA DE, HAMANN EM. Incidência da sífilis congênita no Brasil e sua relação com a Estratégia Saúde da Família. *Rev Saúde Pública*. 2012; 46 (3): 479–86.

ARRUDA, A. B. L. *et al*. Análise epidemiológica dos candidatos à doação de sangue soropositivos para sífilis. *Braz. J. Hea. Ver. Curitiba*, v. 2, n. 4, p. 3867-3880, jul./aug. 2019. ISSN 2595-6825.

AVELLEIRA, J. C. R.; BOTTINO, G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. *An. Bras. Dermatol.*, Rio de Janeiro, v. 81, n. 2, p. 111-126, Mar. 2006.

AZEVEDO LKA, FERNANDES PSG, SILVA DGKC, NETO MJB, QUEIROZ MGL, DANTAS VCR ET AL. Characterization and correlation of prozone phenomenon whit seroreactivity and indirect immunofluorescence in sero from patients with syphilis. *RBAC*, 2006; 38:183-187.

BRASIL. Boletim Epidemiológico de Sífilis. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. 2017.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue. Brasília, DF; 2004. 108 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS. Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Coordenação nacional de DST e AIDS. Triagem Clínica de Doadores de Sangue. Brasília. DF. 2001.

BRASIL. Ministério da Saúde. Resolução RDC n. 34, de 14 de junho de 2004. Determina o Regulamento técnico para os procedimentos hemoterápicos. Diário Oficial da União. Brasília. DF. 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico – Sífilis. Ano IV- nº 1. Brasília. DF. 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. Manual de orientações para promoção da doação voluntária de sangue / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção a Saúde. Departamento de Atenção Especializada e Temática. – 1. ed., 1. reimpr. – Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis – DCCI. Boletim Epidemiológico de Sífilis. Número Especial, Out. 2019.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. Diagnóstico de Sífilis. Brasília, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais. Manual Técnico para Diagnóstico da Sífilis / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis, AIDS e Hepatites Virais. – Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 52 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico – Sífilis. Ano IV- nº 1. Brasília. DF. 2015.

BRENER, *et al.* 2008. Fatores associados a aptidão clínica para doação de sangue determinantes demográficos e socioeconômicos. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., v.30, n. 2, p. 108-113, 2008.

BUENO, E. C.; VAZ, A. J. Imunoensaios de Aglutinação. In: Imunoensaios: Fundamentos e Aplicações. p.54–61. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

CARAN, *et al.* 2010. Distribuição espaço-temporal dos candidatos à doação de sangue da Fundação Hemominas, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, nos anos de 1994 e 2004. Cadernos de Saúde Pública. V. 26, n. 2, p. 229-239, 2010.

CARLSON JA, DABIRI G, CRIBIER B, SELL S. The immunopathobiology of syphilis: the manifestations and course of syphilis are determined by the level of delayed-type hypersensitivity. *Am J Dermatopathol*. 2013;33(5):433–60

CARNEIRO-PROIETTI, A. B. DE F.; LOPES, M. S. N.; URIAS, E. V. R. Outras doenças infecciosas transmitidas pelo sangue. *Hemoterapia: Fundamentos e Prática*. p. 529–530. São Paulo: Atheneu, 2007.

CARRAZZONE CFV, BRITO AM, GOMES YM. Importância da avaliação sorológica pré-transfusional em receptores de sangue. *Rev. Bras. Hematologia e Hemoterapia*. 2004; 26(2):93-98. doi: 10.1590/S1516-84842004000200005.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2008. Syphilis Testing Algorithms Using Treponemal Tests for Initial Screening. Four Laboratories, New York, 2005-2006. United States: *MMWR* 57(32): 872-875.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC) 2011. Discordant Results from Reverse Sequence Syphilis Screening- Five Laboratories, United States, 2006-2010. United States: *MMWR* 60 (5):133- 137.

CHAKRABORTY R, LUCK S. Syphilis is on the increase: the implications for child health. *Arch Dis Child*. 2008; 93(2): 105–9.

CHAMONE, 2001 CHAMONE, D. A. F. Triagem Sorológica em Bancos de Sangue. In: *Manual de Transfusão Sanguínea*. p.252. São Paulo: Roca, 2001.

COHEN SE, KLAUSNER JD, ENGELMAN J, PHILIP S. Syphilis in the modern era:na update for physicians. *Infect Dis Clin North Am*. 2013; 27(4): 705-22.

CRUZ, M.J.; LISBOA, C.; AZEVEDO, F. Diagnóstico sorológico da sífilis – novas orientações. *Revista da SPDV*. Vol. 69, nº4, p. 523- 529, 2011

DAMASCENO A. B. A., MONTEIRO D. L. M., RODRIGUES L. B., BARMAS D. B. S., CERQUEIRA L. R. P., TRAJANO A. J. B.. Sífilis na gravidez. *Rev HUPE*. 2014; 13(3): 88–94.

DOMINGUES RM, LEAL MC. Incidência de sífilis congênita e fatores associados à transmissão vertical da sífilis: dados do estudo Nascer no Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2016.

FERREIRA AW, ÁVILA SLM. Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes, 1996.

GARDELLA C, MARFIN AA, KAHN ES, MARKOWITZ LE. Persons with early syphilis identified through blood or plasma donation screening in the United States. *J Infect Dis*. 2002; 185(4):545-549. doi: 10.1086/338829.

GIACANI e LUKEHARTA, 2014 Giacani L, Lukehart SA. The endemic treponematoses. *Clin Microbiol Reviews*, 2014; 27.

HOOK EW. Syphilis. *Lancet*. 2017; 389(10078): 1550–7.

HORVATH, A. Biology and natural history of syphilis. In: GROSS, G.; TYRING, S. K. (Ed.). Sexually transmitted infections and sexually transmitted diseases. [S.l.]: Springer, 2011. p. 129-141.

IPECE. Informe / Instituto de Pesquisa e Estratégia Econômica do Ceará (IPECE) / Fortaleza – Ceará: Ipece, 2020 ISSN: 2594-8717.

JANIER, M.; HEGYI, V.; DUPIN, N. *et al.* European guideline on the management of syphilis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, [S.l.], v. 28, p. 1581-1593, Dec. 2014.

JINDAL, N.; BANSAL, R. VDRL Test and its Interpretation. *Indian Journal of Dermatology*, v. 57, n. 5, p. 413. doi: 10.4103/0019-5154.100511, 2012.

JULLIEN AM, COUROUCE AM, RICHARD D, FAVRE M, LEFRERE JJ, HABIBI B. Transmission of HIV by blood from seronegative donors. *Lancet*. 1988; 332(8622): 1248-1249. doi: 10.1016/S0140-6736(88)90836-7.

KALININ Y, NETO AP, PASSARELLI DHC. Sífilis: aspectos clínicos, transmissão, manifestações orais, diagnóstico e tratamento. *Odonto*. 2015; 23(45–46): 65–76.

KATZ, L. M. A test that won't die: the serologic test for syphilis. *Transfusion*, v. 49, n. 4, p. 617–619. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02119.x, 2009.

KAUR, G.; KAUR, P. Syphilis testing in blood donors: an update. *Blood Transfusion*, v. 13, n. 2, p. 197–204. doi: 10.2450/2014.0146-14, 2015.;

LAFOND RE, LUKEHART SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*, 2006; 19: 29- 49.

LARSEN, S. A. *et al.* A manual of tests for syphilis. Washington: APHA, 1998. 361 p.

LARSEN, S. A.; STEINER, B. M.; RUDOLPH, A. H. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clinical microbiology reviews*, v. 8, n. 1, p. 1–21, 1995.

MAGALHÃES DM DOS S, KAWAGUCHI IAL, DIAS A, CALDERON I DE MP. A sífilis na gestação e sua influência na morbimortalidade. *Comum em ciências da saúde*. 2011;22(1):43–54

MARTINS *et al*, 2013. Prevalência de sífilis em doadores de sangue no Hemocentro de São Luis, no período de 2001 a 2012. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter*. V.35, n.1, p. 392, 2013.

MATTEI, P. L.; BEACHKOFKY, T. M.; GILSON, R. T.; WISCO, O. J. Syphilis: a reemerging infection. *American Family Physician*, v. 86, n. 5, p. 433–440, 2012.

MO, X.; JIN, Y.; YANG, Y.; HU, W.; GU, W. Evaluation of a new chemiluminescence immunoassay for diagnosis of syphilis. *European journal of medical research*, v. 15, n. 2, p. 66, 2010.

NETO, C.A. Perfil epidemiológico de doadores de sangue com diagnóstico sorológico de sífilis e HIV. Tese [Doutorado]. São Paulo: Universidade de São Paulo, Curso de Medicina; 2007.

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

NYATSANZA F, TIPPLE C. Syphilis: Presentations in general medicine. *Clin Med J R Coll Physicians London*. 2016;16(2):184–8.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Diagnóstico laboratorial de doenças sexualmente transmissíveis, incluindo o vírus da imunodeficiência humana. Tradução de Nazle Mendonça Collaco Veras. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Eliminación mundial de la sífilis congénita: fundamentos y estrategia para la acción. Ginebra, 2008.

PEELING RW, MABEY D, KAMB ML, CHEN XS, RADOLF JD, BENZAKEN AS. Syphilis. *Nat Rev Dis Prim*. 2017; 3(17073): 1–21.

PHISKE MM. Current trends in congenital syphilis. *Indian J Sex Transm Dis AIDS*. 2014; 35(1): 12–20.

PORTARIA MINISTERIAL 158, 158 (2016); Triagem Clínica de Doadores de Sangue. In: Ministério da Saúde CNdDSTeA, editor. Brasília 2001.

PROETTI ABFC, CIOFFI JGM. Hemovigilância: verificação final da qualidade da transfusão? *Rev. Bras. de Hemot. E Hematologia*. 2008;30(3):173-176. doi: 10.1590/S1516-84842008000300001.

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

READ PJ, DONOVAN B. Clinical aspects of adult syphilis. *Intern Med J*. 2012; 42(6): 614–20.

SAEZ-ALQUEZAR, A. *et al.* Desempenho de testes sorológicos para sífilis, treponemicos (Elisa) e não treponemicos (VDRL RPR), na triagem sorológica para doadores de sangue: confirmação dos resultados por meio de três testes treponemicos (FTA ABS, WB e TPHA). *Revista de Patologia Tropical*, [S.l.], v. 36, n. 3, p. 215-228, set./dez. 2007.

SANCHEZ, M. C. A. Testes Sorológicos. In: Diagnóstico Laboratorial das Principais Doenças Infecciosas e Auto-Imunes. 2ª ed., p.9–48. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

SANDES, VS. Análise de Nova Metodologia na Triagem Sorológica para Sífilis em Doadores de Sangue. Tese de Mestrado. Niterói, 2015.

SANTOS, M.O.; MULLER, V. D. M.; VALCARENGHI, D.; GONÇALVES, J. B. P.; BUENO, E.C. Comparação de testes não treponêmicos utilizados no diagnóstico da sífilis e interferência da inativação do soro. RBAC. Vol. 39, n 2, p. 135-137, 2007.

SARAIVA S, CÉSAR A, MELLO A DE, ANTONIO M. Aortite sífilítica: diagnóstico e tratamento. Relato de caso. Rev Bras Cir Cardiovasc. 2010; 25(3): 415–8.

SCHROETER, A. L. *et al.* Treatment of early syphilis and reactivity of serologic tests. JAMA, [S.l.], v. 221, n. 5, p. 471-476, July 1972.

SEÑA, A. C.; WHITE, B. L.; SPARLING, P. F. Novel *Treponema pallidum* serologic tests: a paradigm shift in syphilis screening for the 21st century. Clinical Infectious Diseases: Na Official Publication of the Infectious Diseases Society of America, v. 51, n. 6, p. 700–708. doi: 10.1086/655832, 2010.

SIGNORINI, D.J.; MONTEIRO, M.C.; DE SÁ, C.A.; SION, F.S.; LEITÃO NETO, H.G.; LIMA, D.P. *et al.* Prevalência da co-infecção HIV-sífilis num hospital universitário da cidade do Rio de Janeiro em 2005. Ver. Soc. Bras. Med. Trop. V. 40, n. 3, p. 282-5, 2007.

SINGH, A. E.; ROMANOWSKI, B.. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic and some biologic features. Clin Microbiol Rev. v.12. p.187-209.

SMITH, M. B.; HAYDEN, R. T.; PERSING, D. H.; WOODS, G. L. Infecções por Espiroquetas. In: Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20o ed., p.1301–1315. São Paulo: Manole, 2008.

SOUZA EM. Há 100 anos, a descoberta do *Treponema pallidum*. An Bras Dermatol, 2005; 80: 547-548.

SUKTHANKAR A. Syphilis. Medicine (Baltimore). 2010; 38(5): 263–6.

TELES, W. S. *et al.* Soroprevalência de sífilis em doadores de sangue do Centro de Hemoterapia de Sergipe. Research, Society and Development, v. 10, n. 4, e47910414169, 2021

WHO (World Health Organization). *TDR(Special Programme for Research & Training in Tropical Diseases). The use of rapid syphilis tests.* Geneva: World Health Organization; 2006.

WILD, D. Imunoensaio. 2 ed Handbook. Londres: Nature Publishing Group, 2000.

ZOU, S.; NOTARI, E. P.; FANG, C. T.; STRAMER, S. L.; DODD, R. Y. Current value of serologic test for syphilis as a surrogate marker for blood-borne viral infections among blood donors in the United States. Transfusion, v. 49, n. 4, p. 655–661. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.02042.x, 2009.