

ADRIANA ATTIE RAMAO

**Análise dos casos soropositivos de sífilis em doadores de
sangue da Fundação Pró-Sangue – HSP na cidade de
São Paulo**

**São Paulo
2023**

ADRIANA ATTIE RAMAO

**Análise dos casos soropositivos de sífilis em doadores de
sangue da Fundação Pró-Sangue – HSP na cidade de
São Paulo**

**Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 01 de novembro
de 2011. A versão original está disponível na Biblioteca FMUSP.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina
da Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Mestre em Ciências

Programa de Moléstias Infecciosas e Parasitárias

Orientadora: Profa. Dra. Suzete Cleusa Ferreira Spina
Lombardi

**São Paulo
2023**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Ramao, Adriana Attie

Análise dos casos soropositivos de sífilis em
doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue - HSP na
cidade de São Paulo / Adriana Attie Ramao. -- São
Paulo, 2023.

Dissertação (mestrado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.

Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias.

Orientadora: Suzete Cleusa Ferreira Spina
Lombardi.

Descritores: 1.Treponema pallidum 2.Sífilis
3.Doadores de sangue 4.Transmissão de doença
infecciosa 5.Infecções sexualmente transmissíveis
6.Transfusão de sangue

USP/FM/DBD-253/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho de mestrado a todas as pessoas que, de alguma maneira, fizeram parte da minha trajetória acadêmica.

À Instituição e aos pesquisadores da Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, agradeço a valiosa oportunidade de adquirir conhecimento e experiência, que foram essenciais nesta pesquisa.

À minha orientadora, Suzete Lombardi, cuja paixão pelo ensino e pesquisa, são uma fonte constante de inspiração.

A minha família, por terem me proporcionado acesso à educação e condições que possibilitaram meu desenvolvimento acadêmico e profissional. Sem dúvidas, o suporte, amor e a base que vocês me deram fizeram toda a diferença na minha coragem para buscar novos desafios.

E dedico a Deus que sempre me guiou, se mostrou presente e segue iluminando meu caminho.

AGRADECIMENTOS

Expresso meu profundo agradecimento à minha orientadora, Suzete Lombardi! Não há dúvidas de que realizar o sonho de concluir meu Mestrado só foi possível graças à sua incrível orientação e habilidades como pesquisadora.

Ela desempenhou um papel fundamental no meu crescimento acadêmico e profissional, me orientando com paciência, incentivando-me a buscar a excelência e compartilhando seu valioso conhecimento. Agradeço por sua disponibilidade e apoio ao longo dessa jornada. Suas portas sempre estiveram abertas para discussões e esclarecimentos. Sou grata por tê-la como minha orientadora, que fez dessa experiência maravilhosa!

A Juliana Derriga pelo apoio e dedicação no desenvolvimento dos testes da minha dissertação.

Ao Prof. Dr. Vanderson Geraldo Rocha e ao Dr. Alfredo Mendrone Junior pelo trabalho e dedicação ao Ensino e Pesquisa, pela oportunidade e apoio no desenvolvimento do meu projeto.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, processo nº. 2017/23028-9, pelo financiamento do projeto de pesquisa, tornando possível a realização desta dissertação.

Aos doadores de sangue e pacientes atendidos pela FPS/HSP, pelo ato de caridade e amor ao próximo e pela confiança em nosso trabalho.

“Entender as coisas ao nosso redor é a melhor preparação para entender as coisas além.”

Hipáfia.

NORMALIZAÇÃO ADOTADA

Esta dissertação está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

SUMÁRIO

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

Lista de figuras

Lista de tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	20
1.1 Sífilis.....	20
1.2 Hemovigilância no Brasil.....	32
2 OBJETIVOS.....	50
2.1. Objetivos Principais.....	50
2.2 Objetivos Secundários.....	50
3 MÉTODOS.....	51
3.1 Desenho do estudo.....	51
3.2 Informações adicionais do processo realizado no estudo.....	52
3.3 PCR em tempo real.....	53
3.4 Análises estatísticas.....	54
4 RESULTADOS.....	56
5 DISCUSSÃO.....	60
6 CONCLUSÃO.....	63
7 REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICE.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

AIDS - Doença causada pela infecção do Vírus da Imunodeficiência Humana

ANVISA - Agência Nacional de Vigilância Sanitária

CA - Califórnia

CAPPesqCEP - Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa

CAV - Vacina de adenovírus canino

CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças

CMIA - Ensaio imunológico quimioluminescente magnético

CONEP - Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

Cópias /mL - número de cópias por mililitro

CNH - Comissão Nacional de Hemoterapia

Covid-19 - Coronavírus 19

CRT - Centro de Referência e Treinamento DST

EIA-IgM - Imunoensaio enzimático para detecção de imunoglobulina M

ELISA - Teste de enzima imunoensaio

EUA - Estados Unidos da América

EU/EEE - União Europeia/Espaço Econômico Europeu

FAPESP - Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo

FPS-SP – Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo

FTA-ABS - Teste de fluorescência

GM - Gabinete do Ministro

Anti-HBc - Anticorpo contra o antígeno do core viral

HBV - Vírus B da hepatite

HBsAg - Antígeno de superfície da Hepatite B

HCV - Vírus C da hepatite

HIV - Vírus da Imunodeficiência Humana

HSH - Homens que fazem sexo com homens

HTLV-I/II - Vírus Linfotrópico de Células T Humanas Tipo 1 e 2

IgG - Imunoglobulina G

IgM - Imunoglobulina M

IST - Infecção Sexualmente Transmissível

LCR – Líquido cefalorraquidiano

OPAS/OMS - Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial de Saúde

ORFs - Open Read Frames

MHA-TP - Microaglutinação passiva para anticorpos *T. pallidum*

NAT - Testes de amplificação e detecção de ácidos nucléicos

pb - Pares de bases

PCR - Reação em cadeia da polimerase

PLWH - Usuários de drogas endovenosas

PNCQES - Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia
para Unidades Hemoterápicas

PrEP - Profilaxia pré-exposição

PWUCC - Usuários de crack e cocaína

RDC - Resolução da Diretoria Colegiada

RPR - Teste rápido de reagina plasmática

RT-PCR - Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase

SPSS - *Statistical Package for Social Science for Windows*

TPHA - Teste de hemaglutinação por proteína treponêmica

TPPA - Ensaio de aglutinação de partículas de *Treponema pallidum*

TTIs - Infecções transmitidas por transfusão

TR - Teste rápido

TRUST - Teste de Soro Vermelho Não Aquecido de Toluidina

USR - Teste qualitativo padrão para sífilis

VDRL - *Venereal Disease Research Laboratory*/Estudo Laboratorial de Doenças

Venéreas

χ^2 - Teste Pearson Chi-square

(-) - Negativo

(+) - Positivo

< - Menor

\geq - Maior igual

% - Porcentagem

$^{\circ}\text{C}$ - Graus Celsius

N $^{\circ}$ /n $^{\circ}$ - Número

μL - microlitro

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação do <i>Treponema pallidum</i>	22
Figura 2 - Representação da evolução natural da sífilis.....	27
Figura 3 - Taxa de detecção de sífilis adquirida (por 100.000 habitantes), taxa de detecção de sífilis em gestantes e taxa de incidência de sífilis congênita (por 1.000 nascidos vivos), segundo ano de diagnóstico.....	30
Figura 4 - Taxa de detecção de sífilis adquirida (por 100.000 habitantes) segundo região de residência e ano de diagnóstico.....	31
Figura 5 - Representação dos testes não treponêmicos e treponêmicos.....	40
Figura 6 - Relação entre os testes diagnósticos para sífilis e as fases da doença.....	41
Figura 7 - Linha cronológica referente ao desenvolvimento do diagnóstico da sífilis.....	41
Figura 8 - Relação dos testes não treponêmicos para detecção do <i>T. pallidum</i> em soro ou plasma em várias micelas.....	42
Figura 9 - Representação da reação de floculação, na qual os anticorpos não treponêmicos se ligam em várias micelas.....	43

Figura 10 - Representação da reação de floculação, na qual os anticorpos não treponêmicos se ligam	ura 10 - Relação dos testes de floculação para detecção do
T. pallidum em soro ou plasma.....	45
Figura 11 - Relação dos testes treponêmicos para detecção do <i>T. pallidum</i> em soro ou plasma.....	46
Figura 12 - Relação dos testes treponêmicos para detecção do <i>T. pallidum</i> em soro ou plasma.....	48
Figura 13 - Relação dos testes treponêmicos para detecção do <i>T. pallidum</i> em soro ou plasma.....	49
Figura 14 - Fluxograma do desenho do estudo. O teste CMIA foi usado na triagem inicial de doadores de sangue. Amostras positivas foram testadas para VDRL, anticorpo IgM para <i>T. pallidum</i> (EIA-IgM), DNA de <i>T. pallidum</i> por PCR e pelo ensaio INNO-LIA Syphilis.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Características demográficas de doadores de sangue positivos para CMA e IgM para sífilis positivo.....	58
Tabela 2 - Motivações para doar sangue entre doadores de sangue positivos para sífilis.....	59

RESUMO

Ramao AA. Análise dos casos soropositivos de sífilis em doadores de sangue da Fundação Pró-Sangue - HSP na cidade de São Paulo [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2023.

A sífilis, descoberta a mais de 100 anos, ainda é um problema de saúde pública em todo mundo. A Organização Mundial de Saúde estima mais de 7 milhões de casos novos anualmente. No Brasil, a reemergência de sífilis apresenta um aumento contínuo na incidência, expondo um risco para coinfeção pelo HIV e outras IST's. Na Fundação Pró-Sangue (FPSHSP), entre 2015 a 2017, a média de soropositividade para sífilis foi de 0,73%, apresentando aumento progressivo de 37% ($p < 0.0000001$) na positividade do marcador para sífilis (2015: 0,62%, 2016: 0,73%, 2017: 0,85%), mostrando a necessidade de compreender o aumento de sífilis na população de doadores. Estudar as características epidemiológicas do aumento da incidência de sífilis na população de doadores de sangue da FPSHSP na cidade de São Paulo, caracterizar o perfil sorológico do doador positivo, determinar a prevalência ativa na população de doadores de sangue, fortalecer o controle de qualidade do sangue e fornecer evidências científicas para elaborar estratégias de prevenção de sífilis para a garantia da segurança transfusional. Foi realizado o teste Enzimático de imunoenensaio para detecção de imunoglobulina: ELISA IgM para Sífilis e VDRL em todas as amostras positivas no teste treponêmico - CMIA - utilizado na triagem sorológica de doadores de sangue no ano de 2017 e 2018. As amostras apresentaram resultados positivos para o Elisa IgM e VDRL foram submetidas a análise por PCR em Tempo Real. Entre as 248.542 amostras triadas, 1.679 (0,67%) apresentaram um resultado positivo para CMIA-Syphilis, destas, 1.144 (68,1%) foram incluídas no estudo, e 535 (31,9%) foram excluídas do estudo por volume insuficiente para realização dos testes. Os resultados encontrados foram: ELISA IgM(+)/VDRL(+)=183 (16%), ELISA IgM (-)/VDRL(+)= 189 (16,5%), ELISA IgM(+)/VDRL(-)= 47 (4,1%), ELISA IgM(-)/VDRL (-) = 725 (63,4%). O teste INNO-LIA Syphilis, teste confirmatório para 47 (4,1%) amostras com resultados positivos no Elisa IgM e VDRL negativos, sendo 33 (3,0%) positivo, 2 (0,2%) indeterminado e 12 (1,0%) negativo. Cinco (2,2%) entre 230 amostras de ELISA IgM+ (20,1%) mostraram a presença de DNA de Treponema por PCR em tempo real. A taxa de incidência de casos de sífilis e a taxa de descartes entre 2017 e 2018, respectivamente, foram de 0,77%, 0,62% e 0,1%, 0,07%. A taxa de descarte e a incidência foram maiores em homens, solteiros, com idade <39 anos, nível educacional com ensino secundário e doadores de primeira vez. Foi observado uma coreatividade de 10,4% com anti-Core HBV, 1,1% com anti-HIV, 1,5% com anti-HTLV-1/2 e 1,1% com NAT-HIV entre os doadores Elisa IgM-Syphilis reativa para a sífilis. Os resultados

identificaram risco de transmissão transfusional de sífilis em bancos de sangue que utilizam exclusivamente o VDRL para o diagnóstico dos doadores, sendo encontrado 3,15% casos VDRL negativos, mas com Elisa-IgM e INNO-LIA positivos. Os casos RT-PCR positivos mostraram o potencial da transmissão da sífilis em casos em que houve um rastreio adequado do sangue dos doadores. Estes dados sugerem que novas diretrizes de diagnóstico e rastreabilidade de sífilis devem ser estabelecidas na triagem de doadores de sangue para garantir a segurança transfusional.

Palavras-chave: Treponema pallidum. Sífilis. Doadores de Sangue. Transmissão de Doença Infecciosa. Infecções Sexualmente Transmissíveis. Transfusão de Sangue.

ABSTRACT

Ramao AA. Analysis of seropositive cases of syphilis in blood donors from Fundação Pró-Sangue - HSP in the city of São Paulo [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2023.

Syphilis, discovered more than 100 years ago, is still a public health problem worldwide. The World Health Organization estimates more than 7 million new cases annually. In Brazil, the re-emergence of syphilis shows a continuous increase in incidence, exposing a risk for coinfection with HIV and other STIs. At Fundação Pró-Sangue (FPSHSP), between 2015 and 2017, the mean seropositivity for syphilis was 0.73%, showing a progressive increase of 37% ($p < 0.0000001$) in the positivity of the marker for syphilis (2015: 0.62 %, 2016: 0.73%, 2017: 0.85%), showing the need to understand the increase in syphilis in the donor population. To study the epidemiological characteristics of the increased incidence of syphilis in the population of blood donors at FPSHSP in the city of São Paulo, to characterize the serological profile of the positive donor, to determine the active prevalence in the population of blood donors, to strengthen blood quality control and provide scientific evidence to develop syphilis prevention strategies to ensure transfusion safety. The Enzymatic immunoassay test for the detection of immunoglobulin: ELISA IgM for Syphilis and VDRL was performed on all positive samples in the treponemal test-CMIA - used in the serological screening of blood donors in the years 2017 and 2018. The samples showed positive results for Elisa IgM and VDRL were analyzed by Real Time PCR. Among the 248,542 samples screened, 1,679 (0.67%) were positive for CMIA-Syphilis, of these, 1,144 (68.1%) were included in the study, and 535 (31.9%) were excluded from the study, due to insufficient volume to carry out the tests. The results found were: ELISA IgM(+)/VDRL(+)=183 (16%), ELISA IgM(-)/VDRL(+)= 189 (16.5%), ELISA IgM(+)/VDRL(-)= 47 (4.1%), ELISA IgM (-)/VDRL (-)= 725 (63.4%). The INNO-LIA Syphilis test, confirmatory test for 47 (4.1%) samples with positive Elisa IgM and VDRL negative results, 33 (3.0%) positive, 2 (0.2%) indeterminate and 12 (1.0%) negative. Five (2.2%) out of 230 IgM+ ELISA samples (20.1%) showed the presence of Treponema DNA by real-time PCR. The incidence rate of syphilis cases and the discard rate between 2017 and 2018, respectively, were 0.77%, 0.62% and 0.1%, 0.07%. The discard rate and incidence were higher in men, single, aged <39 years, with secondary education and first-time donors. A coreactivity of 10.4% with anti-Core HBV, 1.1% with anti-HIV, 1.5% with anti-HTLV-1/2 and 1.1% with NAT-HIV was observed among Elisa IgM donors -Syphilis reactive for syphilis. The results identified a risk of transfusion transmission of syphilis in blood banks that exclusively use VDRL for diagnosing donors, with 3.15% negative VDRL cases, but with positive Elisa-IgM and INNO-LIA. Positive

RT-PCR cases showed the potential for syphilis transmission in cases where there was adequate screening of blood donors. These data suggest that new syphilis diagnostic, and traceability guidelines should be established in the screening of blood donors to ensure transfusion safety.

Keywords: Treponema pallidum. Syphilis. Blood Donors. Disease Transmission, Infectious. Sexually Transmitted Diseases. Blood Transfusion.

1 INTRODUÇÃO

1.1 Sífilis

A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível (IST), multissistêmica, exclusiva do ser humano, causada pela bactéria espiroqueta gram-negativa móvel, *Treponema pallidum* (*T. pallidum*)^{1,2,3,4,5,6}.

Historicamente, a origem da sífilis ainda é uma incógnita, desde o século XV já se referiam como uma doença estigmatizada e promíscua⁵. Entretanto, três teorias foram propostas, a Teoria Colombiana (Novo Mundo) que a sífilis surgiu nas Américas, e que a tripulação de Cristóvão Colombo, nas grandes navegações, a levou para a Europa em 1492, a Teoria Pré-Colombiana (Velho Mundo) que sustenta a hipótese que a sífilis se originou na África central e foi introduzida na Europa antes da viagem de Colombo; e a Teoria unitária que as doenças trepanematosas, sífilis e não venéreas eram todas uma mesma infecção^{5,7}. Em 1495 uma epidemia de sífilis disseminou pela Europa, para a Índia em 1498 e em 1505 para a China^{5,7}.

A sífilis possui várias denominações como Grande Variola, lues venereum (doença venérea), morbus gallicus (doença francesa), Lues hispânica, mal americano, mal canadense, mal céltico, mal-de-Nápoles ou mal napolitano, mal-dos-cristãos, mal escocês, mal francês, mal germânico, mal turco ou mal português, entre outras, pois nenhum país assumiu a origem da doença. Em 1530, Girolamo Fracastoro, poeta e personalidade médica em Verona, determinou o termo “sífilis”, derivado de um pastor mítico, Syphilus, descrito em seu poema *Syphilis Sive*

Morbus Gallicus, que significa “Sífilis ou a doença francesa”. No ano de 1905, em Berlim, o dermatologista Paul Erich Hoffmann e o zoólogo Fritz Richard Schaudinn identificaram o *Treponema pallidum*, onde demonstraram as espiroquetas em fluído de lesão secundária corada por giemsa, como agente causador da sífilis^{5,6,7,8,9}.

De acordo com a taxonomia a bactéria foi classificada na classe *Spirochaetes*, ordem *Spirochaetales*, família *Spirochaetaceae*, gênero *Treponema*, espécie *pallidum*, subespécie *pallidum*^{1,2,3,4,5,6}.

No gênero *Treponema* há duas espécies responsáveis por ocasionar IST ou ser transmitidas por meio não sexual: *Treponema carateum* (ocasiona a pinta); *Treponema pallidum* que apresenta três subespécies: *Treponema pallidum subsp. pertenue* (responsável pela boubá), *Treponema pallidum subsp. endemicum* (causador de Bejel - sífilis endêmica) e *Treponema pallidum subsp. pallidum* (agente causador de sífilis)⁶. Entre esses quatro agentes há uma similaridade genômica, morfologicamente indistinguíveis, mas podem ser diferenciados por suas manifestações clínicas⁶.

A morfologia do *T.pallidum*, bactéria micro-aerófila de forma helicoidal, consiste em uma espiral fina com espiras regulares e pontas afiladas, com aproximadamente 5 a 20 µm de comprimento e 0,1 a 0,2 µm de diâmetro, apresentando cerca de 6 a 15 espiras, enroladas sobre seu próprio eixo, sem parede celular, protegido pelo envelope externo com três camadas de ácido N-acetil murâmico e N-acetil glucosamina, apresentam dois a três flagelos que se estendem da extremidade distal até ao eixo longitudinal (Figura 1), que permite o movimento por rotação do corpo através de filamentos axiais (endoflagelo)^{7,8}. Suas características biológicas

apresentam muitas limitações que impossibilita o cultivo em meios artificiais, baixa resistência ao meio ambiente, sensível à ação de desinfetantes, calor, umidade e exposição ao ambiente, podendo sobreviver por até 10 horas em objetos úmidos. Isso se deve por ter capacidade limitada para sintetizar aminoácidos, carboidratos, ácidos graxos e enzimas para manter sua rota biosintética^{7,8}.

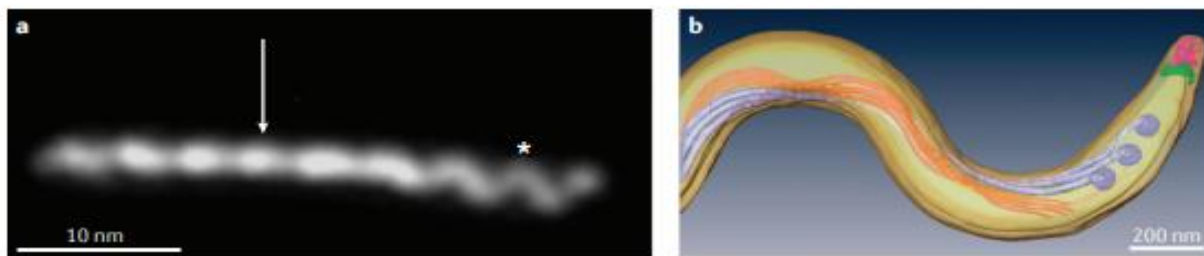


Figura 1 - Representação do *Treponema pallidum*. **a.** Micrografia de campo escuro, mostra morfologia. **b.** Tomogramas crioelétrônicos de *T. pallidum*, mostra membrana externa e citoplasmática (amarelo transparente), motores flagelares (roxo escuro), filamentos flagelares (roxo claro), filamentos citoplasmáticos (laranja), tampa (verde) e cone (rosa). Fonte: Adaptado de Izard et al, 2009⁹; Radolf et al., 2016¹⁰.

O genoma de *T. pallidum*, recentemente sequenciada cepa Nichols, é um cromossomo circular de 1.138.006 pb e contém 1.041 quadros de leitura aberta (ORFs). O genoma pequeno da bactéria supõe-se que depende de vias biossintéticas do hospedeiro para suprir suas necessidades metabólicas^{7,8,9,10,11,12}. Papéis biológicos previstos foram atribuídos a 55% das ORFs como sendo própria à subespécie, enquanto 17% correspondem àquelas que codificam proteínas hipotéticas de outras espécies e 28% representam novos genes^{7,8,9,10,11,12}.

A transmissão de sífilis se dá principalmente pelo contato sexual (sífilis adquirida), mas também pode ocorrer de forma vertical por via transplacentária (sífilis congênita), pelo contato do recém-nascido (RN) com lesões genitais no momento do parto, por transfusão de sangue ou por contato direto com sangue

contaminado^{5,6,7,8,11}. Outras vias de transmissão, mais raras e com menor papel epidemiológico, foram relatadas como pelo beijo, via indireta por objetos contaminados e tatuagem^{5,6,7,8,11}. O maior risco de transmissão ocorre com maior frequência no primeiro ano após a infecção, pelo contato com lesões cutâneas ou mucosas contagiantes (cancro duro e lesões secundárias), sendo que pelos órgãos genitais é responsável por 95% dos casos de sífilis. No entanto, é importante destacar a transmissão de sífilis após a resolução das lesões da mucosa^{4,5,6,7,8,9,10,11,12,13}.

A patogenia da sífilis se dá pela penetração do *T. pallidum* decorrente pelas pequenas abrasões durante a relação sexual, permitindo que a bactéria se deposite na camada subendotelial, por um período de incubação de 10 a 90 dias, em que ocorre a proliferação no local causando a pápula eritematosa ulcerada (cancro duro)^{5,6,11}. Quando atinge a circulação o *T. pallidum* se multiplica, disseminando por todo o organismo hospedeiro, tornando a doença sistêmica, e resulta na produção de complexos imunes, que podem depositar-se em qualquer órgão^{5,6,11}. A imunidade humoral não tem capacidade de proteção, e a imunidade celular ocorre tardiamente, permitindo que a bactéria se multiplique e sobreviva por longos períodos^{5,6,11}.

As manifestações clínicas da sífilis mostram que é uma doença de evolução lenta, e quando não tratada, apresenta períodos sintomáticos e assintomáticos, com sintomatologia clínicas, imunológicas e histopatológicas distintas, divididas em três fases: sífilis primária, sífilis secundária e sífilis terciária (Figura 2)^{8,11,14,15,16}. Após a sífilis secundária, se o indivíduo continuar sem tratamento, há dois períodos de latência: recente (menos de um ano do início da clínica) e tardia (mais de um ano de

doença)^{8,9,14,15,16}. A infecção pelo *T. pallidum* não confere imunidade permanente, assim é preciso diferenciar entre a persistência (cicatriz sorológica) e reinfeção^{8,9,11,14,15,16}.

A sífilis adquirida pode se apresentar nas formas recente ou tardia, e congênita é classificada de acordo com a evolução da doença no momento da detecção, em precoce e tardia^{8,9,11,14,15,16}.

A sífilis primária apresenta um período de incubação de 10 a 90 dias (média de três semanas), sendo iniciada pelo aparecimento de uma úlcera rica em treponemas (cancro duro), úlcera dérmica solitária, indolor, superficial, borda regular, base endurecida, fundo limpo, encontrada nos locais de entrada da bactéria como pênis, vulva, vagina, ânus, boca, colo uterino^{7,14,15,16,17,18}. Na sífilis secundária, ocorre em média entre seis semanas a seis meses após a cicatrização do cancro, o *T. pallidum* se dissemina pelo organismo sendo depositados em uma variedade de tecidos e ocorrem com manifestações iniciais, recorrentes ou subentrantes do secundarismo com a presença de erupção macular eritematosa (roséola) no tronco e raiz dos membros, placas em mucosas, e lesões acinzentadas e pouco visíveis nas mucosas. As lesões cutâneas progridem para lesões papulosas e eritematoacastanhadas sendo frequentes nos genitais, entretanto, atinge região plantar e palmar, com um colarinho de escamação característico, em geral não pruriginoso^{7,14,15,16,17,18}.

A sífilis latente ocorre num período sútil em que não há sintomas, sendo que somente por testes sorológicos (testes treponêmicos e não treponêmicos) é possível

detectar a reatividade pela infecção pelo *T. pallidum*. É dividida em latente recente (< 1 ano de infecção) e tardia acima de um ano de infecção^{7,14,15,16,17,18}.

Na sífilis terciária ocorre entre 1 a 40 anos depois do início da infecção, em 15% a 25% das infecções não tratadas, após um período variável de latência, que se caracteriza de forma mais grave com acometimento dos sistemas cardiovascular, destruição tecidual, formação de gomas sífilíticas, tumorações com tendência a liquefação na pele, mucosas, ossos ou outros tecidos, sendo que essas lesões podem causar desfiguração, sistema nervoso central, incapacidade e morte^{7,14,15,16,17,18}. Uma observação que vale ser ressaltada que o acometimento do sistema nervoso central pode ocorrer na fase primária, pois o patógeno é capaz passar a barreira hemato-encefálica. A sífilis cardiovascular representa 10 a 15% das doenças cardiovasculares, sendo a manifestação mais comum a aortite sífilítica que envolve a aorta ascendente e apresenta regurgitação aórtica, e pode ser assintomática e sintomática^{7,14,15,16,17,18}. A estenose ostial coronariana ocorre em 20% dos pacientes com insuficiência aórtica sífilítica, com angina e raros casos de infarto do miocárdio^{7,14,15,16,17,18}. Os aneurismas são saculares em vez de fusiformes e com envolvimento da aorta ascendente^{7,14,15,16,17,18}.

A neurosífilis, dividida em cinco categorias assintomática, meníngea, meningovascular, parenquimatosa e gomosa, ocorre quando as espiroquetas passam a barreira hematoencefálica atingindo o líquido cefalorraquidiano (LCR), num período de 5 a 10 anos após a infecção inicial não tratada ou tratada inadequadamente, podendo evoluir para resolução espontânea, meningite assintomática, meningite sífilítica aguda ou meningovascular com quadro de

vertigem, insônia e alterações de personalidade, e esses sintomas são seguidos de envolvimento arterial generalizado ou focal, evoluindo para complicações decorrentes de acidente vascular cerebral com perda de consciência e convulsões^{7,14,15,16,17,18}. A sífilis parenquimatosa tardia surge duas a três décadas após a infecção e apresenta paresia ou tabes dorsalis^{7,14}.

Na sífilis congênita o *T. pallidum* pode ser transmitido da corrente sanguínea da mulher infectada para o feto em desenvolvimento durante a gravidez, embora o risco de infecção fetal seja maior durante a sífilis precoce, que ocorre no primeiro ano de infecção, do que em estágios posteriores, e quando o tratamento inicia tardiamente ou a ausência, pode resultar nascimento de um bebê infectado, dano fetal ou morte^{7,14,15,16,17,18}. Os efeitos destrutivos como parto prematuro, aborto espontâneo e natimorto, depende da resposta imune do feto^{7,14,15,16,17,18}. Os achados clínicos nos bebês afetados são baixo peso, e em casos graves hemorragia pulmonar, infecção bacteriana secundária e hepatite grave causam a morte de aproximadamente 4% dos recém-nascidos infectados por *T. pallidum*^{7,14,15,16,17,18}. A sífilis congênita é dividida assintomática e sintomática apresentando manifestações precoces que ocorrem entre 2 a 10 semanas após o parto como: anemia, hepatoesplenomegalia, envolvimento renal e icterícia e manifestações que aparecem após 10 semanas, com ceratite intersticial, surdez do oitavo nervo, e pode ocorrer neurosífilis assintomática e sintomática, artropatia, derrames bilaterais de joelhos e cotovelos (articulações de Clutton) e periostite gomosa do palato e septo nasal, dentes de Hutchinson^{7,14,15,16,17,18}.

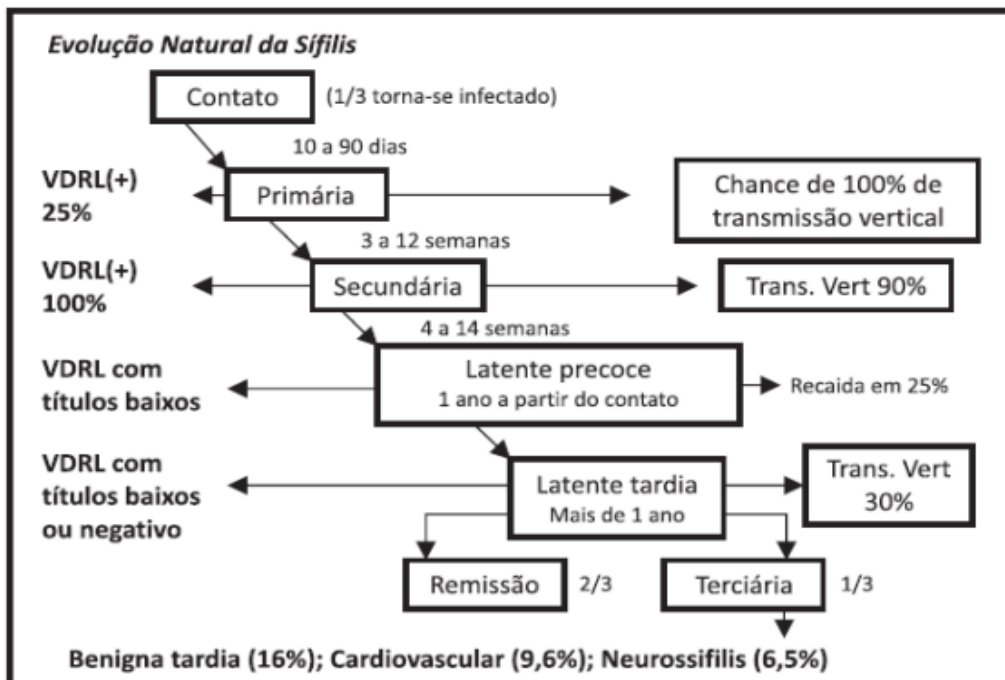


Figura 2 - Representação da evolução natural da sífilis.

Fonte: São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde, 2016¹⁹.

De acordo com os dados da Organização Pan-Americana da Saúde/Organização Mundial de Saúde (OPAS/OMS), estima que mundialmente existe 7,1 milhões de casos de sífilis, e desses 2,5 milhões está presente nas Américas²⁰.

Na União Europeia (EU)/Espaço Econômico Europeu (EEE), a partir de 2010 (4,4 casos/1.000.000 para 6,1 casos/1.000.000 em 2016) houve um aumento crescente dos casos de sífilis em 28 países de alta renda, principalmente em homens que fazem sexo com homens (HSH), entretanto, observa-se um aumento de casos entre as mulheres, gestante e congênito (transmissão vertical da sífilis), são preocupantes devido ao alto risco de natimortos e muitas complicações e sequelas graves¹⁸.

De acordo com o Centro de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA, desde 2000, a taxa de sífilis está aumentando (8,0 vezes) afetando principalmente populações minoritárias (baixo status socioeconômico, acesso precário aos cuidados de saúde e baixa consciência dos riscos à saúde e alfabetização) e no grupo de homens que fazem sexo com homens (HSH), na faixa etária de 20 a 29 anos^{20,21}.

O ressurgimento da sífilis é uma questão grave e problemática no campo das doenças infecciosas, pois a doença era comum até década de 60, mas parecia ter sido controlada no Japão em 1990, apresentando de 500 a 800 casos anuais²². A partir de 2010 o número de casos de sífilis aumentou exponencialmente, chegando a 4.546 casos em 2016, entre homens e mulheres jovens²².

Na China, entre 2013 e 2018, a sífilis foi epidêmica no distrito de Haidian, em Pequim, aonde a alta prevalência vem aumentando desde 2016 (média anual de 14,26 por 100.000 habitantes), em homens (proporção entre homens e mulheres foi de 1,52:1) jovens e de meia-idade, que vivem em áreas urbanas, com situação social do lar ou desempregados²³. A sífilis latente esteve presente em 66,83% dos pacientes, representando uma proporção crescente de casos de sífilis a cada ano²³.

Na Turquia, a alta prevalência de sífilis (precoce foi detectada em 4,6% e a tardia em 44,5%) foi observada em HSH infectados pelo HIV, fez com que as autoridades de saúde pública implantassem medidas para prevenir a infecção neste grupo de paciente, pois infecções não tratadas podem levar a uma variedade de complicações com risco de vida após um longo estágio latente assintomático. Indivíduos com sífilis apresentam um risco 2 a 9 vezes maior de

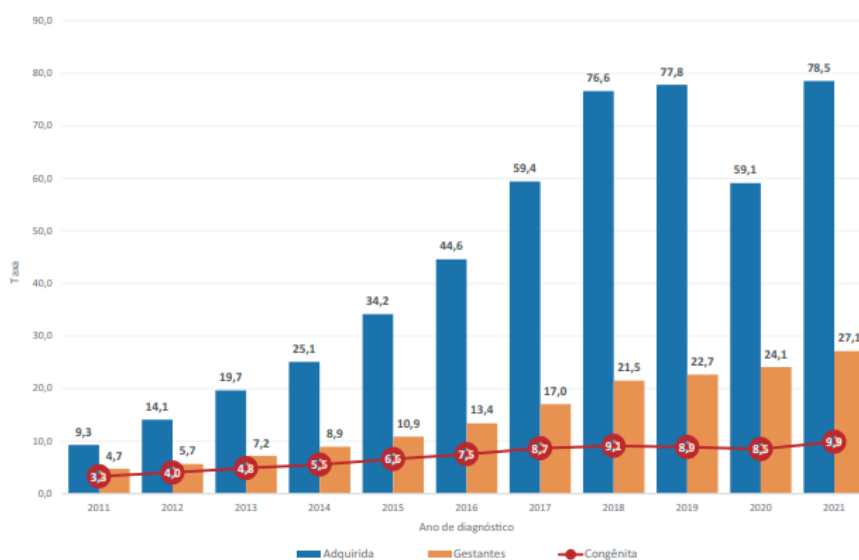
infecção pelo HIV, e o inverso também é significativo, pois as infecções por HIV também aumentam o risco de sífilis primária e secundária²⁴.

A sífilis está aumentando no Canadá com seu ressurgimento nas últimas duas décadas, em que as taxas mais que dobraram de 2008 a 2017, o maior aumento de todas as IST's. Entre 2005 e 2018, a sífilis infecciosa aumentou mais de 4 vezes na Unidade de Saúde de Middlesex-London²⁵. As taxas de sífilis são uma preocupação de saúde pública no Canadá, com várias jurisdições relatando surtos nos últimos cinco anos, sendo que esses dados ainda podem estar subestimados, pois muitos indivíduos com sífilis assintomática, não acessam os serviços de saúde e/ou centros para IST para realizar testes sorológicos^{25,26}.

Na América Latina e no Caribe, a prevalência de sífilis aumentou principalmente nos grupos HSH, transgênero e profissionais do sexo e seus clientes, identificando áreas geográficas críticas para essa tendência²⁷. Muitos países, incluindo o México, têm informações e relatórios escassos. É urgente evidenciar o crescente número de casos e dar atenção especial a essa velha doença, ainda mais em populações vulneráveis. Segundo Orbe-Orihuela, os indivíduos com sífilis, principalmente no grupo HSH, apresentam mutações genéticas (A2058G e A2059G), que conferem resistência aos antibióticos, tornado um sério problema de saúde pública²⁸.

No Brasil, a sífilis é uma doença de notificação compulsória, e atualmente está inserida na 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 pela atualização da Portaria nº 420 de 02 de março de 2022¹⁷.

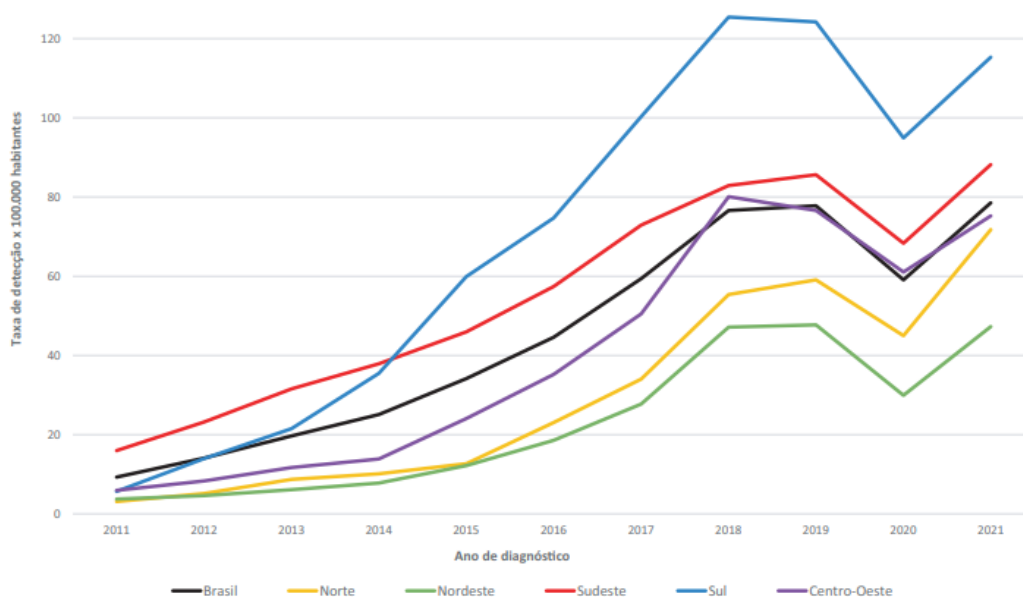
Entre 2011 a 2021, foram notificados no Brasil os seguintes casos de sífilis: 1.035.942 adquirida, 466.584 gestantes, 221.600 congênita e 2.064 óbitos pela sífilis congênita¹⁷. A sífilis adquirida teve um aumento na taxa de detecção entre 2018 a 2021, exceto em 2020 onde houve uma diminuição dos casos por causa da pandemia por Covid-19, sendo que a maioria dos casos notificados foram homens (60,6%), sendo a razão de 17 homens para cada dez mulheres com sífilis, nas faixas etárias de 20 a 29 anos (35,6%) e 30 a 39 anos (22,3%) (Figura 3)¹⁷. Nos adolescentes (13 a 19 anos) houve um aumento de 2,2 vezes entre 2015 à 2021 nos casos de sífilis adquirida e a razão foi de sete homens para cada dez mulheres com sífilis¹⁷.



Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), atualizado em 30/06/2022.

Figura 3 - Taxa de detecção de sífilis adquirida (por 100.000 habitantes), taxa de detecção de sífilis em gestantes e taxa de incidência de sífilis congênita (por 1.000 nascidos vivos), segundo ano de diagnóstico. Brasil, 2011 a 2021. Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2022¹⁷.

No Brasil, em 2021, foram notificados 167.523 casos de sífilis, sendo na região Sudeste 79.046 (47,2%), Sul 35.061 (20,9%), Nordeste 27.274 (16,3%), Norte 13.568 (8,1%) e 12.574 (7,5%) na região Centro-Oeste¹⁷. A taxa de detecção elevou-se em 59,5% na região Norte, 58,1% Nordeste, 29,0% Sudeste, 21,5% Sul e 23,2% Centro-Oeste (Figura 4)¹⁷.



Fonte: Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan), atualizado em 30/06/2022.

Figura 4 - Taxa de detecção de sífilis adquirida (por 100.000 habitantes) segundo região de residência e ano de diagnóstico, Brasil, 2011 a 2021. Fonte: Brasil. Ministério da Saúde, 2022¹⁷.

Os fatores de risco associados à sífilis adquirida são comportamento sexual, sorodiscriminação (*serosorting*) entre usuários de drogas endovenosas (PLWH) e usuários de crack e cocaína (PWUCC), múltiplos parceiros sexuais, indivíduos portadores do vírus HIV, HSH, transgênero e profissionais do sexo e seus clientes, mulheres grávidas, jovens e uso de profilaxia pré-exposição (PrEP), para compensar

o comportamento de risco do HIV, que pode levar a um aumento de ISTs. Além, de sites de redes sociais ou aplicativos de dispositivos móveis, o aumento do número de parceiro e a não utilização de preservativos aumentam os riscos de doenças sexualmente transmissíveis^{27,28,29,30,31,32}. Nos últimos 30 anos, a associação da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e sífilis representa um risco aumentado, e adquirir um novo potencial de morbidade e mortalidade³³. A alta prevalência de doenças sexualmente transmissíveis geralmente ocorre em conjunto e a infecção por sífilis, que é um preditor altamente preciso para a infecção subsequente por HIV²⁰.

Com isso a OMS visa reduzir a incidência mundial de sífilis em 90% entre 2018 e 2030, para atingir essa meta, serão necessárias intervenções nos grupos com alta prevalência, incluindo HSH³⁴.

1.2 Hemovigilância no Brasil

A transfusão de sangue salva vidas, entretanto, há riscos associados à transmissão de infecções transmitidas pelo sangue. A mais de um século, o processo transfusional vem evoluindo, desde a descoberta do sistema ABO por Karl Landsteiner em 1900, até nas últimas três décadas com a incorporação de conhecimentos clínico-epidemiológicos e laboratoriais⁷.

A hemotransfusão é um processo seguro, contudo não é isento de riscos, pois podem ocorrer eventos indesejados com o uso de sangue nas várias etapas da terapia transfusional, sendo necessário ter conhecimento para prevenir danos aos

pacientes, doadores e profissionais. Mundialmente, a hemovigilância iniciou devido à ocorrência de infecções transmitidas por via sanguínea, e medidas são necessárias para minimizar os riscos durante os processos, e garantir hemocomponentes seguros para suas diversas finalidades³⁵.

No mundo, estatisticamente o número de doações não suprem as necessidades transfusionais, isso ocorre devido à dificuldade na captação de doadores de sangue no Brasil e no mundo principalmente em países onde há uma política que proíbe a comercialização do sangue³⁶.

Segundo dados do Ministério da Saúde de 2020, 16 (0,016%) a cada mil habitantes são doadores de sangue, sendo 60% são do sexo masculino e 40% sexo feminino³⁷.

O fornecimento de sangue e hemocomponentes de forma segura e eficaz para transfusão, ou para o uso na fabricação envolve uma série de processos, desde a seleção de doadores de sangue, coleta, processamento, triagem, fluxo de sangue compatível, e a sua administração ao paciente. Em cada fase do processo há um risco de erro, que pode ter sérias implicações para os receptores de sangue, especialmente em relação à transmissão por agentes infecciosos pelo sangue⁷.

Todos os anos, milhões de pessoas são submetidas a riscos por exposição à transfusão de sangue inseguro⁷. De acordo com um banco de dados global 6 milhões do total de 81 milhões de unidades de sangue coletadas anualmente em 178 países, não são testadas para infecções transmitidas por meio de transfusão³⁸.

Os agentes infecciosos de importância para os serviços de hemoterapia são aqueles transmissíveis pela doação de sangue, podendo levar à morbidade e

mortalidade dos receptores^{9,39}. Para ser transmissível pelo sangue, o agente infeccioso, ou infecção, geralmente tem as seguintes características: presença no sangue durante longos períodos; às vezes em grande quantidade, estabilidade no sangue armazenado a 4°C ou menos, longo período de incubação antes do aparecimento dos sinais clínicos, fase assintomática ou oligossintomática no doador de sangue, portanto, não identificáveis durante o processo de seleção de doadores^{11,39}. Assim, os testes minimamente recomendados pela Organização Mundial de Saúde são: antígeno de superfície da Hepatite B (HBsAg), anticorpos para hepatite C, antígeno e anticorpos para o HIV subtipos 1 e 2 e testes sorológicos para sífilis⁴⁰. Em 2006 a OMS relatou que 56 de 124 países pesquisados não aplicam estes testes básicos de triagem em todas as doações de sangue⁴¹.

A co-infecção por HIV e *Treponema pallidum* é presente desde a década de 80 .⁴². A detecção precoce da co-infecção permite implementar estratégias terapêuticas para controlar a evolução da doença e conter a sua transmissão na população geral⁴².

O risco de transmissão da sífilis transfusional pelo sangue é mínimo, devido à melhoria na seleção e triagem sorológica de doadores, e a mudança de transfusão de sangue fresco para hemocomponentes refrigerados. Entretanto, concentrados de plaquetas, apesar de ser armazenado em bolsa com fluxo de oxigênio, que minimiza a infectividade e a sobrevivência do *Treponema pallidum*, mas que continua sendo um produto com risco de transmissão de sífilis³⁵. Além disso, o relaxamento dos critérios de seleção de doadores para permitir a doação de grupos em risco de infecções transmitidas por transfusão (TTIs), e a não conformidade dos doadores com as

perguntas da entrevista de triagem podem representar risco para os receptores. Nos países desenvolvidos, onde a triagem para ITT é universal, o risco de infecção dos receptores diminuiu nas últimas décadas³¹. Em países de baixa renda, 47% das doações são testadas em laboratórios sem garantia de qualidade³¹. Em centros onde a triagem de sífilis não é realizada, os receptores de transfusão de sangue correm o risco de contrair sífilis transmitida por transfusão, conforme relatado recentemente em Gana³¹.

O monitoramento do perfil de doadores de sangue infectados com sífilis é necessário para aumentar a segurança da transfusão de sangue³².

Os doadores de alto risco para doenças sexualmente transmissíveis não devem ser incentivados a doar sangue, pois algumas IST's são transmissíveis via sanguínea e representam riscos aos receptores, principalmente se a doação ocorrer durante o período de janela imunológica^{31,32,35}. Entrevistas pós-doação com doadores de sangue soropositivos podem ajudar a compreender os fatores de risco para as infecções mais prevalentes em determinada localidade, e as motivações para doar sangue, podem ajudar na compreensão do por que das pessoas doarem sangue^{31,32,33}. Consequentemente, estas entrevistas podem melhorar os procedimentos de recrutamento e seleção de doadores, minimizando os riscos para os receptores, e evitar o desperdício de recursos³³. Um estudo anterior, na cidade de São Paulo constatou que fatores como: ser mais jovem, referir sexo entre homens, orientações bissexuais e ter tido dois ou mais parceiros sexuais nos últimos 12 meses, foram associados com infecção recente por sífilis entre os doadores³³.

Vale ressaltar que a monitorização contínua do perfil de doadores infectados com sífilis é desejável para melhorar a segurança transfusional³³.

Embora a sífilis seja uma doença sexualmente transmissível curável, anualmente, surgem 12 milhões de novos casos desta doença em todo o mundo. Um quarto destes surge na América Latina⁴³. Em 2021, o Ministério da Saúde registrou a incidência de mais de 167 mil casos de sífilis adquirida, e 74 mil casos em gestantes, e em junho de 2022 foram mais de 122 mil casos de sífilis, sendo 79,5 mil adquirida, 31 mil em gestantes e 12 mil congênita⁴⁴.

Até 1964, o controle hemoterápico foi praticamente nulo, a partir desse ano, após o golpe, o governo militar, despertou para a necessidade de uma reserva de sangue para suprir em caso de conflitos armados³⁵. Em 30/6/64 estabelece o Dia Nacional do Doador Voluntário de Sangue pelo decreto 53.988, em outubro estabelece pelo decreto 54.494, de 16/10/64, um grupo de trabalho para elaborar as bases da política nacional do sangue e Comissão Nacional de Hemoterapia (CNH), para fiscalizar e executar essa política³⁵. Em 1965, a CNH, pela lei 4.761-28/6/65, elaborou as bases da Política Nacional de Sangue, para estabelecer reserva de sangue, produção de hemoderivados, médico como responsável pelas atividades transfusionais e incentivar a doação voluntária³⁵.

A portaria CNH 4, de 25/9/1969, dispõe sobre a coleta e transfusão, que não deve apresentar riscos ao doador e receptor, deve ser inerente ao processo hemoterápico, como as condições de rejeição definitiva ou provisória, aceite condicional de candidato a doação, modelo de "carteira de doador de sangue", e, sobre estabelecer as provas sorológicas para sífilis e doença de Chagas³⁵. Na

década de 80, com o aparecimento da AIDS, percebe-se a necessidade de uma nova intervenção em garantir a qualidade do sangue, por isso, o governo estabelece a obrigatoriedade do cadastramento dos doadores de sangue bem como a realização de exames laboratoriais no sangue coletado, visando a prevenir a propagação de doença, pela Lei N° 7.649, de 25 de janeiro de 1988³⁵. De acordo com a Portaria N° 721 (9 de agosto de 1989) do Ministro da Saúde, determina que o sangue humano não pode ser comercializado, e que os processos transfusionais devem ser de qualidade, principalmente na era AIDS, pois foi fonte de transmissão em 8,8% dos casos, e assim, que haja a uniformização de normas e procedimentos a serem aplicados nos hemocentros públicos, serviços filantrópicos e privados em todo o país³⁵. Na Portaria N° 1.376 (19 de novembro de 1993) estabelece alterações na Portaria nº 721/GM, que aprova Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, e dá outras providências, mostrando uma preocupação principalmente em relação às doenças infecciosas, como o HIV e suas co-infecções, em relação à sífilis, os doadores com sorologia negativa e comprovada pode doar sangue³⁵. Os testes sorológicos para sangue total podendo ser realizada sorologia prévia ao procedimento (válidos por dez dias), para testes de exclusão das hepatites dos tipos B e C, doença de Chagas, sífilis, SIDA/AIDS, dos anticorpos anti-HTLV-I/II e anti-HBc, e recomenda-se a realização de testes para exclusão de malária³⁵. A Portaria nº 2.135 (22 de dezembro de 1994) apresenta alterações na Portaria 1376/93, sobre Normas Técnicas para coleta, processamento e transfusão de sangue, componentes e derivados, observando que o sangue deve apresentar qualidade, não ser veículo para doenças transmissíveis,

realizando as reações sorológicas para hepatite B e C, SIDA/AIDS, sífilis, doença de Chagas, anti-HBc e anti-HTLVI / II^{35,45}. As portarias subsequentes dispõem para a melhoria no diagnóstico como a introdução de Programa de Controle de Qualidade Externo (Portaria n.º 1.544, 15/10/1997 - Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia e Imunohematologia e Portaria nº 1.840, 13/09/1996 - Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia para Unidades Hemoterápicas-PNCQES)^{46,47}. O Ministério da Saúde, garantir a qualidade do sangue, estabelece as portarias subsequentes nos serviços de hemoterapia no país para aprimorar a qualidade na testagem sorológica das doenças transmitidas pelo sangue (Portaria nº 488, de 17 de junho de 1998 – Procedimentos sequenciados para detecção de anticorpos anti-HIV, que deverão ser seguidos pelas unidades hemoterápicas, públicas ou privadas, visando à redução de resultados falso-positivos ou falso-negativos; Portaria nº 2080, de 31 de outubro de 2003 – Programa Nacional para Prevenção e Controle das Hepatites Virais, o Comitê Técnico de Acompanhamento e Assessoramento do Programa; Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n.º 153, de 4 de junho de 2004, Portaria nº 112, de 29 de janeiro de 2004 – Implantação, no âmbito da Hemorrede nacional, da realização dos testes de amplificação e detecção de ácidos nucléicos (NAT), para HIV e HCV e Portaria nº 787, de 29 de abril de 2004 – Implantações dos testes de amplificação de ácidos nucléicos – NAT, em sua primeira etapa; Portaria nº 151, de 14 de outubro de 2009 – Fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV)^{48,49,50,51,52,53}.

Atualmente, a garantia do ciclo do sangue estão estabelecidas na Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n.º 034 (11/06/2014) e Portaria Nº 158 (4 de fevereiro de 2016), em relação a seguridade na obrigatoriedade na realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade a cada doação, para detecção de marcadores para as infecções transmissíveis pelo sangue, independente de resultados de doações anteriores, segundo critérios determinados na Resolução e nas demais normas do Ministério da Saúde, sendo para Sífilis: um teste para detecção de anticorpo anti-treponêmico ou não treponêmico; Doença de Chagas: um teste para detecção de anticorpo anti-T. Cruzi; Hepatite B (HBV): um teste para detecção do antígeno de superfície do vírus da hepatite B (HBsAg) e um teste para detecção de anticorpo contra o capsídeo do vírus da hepatite B (anti-HBc), com pesquisa de IgG ou IgG + IgM; Hepatite C: dois testes em paralelo: um teste para detecção de anticorpo anti-HCV ou detecção combinada de antígeno/anticorpo; e um teste para detecção de ácido nucléico do vírus HCV por técnica de biologia molecular; HIV 1 e 2: dois testes em paralelo: um teste para detecção de anticorpo anti-HIV (que inclua a detecção do grupo O) ou um teste para detecção combinada de antígeno/anticorpo (que inclua a detecção do grupo O); e um teste para detecção de ácido nucléico do vírus HIV por técnica de biologia molecular; e HTLV I/II: um teste para detecção de anticorpo anti-HTLV I/II^{36,54}.

Desde 1938 é realizada a sorologia para sífilis em doadores de sangue, atualmente com a realização de exames laboratoriais de alta sensibilidade na detecção de marcadores para as seguintes infecções transmissíveis pelo sangue: I - sífilis; II - doença de Chagas; III - hepatite B; IV - hepatite C; V – HIV I/II; e VI –

HTLV I/II. Os exames são realizados em laboratórios específicos para triagem laboratorial de doadores de sangue, com conjuntos diagnósticos (kits) próprios para esta finalidade e com registro na ANVISA⁵⁵.

O diagnóstico laboratorial da sífilis pode-se utilizar os testes treponêmicos e não treponêmicos. A diferença entre esses dois testes está relacionada nos que detectam anticorpos não específicos contra *T. pallidum* (não treponêmicos) e os que detectam anticorpos específicos para o antígeno de *T. pallidum* (treponêmicos) (Figura 5)⁸.

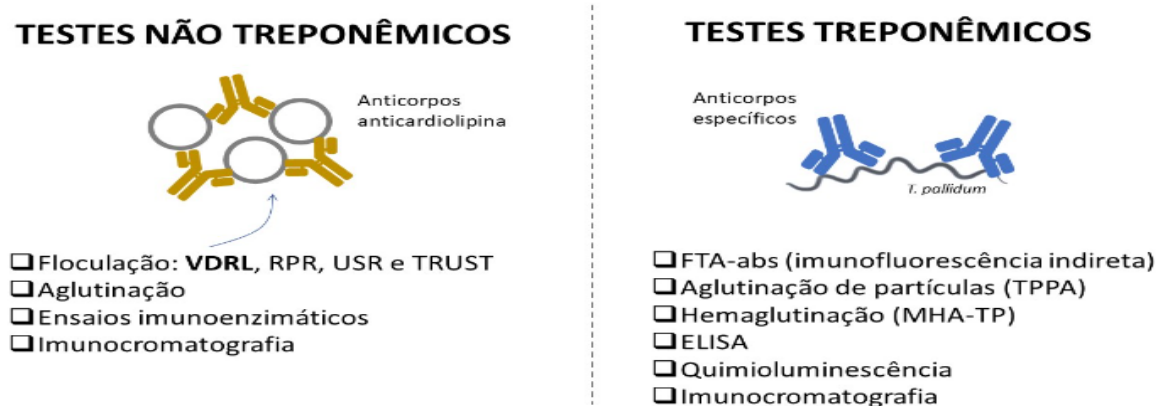


Figura 5 – Representação dos testes não treponêmicos e treponêmicos. Fonte: Câmara, 2021⁵⁶.

Nos testes não-treponêmicos, VDRL é o mais usado na rotina de triagem sorológica dos bancos de sangue, seguido pelo teste treponêmico, teste de enzima imunoensaio (EIA), teste de fluorescência (FTA-ABS) e teste de hemaglutinação por proteína treponêmica (TPHA).⁵⁸ A escolha do teste para detecção de sífilis depende do estágio da doença, e podem ser utilizados para triagem de indivíduos assintomáticos ou sintomáticos (Figura 6)⁸.

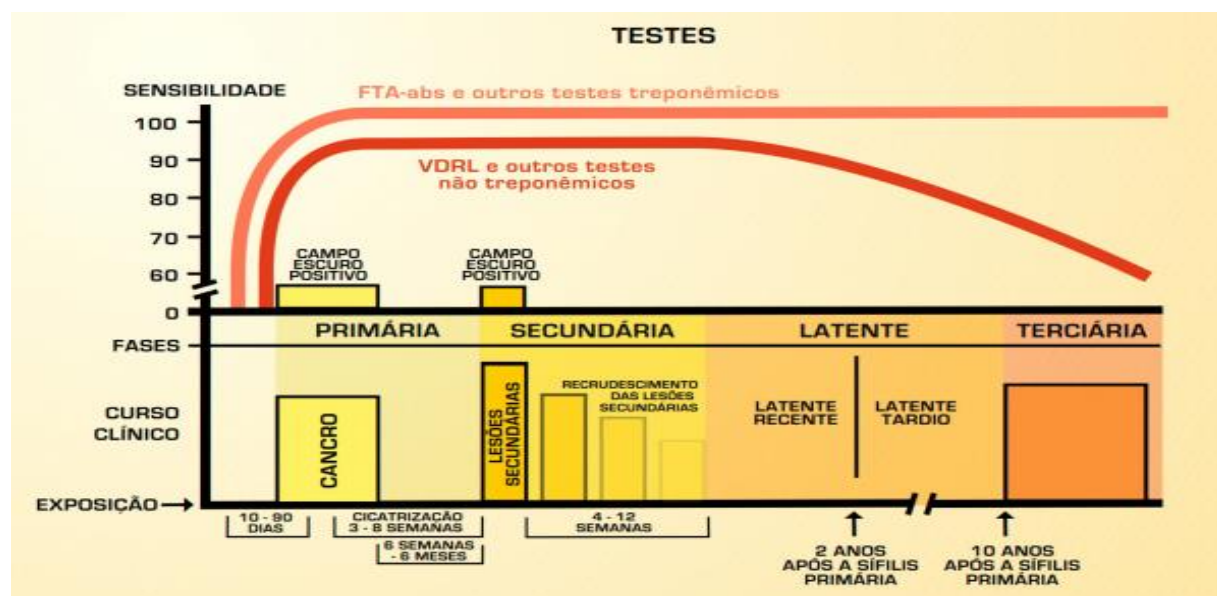


Figura 6 – Relação entre os testes diagnósticos para sífilis e as fases da doença.
Fonte: Ministério da Saúde, 2010⁸.

Os testes sorológicos foram desenvolvidos desde 1907, e vem sendo aperfeiçoados de acordo com a necessidade de produzir kits diagnósticos mais sensíveis e específicos para determinadas doenças, reduzindo os casos de reações cruzadas (Figura 7)⁸.

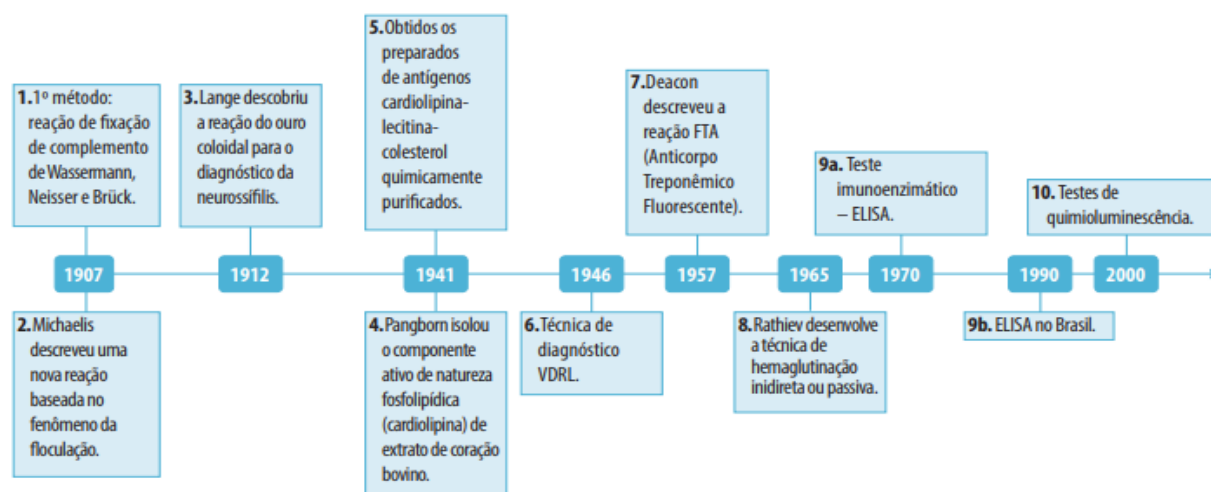


Figura 7 – Linha cronológica referente ao desenvolvimento do diagnóstico da sífilis.
Fonte: Ministério da Saúde, 2010⁸.

Os testes não treponêmicos podem ser: qualitativos, teste de triagem para detectar reagente ou não reagente, e quantitativos em que determinam o título de anticorpos detectável na amostra (Figura 8)^{8,15}. Os testes não-treponêmicos detectam anticorpos contra produtos sintetizados durante a infecção treponêmica como a anticardiolipínicos, reagínicos ou lipoídicos (fosfolipídeos)^{8,15}. Os anticorpos para os fosfolipídeos não são produzidos, apenas, na infecção pelo *T. pallidum*, mas também, em baixas concentrações, após a infecção por outros microrganismos, em doenças associadas à inflamação como as alterações autoimunes e durante a gravidez^{8,15}. São amplamente utilizados na rotina laboratorial para detecção da sífilis, mesmo que de maneira inespecífica, por serem rápidos, práticos e de baixo custo⁸. Neste tipo de teste é realizado por meio da titulação, sendo considerada a última diluição com reatividade ou floculação perceptível⁸.

Técnica	Testes
Floculação	VDRL (<i>Venereal Disease Laboratory</i>) RPR (<i>Rapid Test Reagin</i>) USR (<i>Unheated Serum Reagin</i>) TRUST (<i>Toluidine Red Unheated Serum Test</i>)
Aglutinação	Testes Rápidos – TR
Imunoenzimáticos (ELISA)	ELISA (<i>Enzyme – linked immunossorbent assay</i>)
Imunocromatográficos	Testes Rápidos – TR

Figura 8 – Relação dos testes não treponêmicos para detecção do *T. pallidum* em soro ou plasma. Fonte: Ministério da Saúde, 2010⁸.

Os testes de floculação consistem numa suspensão antigênica com cardiolipina, colesterol e lecitina, e a reação ocorre com a ligação desses componentes formando uma micela (Figura 9)⁸.

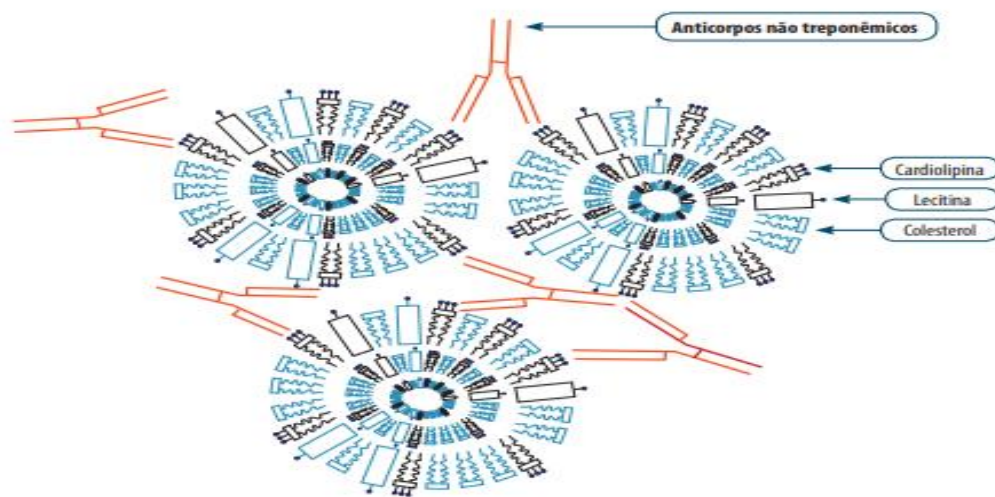


Figura 9 – Representação da reação de floculação, na qual os anticorpos não treponêmicos se ligam em várias micelas. Fonte: Ministério da Saúde, 2021¹⁵.

O *Veneral Disease Research Laboratories* (VDRL) é o teste não-treponêmico clássico. Consiste em uma pesquisa de anticorpos anticardiolipínicos, por meio de uma solução alcoólica contendo cardiolipina, lecitina e colesterol^{8,15,57,58}. É o teste de triagem mais utilizado na rotina laboratorial, tanto qualitativamente na detecção da sífilis, quanto quantitativamente, pelo monitoramento da infecção e avaliação do tratamento^{8,15,57,58}. Necessita de um processo de inativação do soro por aquecimento em banho-maria e no preparo da solução antigênica^{8,15,57,58}. A visualização da reação de floculação é realizada em microscópio óptico^{8,15,57,58}. A importância de utilizar controles internos com titulação positiva, como garantia da qualidade da reação^{8,15,57,58}. Entretanto, o VDRL apresenta limitações, como pouca

sensibilidade (74% a 87%) nas fases recente e latente tardia^{8,15,57,58}. Reações falso-positivas associadas com a gravidez, doenças autoimunes e pela infecção por outros microrganismos podem ocorrer^{8,15,57,58}. Reações falso-negativas, também, são encontradas devido a erros na técnica e ao efeito prozona (1% a 2%)^{8,15,57,58}. Pela falta de especificidade, o VDRL, com níveis baixos de anticorpos, normalmente é confirmado utilizando testes sorológicos treponêmicos, como o teste de Microaglutinação passiva para anticorpos *T. pallidum* (MHA-TP) (Figura 10)^{8,15,57,58}. O VDRL é o único teste que pode ser utilizado na detecção do *T. pallidum* no líquido^{8,15,57,58}.

O RPR é uma variação do VDRL, realizada em um cartão de látex, contendo círculos de aproximadamente 18 mm, onde é feito o teste com a adição da suspensão colesterol/cardioplipina/lecitina^{8,15,57,58}. Não é necessária a utilização de microscópio e inativação do soro, porém, o RPR apresenta os mesmos problemas técnicos, encontrados no VDRL, relacionados aos resultados falso-positivos e falso-negativos^{8,15,57,58,59}.



Teste	Composição antigênica
VDRL (Venereal Disease Laboratory)	<ul style="list-style-type: none"> ■ cardiolipina (0,03%); ■ colesterol (0,9%); e ■ lecitina (0,21 +/- 0,1%). 
RPR (Rapid Plasma Reagin)	<ul style="list-style-type: none"> ■ cardiolipina; ■ colesterol; ■ lecitina; ■ cloreto de colina para eliminar a necessidade de inativação da amostra; ■ EDTA para aumentar a estabilidade da suspensão antigênica; e ■ carvão para permitir a leitura da reação a olho nu. 
USR (Unheated Serum Reagin)	<ul style="list-style-type: none"> ■ cardiolipina; ■ colesterol; ■ lecitina; ■ cloreto de colina; e ■ EDTA.
TRUST (Toluidine Red Unheated Serum Test)	<ul style="list-style-type: none"> ■ cardiolipina; ■ colesterol; ■ lecitina; ■ cloreto de colina; ■ EDTA; ■ corante vermelho de toluidina para permitir a leitura da reação a olho nu.

Figura 10 – Relação dos testes de floculação para detecção do *T. pallidum* em soro ou plasma.
Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2010⁸.

Os testes treponêmicos são práticos e com vasta uso na confirmação da sífilis, mas podem apresentar resultados falso-positivos, devido ocorrer reações cruzadas com doença de Lyme e cicatriz sorológica de infecção sífilítica prévia (Figura 11)^{8,15,59,60}.

O teste sorológico por Absorção de Anticorpos Treponêmicos Fluorescentes (FTA-ABS) é uma técnica de imunofluorescência indireta (IFI) utilizado como teste confirmatório para a infecção por treponema, pois determina a presença de

anticorpos específicos contra a bactéria. A sensibilidade do teste na sífilis recente varia entre 70 à 100% e a especificidade varia de 94 a 100%^{7,8,15,61}.

Técnica	Testes
Imunofluorescência indireta	FTA-abs (<i>Fluorescent treponemal antibody absorption</i>)
Hemaglutinação	MHA-TP (microhemaglutinação para <i>Treponema pallidum</i>)
Aglutinação de partículas	TPPA (<i>Treponema pallidum particle agglutination assay</i>)
Imunoenzimáticos e suas variações	ELISA (<i>Enzyme-linked immunossorbent assay</i>), CMIA (Ensaio imunológico quimioluminescente magnético)
Imunocromatografia e fluxo lateral	Testes rápidos
Testes moleculares	PCR

Figura 11 – Relação dos testes treponêmicos para detecção do *T. pallidum* em soro ou plasma. Fonte: Ministério da Saúde, 2010⁸.

O teste de ELISA e suas variações como o método de quimioluminescência pode ser usado para triagem sorológica de doadores de sangue ou como teste confirmatório para sífilis^{7,8,11,15}. No teste se pesquisa a detecção de anticorpos da classe IgG ou IgM no soro do paciente. Tem alta especificidade (97 a 100%) e sensibilidade (92 a 100%), comparável ao FTA–ABS^{7,8,11,15}.

Os testes imunoenzimáticos (ELISA), e suas variações como método de quimioluminescência, são testes treponêmicos, que são fixados em fase sólida com antígeno recombinante G de *Treponema pallidum*, que se ligam aos anticorpos na amostra do paciente, e podem ser realizados em equipamentos semi ou automatizados, de acordo com o protocolo do fabricante^{8,15}.

O teste de Microaglutinação Passiva para Anticorpos *T. pallidum* (MHA-TP) apresenta similaridade em relação à sensibilidade com o FTA-ABS, exceto na fase

inicial da doença, que o IFI é mais sensível^{8,11,15}. Esse teste se baseia na técnica de hemaglutinação, em que são utilizados eritrócitos de carneiro, ligados a antígenos, derivados da cepa Nichols, do *T. pallidum*^{8,11,15}. O soro do paciente que contém anticorpos treponêmicos reage com os eritrócitos resultando em aglutinação^{8,11,15,59}. Esse teste é utilizado para confirmação de resultados positivos de VDRL ou RPR com titulação baixa (inconclusivo)^{8,11,15,59}. O MHA-TP, detecta anticorpos nas fases iniciais da infecção (entre o quinto e o décimo dia do cancro), em relação aos outros métodos sorológicos^{8,11,15,57}.

Os testes rápidos (TR) utilizam a metodologia por imunocromatográficos, que detectam somente um marcador, no caso para a detecção de anticorpos treponêmicos, e os TR que investigam concomitantemente mais de um marcador, como anticorpos anti-HIV e anticorpos anti-treponêmicos num mesmo dispositivo, denominados Combo ou Duo, demonstraram desempenho semelhante (sensibilidade e especificidade) quando comparados aos testes rápidos que detectam apenas um marcador, e ambos são aprovados pelo Ministério da Saúde como a Organização Mundial de Saúde (Figura 12)^{8,15,62}.

O teste INNO-LIA é um imunoensaio em linha (LIA) que utiliza antígenos de três proteínas dominantes do *T. pallidum* (TpN47, TpN17 e TpN15), mais especificamente da cepa Nichols, expressos como proteínas de tamanho real em DNA plasmidial de *Escherichia coli* e um peptídeo sintético (TmpA) derivado da proteína transmembrânica A⁷⁴.

As técnicas para detecção molecular mais eficazes na detecção de DNA de *Treponema pallidum*, utilizam o ensaio PCR nested (boa sensibilidade – 91%; e especificidade (depende no diagnóstico da sífilis primária e secundária) e aplicando os genes alvos o pol A etpp47, apresentam regiões conservadas no genoma do *T. pallidum*, com melhor aplicabilidade no diagnóstico da sífilis^{8,15,61,63}.

Os estudos para detecção do microrganismo pela técnica de PCR utilizaram amostras de úlceras genitais, onde se há uma concentração maior de microrganismos (Figura 13)^{64,65}. Porém, o diagnóstico por PCR, pode ser utilizado para amostras de fluído amniótico, soro ou Líquido Céfalo-Raquidiano (LCR)⁶⁶. O teste ainda é, praticamente, exclusivo de laboratórios de pesquisa⁶¹.

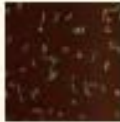



Teste treponêmico	Porque é utilizado
<p>FTA-abs (<i>Fluorescent treponemal antibody absorption</i>)</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ É considerado o teste de referência ou padrão ouro dentre os testes treponêmicos. ■ Pode ser feito com amostras de soro ou plasma. ■ É o primeiro teste a se tornar reagente após a infecção, tendo bom desempenho no diagnóstico da sífilis primária em usuários que apresentam o cancro duro com mais de 10 dias de evolução. ■ É importante também para o esclarecimento do diagnóstico de usuários com evidência clínica de sífilis que apresentaram resultados não reagentes nos testes não treponêmicos, situação que pode ocorrer em amostras de pacientes com sífilis primária, latente recente ou tardia.
<p>Testes de hemaglutinação ou aglutinação indireta ou passiva</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ São de execução simples. ■ Podem ser feitos em amostras de soro ou plasma. ■ Não necessitam equipamentos para sua realização ou para a leitura dos resultados.
<p>Imunoenzimáticos – ELISA, incluindo os quimioluminescentes</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ São ensaios que podem ser automatizados e empregados em laboratórios que têm grande rotina. ■ Podem ser feitos em amostras de soro ou plasma. Existem, ainda, kits padronizados para testar amostras de sangue seco em papel-filtro. ■ A leitura dos resultados é feita por espectrofotometria ou outros métodos automatizados.
<p>Testes Rápidos – TR</p> 	<ul style="list-style-type: none"> ■ Não necessitam de estrutura laboratorial para serem executados. ■ Podem ser feitos em amostras de sangue total, soro ou plasma. ■ Entre a coleta da amostra e a emissão do resultado decorrem cerca de 30 minutos.

Figura 12 – Relação dos testes treponêmicos para detecção do *T. pallidum* em soro ou plasma.
Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2010⁸.

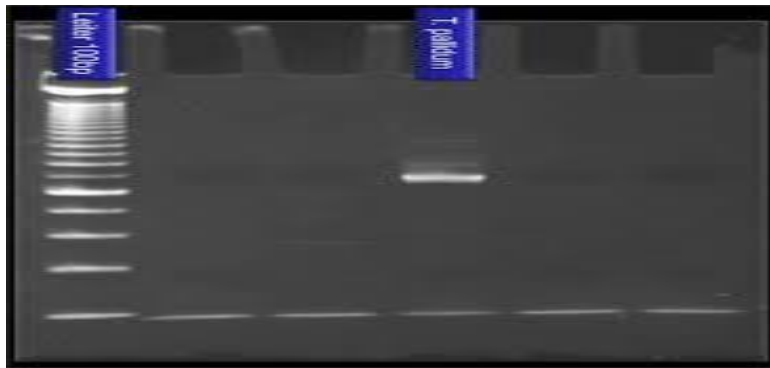


Figura 13 – Na Figura abaixo está demonstrada uma reação de PCR para *T. pallidum*.
Fonte: Adaptado de Ministério da Saúde, 2010⁸

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivos principais

1. Determinar a prevalência atual de Sífilis Ativa entre os doadores de sangue da cidade de São Paulo
2. Avaliar se há uma tendência a aumento da prevalência de Sífilis ativa nos doadores de sangue da Cidade de São Paulo nos anos de 2017 e 2018.
3. Avaliar a eficácia da utilização de um método não treponêmico como método de triagem de doadores de sangue.

2.2. Objetivos secundários

1. Caracterizar o perfil epidemiológico e sorológico do doador positivo para Sífilis.
2. Avaliar a porcentagem de doadores com PCR (+) entre os doadores com perfil sorológico de Sífilis Ativa.
3. Fornecer evidências científicas para proposição de estratégias de prevenção da transmissão de Sífilis por transfusão, melhorando assim a segurança.

3 MÉTODOS

3.1. Desenho do estudo

Estudo transversal retrospectivo de amostras soropositivas para sífilis de doações de sangue na FPS-SP de janeiro de 2017 a dezembro de 2018.

Para todas as amostras que apresentaram resultado positivo pelo teste de quimioluminescência para sífilis (CMIA, Abbott Architect) durante a triagem de doação de sangue em 2017 e 2018 foi submetida a um teste treponêmico Elisa Anti-*Treponema pallidum* IgM (Euroimmun) e um teste VDRL não treponêmico (ANTIGEN-Omega Diagnostics) . As amostras com IgM (+) e VDRL (+) foram submetidas a PCR em tempo real para sífilis. O teste de Imunoblot INNO-LIA Syphilis-Fujirebio, também foi realizado para as amostras que apresentaram resultado positivo para Elisa-IgM e VDRL isoladamente.

O projeto foi aprovado pelos Comitês Científicos da FPS-SP e CAPPesqCEP parecer número: 2.470.318.

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP, processo nº. 2017/23028-9, pelo financiamento do projeto de pesquisa.

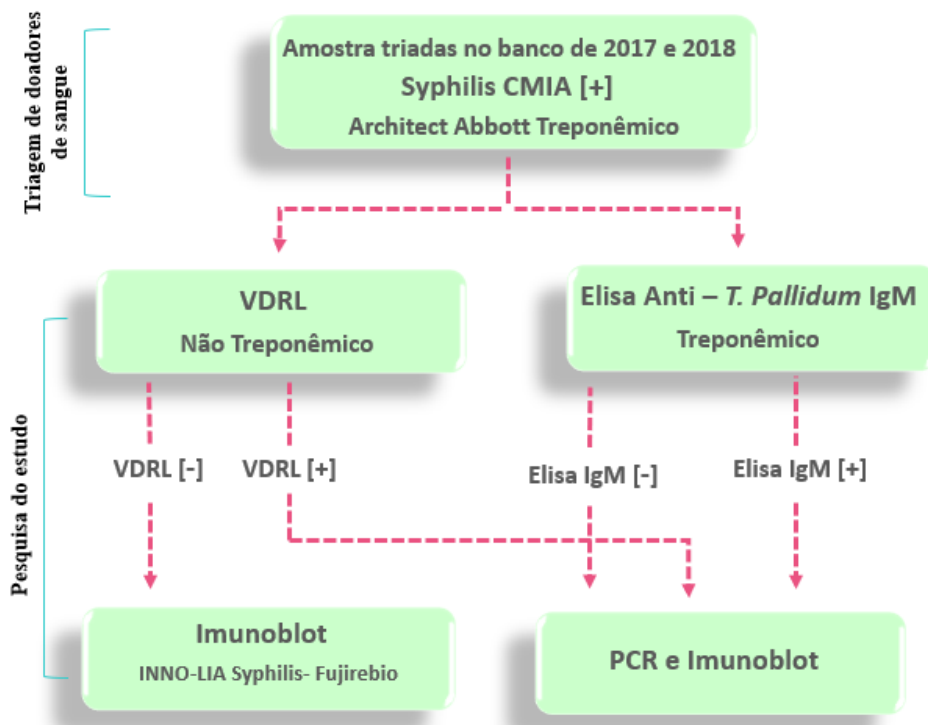


Figura 14. Fluxograma do estudo. O teste CMIA foi usado na triagem inicial de doadores de sangue. Amostras positivas foram testadas para VDRL, anticorpo IgM para *T. pallidum* (EIA-IgM), DNA de *T. pallidum* por PCR e pelo ensaio INNO-LIA Syphilis. Fonte: Autor, 2019.

3.2. Informações adicionais do processo realizado no estudo

Na Fundação Pró-Sangue-Hemocentro de São Paulo, todos os candidatos habilitados a doar sangue por triagem clínica são submetidos à triagem sorológica para HIV-1 e 2, vírus linfotrófico de células T humanas (HTLV) -1 e 2, hepatite B (HBsAg e anti-HBc total), hepatite C, sífilis e doença de Chagas. Todas as amostras de doadores que apresentaram reatividade ao teste CMIA utilizado para triagem sorológica foram encaminhadas ao Departamento de Diagnóstico e realizado o teste VDRL e separadas para estudo.

Para amostras com perfil sorológico: 1) CMIA +, VDRL + Elisa IgM +, 2) CMIA + e VDRL +, 3) CMIA + e Elisa IgM +, a PCR em tempo real para ácido nucléico também foi realizada para Sífilis.

Os doadores que apresentaram resultado positivo na triagem sorológica para infecções transmitidas por transfusão coletaram uma amostra confirmatória. Na notificação e aconselhamento, eles foram questionados sobre fatores de alto risco para sífilis e motivação para doar por um médico treinado. Foram realizadas as seguintes perguntas: 09 - "Nos últimos 12 meses, com quantos homens diferentes você teve relações sexuais? Por favor, inclua parceiros fixos e casuais." 10- "Nos últimos 12 meses, com quantas mulheres diferentes você teve relações sexuais? Por favor, inclua parceiros fixos e ocasionais." 11 - "Em relação aos seus parceiros sexuais fixos ou apenas um encontro citado nas questões 9 e 10 acima, qual foi a frequência de uso do preservativo nas suas relações sexuais?" 12 - "Você já trocou (deu ou recebeu) dinheiro ou drogas para fazer sexo com alguém?"

3.3. PCR em tempo real para sífilis

Um ensaio PCR quantitativo em tempo real, "in house", que amplifica parte do gene Pol A, altamente sensível para determinar o número de cópias do *Treponema pallidum*. Com uma sensibilidade de aproximadamente 2 cópias/ mL. Em todas as reações de amplificação, foram utilizados controles positivos e negativos e um controle interno exógeno.

Como controle interno das extrações de DNA, 2 µL da vacina de adenovírus canino (CAV Vanguard HTLP 5 / CV-L 86-4230-65) diluída 1:100 (em água ultrapura) foram adicionados e detectados por PCR específica em tempo real. Verificação da eficiência de extração ou presença de inibidores usando os seguintes primers e sonda: CAV_Foward: 5'-CCCTCCCCTCACAAAACAG-3', CAV_Reverse: 5'-TCACTTGCATGGAGTCTTGCA-3', CAV_Probe: 5'-VIC-TGGTACTGT-3' TCT. O DNA total foi extraído de 500 µl de soro ou plasma de cada amostra individualmente usando o *kit MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation - Large Volume* (Roche, Alemanha) em sistema automatizado *MagNa Pure Compact* (Roche, Alemanha) e eluição final a 50 µL. Um volume de 10 µL de DNA foi adicionado a 20 µL *TaqMan Master Mix Universal II* (Thermofisher, Foster, CA, EUA) e amplificado por PCR em tempo real usando os seguintes primers e sonda: Forward: SÍfilis_5'-GATCCGGCATATGTCCAAGCT-3' Reverso: SÍfilis_R 5'-TGAGCGTCTCATCATTCCAAAGAC-3' 'e Sonda: SÍfilis_P 5'FAM -TCATGCACCAGCTTCG -NFQ 3' ³¹. A reação foi realizada utilizando o equipamento *StepOne System* (Applied Biosystems, Foster City, CA, EUA) seguindo o programa: 10 minutos a 95 ° C, seguido de 45-50 ciclos de 15 segundos a 94 ° C e 60 segundos a 60 ° C³¹.

3.4. Análises Estatísticas

Utilizamos o software SPSS 17 (SPSS Inc/ IBM Chicago, EUA) para as análises estatísticas. As variáveis sociodemográficas incluíram sexo, grupo etário, estado civil, nível de instrução e estatuto doador pela primeira vez, repetido ou esporádico. Como comparações entre as frequências das características sociodemográficas e os resultados dos ensaios treponémicos / não-treponémicos foram aproveitando o teste Pearson Chi-square (χ^2). Os resultados foram considerados estatisticamente diferentes em $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

O total de amostras triadas no período do estudo foi 248.542 (123.851 em 2017 e 123.691 em 2018). Dessas, 1.679 (0,67%) foram positivas no ensaio CMIA para sífilis. Das amostras positivas para CMIA 1.144 (68,1%) desses doadores positivos para sífilis foram incluídos no estudo [535 (31,9%) amostras foram excluídas do estudo devido volume insuficiente para as análises]. Onde, 16,0% eram EIA-IgM (+) / VDRL (+), 16,5% eram EIA-IgM (-) / VDRL (+), 4,1% eram EIA-IgM (+) / VDRL (-) e 63,4% eram EIA-IgM (-) / VDRL (-). O teste de sífilis INNO-LIA, realizado como teste confirmatório em 47 (4,1%) amostras que eram EIA-IgM positivas e VDRL negativas, resultou 33 (3,0%) positivos, 2 (0,2%) inconclusivos e 12 (1,0 %) negativos. Cinco (2,2%) das 230 amostras EIA-IgM (+) foram positivas para DNA de Treponema por PCR em tempo real.

Em 2017, a prevalência para sífilis foi de 0,77%. Sendo mais prevalente entre os homens (54,6%) solteiros (55,6%) entre 25 e 34 anos (30,5%), com ensino médio completo (60,5%) e doadores de primeira vez (97,9%) (Tabela 1). Em 2018, a

prevalência encontrada foi de 0,62%. Encontramos uma coinfeção nas amostras positivas para sífilis de 10,4% foram positivas para anti-HBc (antígeno do core da HepB), 1,1% para anticorpo para HIV, 1,5% para anti-HTLV-1/2 e 1,1% para NAT-HIV.

Entre os 1.144 doadores, apenas, 407 (35,6%) retornaram após notificação para aconselhamento e responderam ao questionário. Dentre esses doadores que retornaram 33 (2,9%) responderam afirmativamente à pergunta: "Você já trocou (deu ou recebeu) dinheiro ou drogas para fazer sexo com alguém? " Destes, 57,7% tinham mais de 45 anos, 53,3% eram casados, 53,3% concluíram o ensino médio e 100% eram doadores pela primeira vez.

Entre as escolhas motivacionais, o apelo direto foi a resposta mais frequente (58,5%), seguido do altruísmo (38,6%) (Tabela 2).

A prática de uso de preservativo na população de doadores estudada mostra que um terço das mulheres e um quarto dos doadores masculinos relatam nunca terem feito uso de preservativo durante as relações sexuais. A prevalência de sífilis foi de 55,5% entre os doadores que não usavam preservativo, 25,3% para os que usavam às vezes e 16% para os que sempre faziam uso de preservativos ($p < 0,044$). Entre as mulheres positivas para sífilis, 15,5% tinham entre 45-54 anos, 28,2% eram casadas, 30,2% tinham ensino médio completo e 56,6% eram doadoras pela primeira vez ($p < 0,0001$). Entre os doadores EIA-IgM positivos, 2,2% foram PCR-positivos. A prevalência de sífilis ativa encontrada no estudo foi de 0,009% e o risco residual de 3,06%, para os bancos de sangue que realizam a triagem de sífilis com testes não-treponêmicos.

Tabela 1. Características demográficas de doadores de sangue positivos para CMIA e IgM para sífilis positivo.

	CMIA+				p-value	EIA-IgM+				
	2017 (n=617)	2018 (n=527)	total (n=1144)			2017 (n=138)	2018 (n=92)	total (n=230)		p-value
<i>Gênero</i>					0.6606					0.915
Masculino	337 (54.6%)	281 (53.3%)	618	(54.0%)	70 (50.7%)	46 (50.0%)	116	(50.4%)		
Feminino	280 (45.4%)	246 (46.7%)	526	(46.0%)	68 (49.3%)	46 (50.0%)	114	(49.6%)		
<i>Idade (Anos)</i>					0.196					0.036
17-24	117 (19%)	110 (20.9%)	227	(19.8%)	34 (24.6%)	37 (40.2%)	71	(30.9%)		
25-34	188 (30.5%)	160 (30.4%)	348	(30.4%)	57 (41.3%)	35 (38%)	92	(40%)		
35-44	136 (22%)	88 (16.7%)	224	(19.6%)	32 (23.2%)	10 (10.9%)	42	(18.3%)		
45-54	102 (16.5%)	94 (17.8%)	196	(17.1%)	12 (8.7%)	6 (6.5%)	18	(7.8%)		
≥ 55	74 (12%)	75 (14.2%)	149	(13%)	3 (2.2%)	4 (4.3%)	7	(3%)		
<i>Nível Educacional</i>					0.2273					0.5796
Fundamental I	43 (6.9%)	39 (7.4%)	82	(7.2%)	3 (2.3%)	3 (3.3%)	6	(2.6%)		
Fundamental II	66 (10.7%)	73 (13.9%)	139	(12.2%)	12 (8.9%)	8 (8.8%)	20	(8.7%)		
Nível Médio	373 (60.5%)	307 (58.5%)	680	(59.5%)	96 (69.0%)	66 (71.5%)	162	(70.4%)		
Superior/Pós-graduado	135 (21.9%)	106 (20.2%)	241	(21.1%)	27 (19.8%)	15 (16.4%)	42	(18.3%)		
<i>Estado Civil</i>					0.02853					0.2795
Solteiro	343 (55.6%)	273 (51.8%)	616	(53.8%)	92 (66.7%)	71 (77.2%)	163	(70.9%)		
Casado	209 (33.9%)	173 (32.8%)	382	(33.4%)	35 (25.4%)	14 (15.2%)	49	(21.3%)		
Divorciado/separado	21 (3.4%)	28 (5.3%)	49	(4.3%)	3 (2.1%)	3 (3.3%)	6	(2.6%)		
Outros	44 (7.1%)	53 (10.1%)	97	(8.5%)	8 (5.8%)	4 (4.3%)	12	(5.2%)		
<i>Tipo de doador</i>					0.8913					0.6981
Primeira vez	604 (97.9%)	517 (98.1%)	1121	(98.0%)	135 (97.8%)	91 (98.9%)	226	(98.3%)		
Repetição	5 (0.8%)	4 (0.8%)	9	(0.8%)	2 (1.5%)	1 (1.1%)	3	(1.3%)		
Esporádico	8 (1.3%)	6 (1.1%)	14	(1.2%)	1 (0.7%)	0 (0.0%)	1	(0.4%)		
<i>Doadores de retorno para notificação & Aconselhamento</i>	217 (35.2%)	190 (36.1%)	407	(35.6%)	39 (28,3%)	26 (28.3%)	65	(28.3%)		

Fonte: Autor, 2019.

Tabela 2. Motivações para doar sangue entre doadores de sangue positivos para sífilis

	Apelo Direto		Altruismo		Interesse próprio		<i>p-value</i>
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
CMIA +	238	(58.5%)	157	(38.6%)	12	(2.9%)	
VDRL	67	(16.5%)	38	(9.3%)	3	(0.7%)	0.68
ELISA IgM +	36	(8.8%)	28	(6.9%)	1	(0.2%)	0.590
INNO-LIA +	73	(17.9%)	41	(10.1%)	3	(0.7%)	0.510
Sífilis ativa	36	(8.8%)	25	(6.1%)	0	0	0.328

Fonte: Autor, 2019.

5. DISCUSSÃO

A Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo é um dos maiores bancos de sangue da cidade de São Paulo, entre 2015 e 2017, observamos um aumento substancial de 24,0% de na positividade da sífilis entre os doadores de sangue, de 0,62% em 2015 para 0,73% em 2016, 0,77% em 2017 e um pequeno declínio de 0,62% em 2018 ($p < 0,0001$) na nossa instituição, sendo o mesmo relatado no Boletim 2014-2015 nos Estados Unidos³⁸. O perfil dos doadores que apresentaram um maior risco de infecção por sífilis foram homens, solteiros, <39 anos de idade, do ensino médio e doadores pela primeira vez³⁸.

A sífilis ativa foi de 0,009% entre 2017 e 2018. Conseguimos identificar um risco de transmissão transfusional da sífilis em bancos de sangue que utilizam exclusivamente o VDRL para o rastreio dos doadores, uma vez encontrados 35 (3,06%) casos com VDRL negativo e Elisa IgM e INNO-LIA positivo. Segundo um estudo realizado por Moore et al, 1965, os testes não-treponêmicos para a infecção primária de sífilis revelaram-se negativos em 30% a 50% dos casos, confirmando os nossos resultados^{7,11,38,39,40,67}.

A coinfeção com HIV, HBV e HTLV em casos de sífilis ativa, foi de 2,2%, 10,4% e 1,5%, respectivamente. Esses resultados sugerem que a aplicação de testes treponêmicos, que detectam indivíduos com anticorpos IgG e IgM para sífilis é de importância primordial para a segurança da transfusão na prevenção da transmissão de sífilis e outras infecções sexualmente transmissíveis⁶⁸.

Os nossos resultados mostraram uma positividade de 2,2% (5/230) através da técnica de PCR em tempo real entre doadores de IgM confirmando os resultados de Dow et al. (2010)⁶⁹, estes resultados sugerem que alguns indivíduos não perdem a infectividade mesmo quando os anticorpos aparecem em infecções agudas⁶⁹. Além disso, a presença de DNA para *T⁶⁹. pallidum* não faz distinção entre DNA viável e organismos mortos^{69,70}. Resultados semelhantes foram encontrados no nosso estudo de 2014, onde detectamos dois (1,02%) casos de DNA em 197 amostras de doadores positivos para a sífilis³⁹. Contudo, o uso de NAT para a sífilis não é recomendado para doadores de rotina, uma vez que os testes de anticorpos treponêmicos são suficientes para evitar a transmissão transfusional^{39,70}.

Na entrevista com doadores de sangue, entre aqueles que apresentaram resultado positivo para sífilis, 55,5% não reportaram o uso de preservativo e 6,6% tinham sífilis ativa. Esta informação indica o maior risco de infecção ativa em indivíduos que não usam preservativos, o mesmo foi descrito por Hopkins et al, 2004⁷¹. O apelo direto foi à motivação mais frequente para a doação de sangue entre os doadores, seguido de altruísmo. O apelo direto é uma motivação comum entre os doadores brasileiros; a doação de substituição representa 50% de todas as primeiras vezes e 30% das doações repetidas no país⁶⁸. Apenas 2,9% dos doadores foram motivados pelo interesse próprio. É necessário um estudo para investigar a razão pela qual os doadores de sangue de alto risco para as ISTs de sífilis tentam doar sangue. A necessidade de testes de IST pode ser uma motivação que se sobrepõe a respostas mais socialmente aceitas, tais como altruísmo e apelo direto⁶⁸.

Uma das limitações do nosso estudo que devemos considerar, nos doadores de sangue é a baixa carga bacteriana para *Treponema pallidum*, pois são indivíduos saudáveis e assintomáticos, não conseguimos sequenciar as amostras positivas, sendo o mesmo observado em estudo realizado por Ferreira, et al,2014³¹.

A sífilis passou a ser o marcador sorológico mais prevalente encontrado em doadores de sangue na nossa instituição desde 2016^{31,67,72,73}. A monitorização contínua do perfil dos doadores infectados com sífilis neste momento de reemergência da doença são úteis e importantes não só para os bancos de sangue, mas reflete o estado epidemiológico desta infecção na nossa comunidade, e pode contribuir para a definição de políticas de saúde^{31,67,72,73}. O nosso estudo demonstrou que 3,06% dos doadores com anticorpos contra a sífilis de fase aguda, que não testaram positivo para VDRL. Por conseguinte, os testes não-treponêmicos não são metodologias que devam ser utilizadas para o rastreio de doadores de sangue. Devido ao aumento da incidência de sífilis entre doadores de sangue em todo o mundo, se faz necessário utilizar métodos de diagnósticos mais seguros^{31,67,72,73}. Estes testes também não são aconselháveis por dependerem de uma leitura subjetiva, onde requer muita experiência por parte do técnico^{31,67,72,73}. Estes dados sugerem que novas diretrizes de rastreio da sífilis para doadores de sangue devem ser estabelecidas para garantir a segurança transfusional.

6. CONCLUSÃO

O Brasil, desde 2016, enfrenta uma epidemia de sífilis. A transmissão via transfusional, embora rara, é possível e representa a terceira forma de transmissão da doença, mesmo que, a triagem sorológica para sífilis em bancos de sangue, seja obrigatória em muitos países, incluindo o nosso. O que levou a redução da transmissão pela transfusão se deu não somente pela triagem sorológica para sífilis nos bancos de sangue, mas também, na melhoria no recrutamento e triagem clínica de doadores. Na FPS-HSP houve um aumento crescente do descarte sorológico devido sífilis de 37% nos últimos 3 anos.

Entretanto, nosso estudo demonstrou um risco de transmissão transfusional da sífilis em bancos de sangue que utilizam exclusivamente o VDRL para rastreio dos doadores, uma vez que encontramos 3,15% de casos VDRL negativos e Elisa-IgM (+) confirmados pelo INNO-LIA.

O perfil desses doadores são os homens, jovens, solteiros com idade inferior a 24 anos. Outro fator que evidenciamos nesse estudo, e que pode levar ao aumento de sífilis na população geral, é não utilizar preservativo. Um dado importante a ser considerado em futuros estudos é compreender porquê alguns indivíduos, com fator de risco para doenças sexualmente transmissíveis buscam os bancos de sangue, e não os CRTs.

Os casos RT-PCR positivos mostraram o potencial da transmissão da sífilis em casos em que o rastreio do sangue dos doadores foi realizado adequadamente.

Esses dados sugerem novas diretrizes para o rastreio da sífilis nos doadores de sangue, e devem ser estabelecidas para garantia da segurança transfusional.

A vigilância contínua dos fatores de risco associados com a sífilis pode ajudar na melhoria do recrutamento e triagem clínica dos doadores de sangue. Novos estudos focando também na busca de testes rápidos entre doadores de risco poderão contribuir para identificar e direcionar estes indivíduos aos Centros de Testagem e Aconselhamento para tratamento precoce da infecção.

7. REFERENCIAS

1. Sadoghi B, Stary G, Wolf P. Syphilis. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2023 May;21(5):504-517. doi: 10.1111/ddg.14999. PMID: 37183747.
2. Zhou S, Chanderraj R. What Is Syphilis? *JAMA.* 2023 May 16;329(19):1710. doi: 10.1001/jama.2023.2897. PMID: 37083945.
3. Satyaputra F, Hendry S, Braddick M, Sivabalan P, Norton R. The Laboratory Diagnosis of Syphilis. *J Clin Microbiol.* 2021 Sep 20;59(10): e0010021. doi: 10.1128/JCM.00100-21. Epub 2021 May 12. PMID: 33980644; PMCID: PMC8451404.
4. Salado-Rasmussen K, Katzenstein TL, Larsen HK. [Syphilis]. *Ugeskr Laeger.* 2018 May 14;180(20):V01180026. Danish. PMID: 29798749.
5. Peeling RW, Mabey D, Kamb ML, Chen XS, Radolf JD, Benzaken AS. Syphilis. *Nat Rev Dis Primers.* 2017 Oct 12; 3:17073. doi: 10.1038/nrdp.2017.73. PMID: 29022569; PMCID: PMC5809176.
6. Tampa M, Sarbu I, Matei C, Benea V, Georgescu SR. Brief history of syphilis. *J Med Life.* 2014 Mar 15;7(1):4-10. Epub 2014 Mar 25. PMID: 24653750; PMCID: PMC3956094.
7. Singh AE, Romanowski B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. *Clin Microbiol Rev.* 1999 Apr;12(2):187-209. doi: 10.1128/CMR.12.2.187. PMID: 10194456; PMCID: PMC88914.
8. Sífilis: Estratégias para Diagnóstico no Brasil. Brasília: Ministério da Saúde, Coordenação de Doenças Sexualmente Transmissíveis e Aids. 2010. 100 p. (Série TELELAB).
9. Izard J, Renken C, Hsieh CE, Desrosiers DC, Dunham-Ems S, La Vake C, Gebhardt LL, Limberger RJ, Cox DL, Marko M, Radolf JD. Cryo-electron tomography elucidates the molecular architecture of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete. *J Bacteriol.* 2009 Dec;191(24):7566-80. doi: 10.1128/JB.01031-09. Epub 2009 Oct 9. PMID: 19820083; PMCID: PMC2786590.

10. Radolf JD, Deka RK, Anand A, Šmajš D, Norgard MV, Yang XF. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen. *Nat Rev Microbiol*. 2016 Dec;14(12):744-759. doi: 10.1038/nrmicro.2016.141. Epub 2016 Oct 10. PMID: 27721440; PMCID: PMC5106329.
11. Avelleira JCR, Bottino G. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2006Mar;81(2):111–26. Available from: <https://doi.org/10.1590/S0365-05962006000200002>.
12. Tsimis ME, Sheffield JS. Update on syphilis and pregnancy. *Birth Defects Res*. 2017 Mar 15;109(5):347-352. doi: 10.1002/bdra.23562. PMID: 28398683.
13. Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):29-49. doi: 10.1128/CMR.19.1.29-49.2006. PMID: 16418521; PMCID: PMC1360276.
14. Peeling RW, Hook EW 3rd. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. *J Pathol*. 2006 Jan;208(2):224-32. doi: 10.1002/path.1903. PMID: 16362988.
15. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Manual técnico para o diagnóstico da sífilis [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.
16. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis – IST [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. – Brasília: Ministério da Saúde, 2022.

17. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Boletim Epidemiológico de Sífilis. Número Especial; Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
18. Spiteri G, Unemo M, Mårdh O, Amato-Gauci AJ. The resurgence of syphilis in high-income countries in the 2000s: a focus on Europe. *Epidemiol Infect.* 2019 Jan;147: e143. doi: 10.1017/S0950268819000281. PMID: 30869043; PMCID: PMC6518487.
19. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. Centro de Controle de Doenças. Programa Estadual de DST/AIDS. Centro de Referência e Treinamento DST/AIDS. Guia de bolso para o manejo da sífilis em gestantes e sífilis congênita. São Paulo. Secretaria de Estado da Saúde. 2016.112p
20. Syphilis on the rise in the USA. *Lancet.* 2011 Aug 13;378(9791):542. doi: 10.1016/S0140-6736(11)61274-9. PMID: 21840445.
21. Ford, James S. MD *; Shevchyk, Ivan MD *; Yoon, Joseph MD *; Chechi, Tasleem MPH *; Voong, Stephanie MPH *; Tran, Nam PhD †; May, Larissa MD, MSPH *. Fatores de risco para sífilis em um grande pronto-socorro urbano. *Doenças Sexualmente Transmissíveis* 49(2):p 105-110, fevereiro de 2022. | DOI: 10.1097/OLQ.0000000000001543
22. Yang YM, Shigemura K, Onishi R, Maeda K, Sung SY, Chen KC, Arakawa S, Fujisawa M. Correlation Between Changes in Syphilis Treatment and Jarisch-Herxheimer Reaction. *Kobe J Med Sci.* 2022 Jan 13;67(4):E137-E142. PMID: 35368000; PMCID: PMC9677578.
23. Peng X, Yu S, Wu F, Yang J, Wang Y, Li Y, Zhang G, Lai C, Wei Z, Zhang W. Syphilis infection and epidemiological characteristics in Haidian District, Beijing, China, 2013-2018. *Public Health.* 2021 Jan;190:62-66. doi: 10.1016/j.puhe.2020.11.009. Epub 2020 Dec 21. PMID: 33360028.
24. Köksal MO, Beka H, Evlice O, Çiftçi S, Keskin F, Başaran S, Akgül B, Eraksoy H, Ağaçfidan A. Syphilis seroprevalence among HIV-infected males in Istanbul, Turkey. *Rev Argent Microbiol.* 2020 Oct-Dec;52(4):266-271. doi: 10.1016/j.ram.2020.01.002. Epub 2020 Mar 13. PMID: 32178940.

25. Schulz DC, Orr SMA, Johnstone R, Devlin MK, Sheidow TG, Bursztyn LLCD. The many faces of ocular syphilis: case-based update on recognition, diagnosis, and treatment. *Can J Ophthalmol*. 2021 Oct;56(5):283-293. doi: 10.1016/j.jcjo.2021.01.006. Epub 2021 Feb 4. PMID: 33549544.
26. Aho J, Lybeck C, Tetteh A, Issa C, Kouyoumdjian F, Wong J, Anderson A, Popovic N. Rising syphilis rates in Canada, 2011-2020. *Can Commun Dis Rep*. 2022 Feb 24;48(23):52-60. doi: 10.14745/ccdr.v48i23a01. PMID: 35341093; PMCID: PMC8889924.
27. Zoni AC, González MA, Sjögren HW. Syphilis in the most at-risk populations in Latin America and the Caribbean: a systematic review. *Int J Infect Dis*. 2013 Feb;17(2):e84-92. doi: 10.1016/j.ijid.2012.07.021. Epub 2012 Oct 12. PMID: 23063547.
28. Orbe-Orihuela YC, Sánchez-Alemán MÁ, Hernández-Pliego A, Medina-García CV, Vergara-Ortega DN. Syphilis as Re-Emerging Disease, Antibiotic Resistance, and Vulnerable Population: Global Systematic Review and Meta-Analysis. *Pathogens*. 2022 Dec 15;11(12):1546. doi: 10.3390/pathogens11121546. PMID: 36558880; PMCID: PMC9785152.
29. Tobian AA, Quinn TC. Herpes simplex virus type 2 and syphilis infections with HIV: an evolving synergy in transmission and prevention. *Curr Opin HIV AIDS*. 2009 Jul;4(4):294-9. doi: 10.1097/COH.0b013e32832c1881. PMID: 19532067; PMCID: PMC2752434.
30. Baia KLN, Cordeiro ACC, Frade PCR, Gouveia AGN, Resque RL, Pinheiro LML, Fonseca RRS, Machado LFA, Martins LC, Kupek E, Fischer B, Oliveira-Filho AB. Syphilis and Co-Infections with HIV-1, HBV, and HCV among People Who Use Crack-Cocaine in Northern Brazil. *Pathogens*. 2022 Sep 16;11(9):1055. doi: 10.3390/pathogens11091055. PMID: 36145487; PMCID: PMC9502650.
31. Ferreira SC, de Almeida-Neto C, Nishiya AS, Di-Lorenzo-Oliveira C, Ferreira JE, Alencar CS, Levi JE, Salles NA, Mendrone-Junior A, Sabino EC. Prevalence of *Treponema pallidum* DNA among blood donors with two

- different serologic tests profiles for syphilis in São Paulo, Brazil. *Vox Sang.* 2014 May;106(4):376-8. doi: 10.1111/vox.12111. PMID: 24877236.
32. Ferreira SC, de Almeida-Neto C, Nishiya AS, Oliveira CD, Ferreira JE, Alencar CS, Levi JE, Salles NA, Mendrone A Jr, Sabino EC. Demographic, risk factors and motivations among blood donors with reactive serologic tests for syphilis in São Paulo, Brazil. *Transfus Med.* 2014 Jun;24(3):169-75. doi: 10.1111/tme.12124. Epub 2014 Apr 30. PMID: 24779667; PMCID: PMC5061039.
33. de Almeida Neto C, Murphy EL, McFarland W, Junior AM, Chen S, Chamone DA, Sabino EC. Profile of blood donors with serologic tests reactive for the presence of syphilis in São Paulo, Brazil. *Transfusion.* 2009 Feb;49(2):330-6. doi: 10.1111/j.1537-2995.2008.01977.x. PMID: 19040599; PMCID: PMC2841471.
34. Tsuboi M, Evans J, Davies EP, Rowley J, Korenromp EL, Clayton T, Taylor MM, Mabey D, Chico RM. Prevalence of syphilis among men who have sex with men: a global systematic review and meta-analysis from 2000-20. *Lancet Glob Health.* 2021 Aug;9(8):e1110-e1118. doi: 10.1016/S2214-109X(21)00221-7. Epub 2021 Jul 8. PMID: 34246332; PMCID: PMC9150735.
35. Brasil. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Manual técnico para investigação da transmissão de doenças pelo sangue / Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária. – Brasília: Ministério da Saúde, 2004.
36. Ministério da Saúde. Portaria nº. 158, de 04 de fevereiro de 2016. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
37. Ministério da Saúde. Brasil consegue ampliar transfusões de sangue, mas coleta diminui. Brasília, DF, 2020. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2020/junho/brasil-consegue-ampliar-transfusoes-de-sangue-mas-coleta-diminui>. Acessado em: 05 de jun. 2023.

38. Owusu-Ofori AK, Parry CM, Bates I. Transfusion-transmitted syphilis in teaching hospital, Ghana. *Emerg Infect Dis.* 2011 Nov; 17(11):2080-2. doi: 10.3201/eid1711.110985
39. Waugh M, The centenary of *Treponema pallidum*: on the discovery of *Spirochaeta pallida*, *Skinmed.* 2005; 4: 313-5.
40. Goh BT. Syphilis in adults. *Sexually Transmitted Infectious.* 2005; 81: 448-452.
41. World Blood Donor Day 2006. WHO. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2006/pr33/en/index.html>. Acessado em: 05 de jun. 2023.
42. Pati I, Mengoli C, Pupella S, Masiello F, Barone F, Cruciani M, De Angelis V. Epidemiology of *Treponema pallidum* and HIV co-infections in the Italian blood donor population: 2009-2021. *Blood Transfus.* 2023 May;21(3):251-256. doi: 10.2450/2022.0159-22. Epub 2022 Oct 17. PMID: 36346888; PMCID: PMC10159804.
43. de Arruda LR, dos Santos Ramos AR. Importância do diagnóstico laboratorial para a sífilis congênita no pré-natal. *J Manag Prim Health Care [Internet].* 13º de abril de 2020 [citado 05 de junho de 2023]; 12:1-18. Disponível em: <https://www.jmphc.com.br/jmphc/article/view/511>.
44. Ministério da Saúde. Sífilis: entre janeiro e junho de 2022, Brasil registrou mais de 122 mil novos casos da doença. Brasília, DF, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/2020/junho/brasil-consegue-ampliar-transfusoes-de-sangue-mas-coleta-diminui>. Acessado em: 05 de jun. 2023.
45. Ministério da Saúde. Portaria nº. 2.135 de 22 de dezembro de 1994. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
46. Ministério da Saúde. Portaria nº. 1.544, 15 de outubro de 1997 - Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia e Imunohematologia. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.

47. Ministério da Saúde. Portaria nº. 1.840, de 13 de setembro de 1996 - Programa Nacional de Controle de Qualidade Externo em Sorologia para Unidades Hemoterápicas-PNCQES. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
48. Ministério da Saúde. Portaria nº. 488, de 17 de junho de 1998. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
49. Ministério da Saúde. Portaria nº. 2080, de 31 de outubro de 2003 – Programa Nacional para Prevenção e Controle das Hepatites Virais, o Comitê Técnico de Acompanhamento e Assessoramento do Programa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
50. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n.º 153, de 4 de junho de 2004. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
51. Ministério da Saúde. Portaria nº. 112, de 29 de janeiro de 2004 – Implantação, no âmbito da Hemorrede nacional, da realização dos testes de amplificação e detecção de ácidos nucleicos (NAT), para HIV e HCV. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
52. Ministério da Saúde. Portaria nº. Portaria nº 787, de 29 de abril de 2004 – Implantações dos testes de amplificação de ácidos nucleicos – NAT, em sua primeira etapa. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
53. Ministério da Saúde. Portaria nº. Portaria nº 151, de 14 de outubro de 2009 – Fluxograma mínimo para o diagnóstico laboratorial da infecção pelo HIV. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
54. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) n.º 034 de 1 de junho de 2014. Diário Oficial da República Federativa do Brasil, Brasília, DF.
55. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2712, de 12 de novembro de 2013. Redefine o regulamento técnico de procedimentos hemoterápicos. Publicado no Diário Oficial da União nº 221, de 13 de novembro de 2013, seção 1, página 16.
56. Câmara B. Diferenças entre os testes treponêmicos e não treponêmicos. Biomedicina padrão. 2021 Disponível em:

<https://www.biomedicinapadrao.com.br/2021/10/diferencas-entre-os-testes-treponemicos.html>. Acessado em: 05 de junho de 2023.

57. Clyne B, Jerrard DA. Syphilis testing. *J Emerg Med*. 2000 Apr;18(3):361-7.
58. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH: Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8:1–21.
59. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005 Jan;16(1):45-51.
60. Cummings MC, Lukehart SA, Marra C, Smith BL, Shaffer J, Demeo LR, Castro C, McCormack WM. Comparison of methods for the detection of *treponema pallidum* in lesions of early syphilis. *Sex Transm Dis*. 1996 Sep-Oct; 23(5):366-9.
61. Wicher K, Horowitz HW, Wicher V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. *Microbes Infect*. 1999 Oct;1(12):1035-49.
62. Organização Mundial de Saúde - OMS. Dual HIV/syphilis rapid diagnostic tests can be used as the first test in antenatal care. 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-CDS-HIV-19.38>. Acessado em: 05 de jun. 2023.
63. Grassi VMT, Grassi LT, Russeti MLR. A review of *Treponema pallidum* Molecular Detection Techniques, which is the most effective. 2012; 10 (9): e59310918478. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i9.18478>.
64. Jethwa HS, Schmitz JL, Dallabetta G, Behets F, Hoffman I, Hamilton H, Lule G, Cohen M, Folds JD. Comparison of molecular and microscopic techniques for detection of *Treponema pallidum* in genital ulcers. *J Clin Microbiol*. 1995 Jan; 33(1):180-3.
65. Pillay A, Liu H, Ebrahim S, Chen CY, Lai W, Fehler G, Ballard RC, Steiner B, Sturm AW, Morse SA. Molecular typing of *Treponema pallidum* in South Africa: cross-sectional studies. *J Clin Microbiol*. 2002 Jan;40(1):256-8.
66. Grimprel E, Sanchez PJ, Wendel GD, Burstain JM, McCracken GH Jr, Radolf JD, Norgard MV. Use of polymerase chain reaction and rabbit infectivity

- testing to detect *Treponema pallidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sera, and cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* 1991 Aug;29(8):1711-8.
67. Ferreira C, Ferreira W, Motta C, Vasquez F, Pinto A. Reatividade do teste VDRL em bolsas de sangue da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-HEMOAM, os custos decorrentes do descarte e a estimativa de prevalência de sífilis em doadores de sangue do estado do Amazonas. *DST J Bras Doenças Sex Transm.* 2006;18:14-17.
68. Perkins HA, Busch MP: Transfusion-associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion.* 2010; 50:2080–2099.
69. Dow BC, Franklin IM, Munro H, et al.: Syphilis nucleic acid testing: usefulness in syphilis confirmation? *Transfusion.* 2010;50:737–739.
70. Oliveira VM, Verdasca IC, Monteiro MC. Syphilis detection using ELISA and VDRL tests on blood donors at the blood center of Guarapuava, State of Paraná. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2008; 41:428-30.
71. Hopkins S, Lyons F, Coleman C, Courtney G, Bergin C, Mulcahy F. Resurgence in infectious syphilis in Ireland: an epidemiological study. *Sex Transm Dis.* 2004 May; 31(5):317-21.
72. Shrama S, Sethi S, Garg S, Lamba DS, Sharma RR, Marwaha N. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay with rapid plasma reagin for screening of syphilis in blood donors. *Asian J Transfus Sci.* 2018; 12: 165–168.
73. Carneiro-Proietti AB, Sabino EC, Sampaio D. et al. Demographic profile of blood donors at three major Brazilian blood centers: results from the International REDS-II study, 2007 to 2008. *Transfusion.* 2010; 50, 918–925.
74. Ebel A, Vanneste L, Cardinaels M, Sablon E, Samson I, De Bosschere K, Hulstaert F, Zrein M. Validation of the INNO-LIA syphilis kit as a confirmatory assay for *Treponema pallidum* antibodies. *J Clin Microbiol.* 2000 Jan;38(1):215-9. doi: 10.1128/JCM.38.1.215-219.2000. PMID: 10618090; PMCID: PMC88698.

APÊNDICE

ANEXO 1

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ANÁLISE DOS CASOS SOROPOSITIVOS DE SÍFILIS EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE U HSP NA CIDADE DE SÃO PAULO.

Pesquisador: Suzete Cleusa Ferreira

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 79371217.6.0000.0065

Instituição Proponente: FUNDACAO PRO-SANGUE HEMOCENTRO DE SAO PAULO

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.470.318

Apresentação do Projeto:

Trata-se de um projeto para avaliar a prevalência de positividade sorológica para sífilis em doadores de sangue.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar a prevalência de positividade sorológica para sífilis em doadores de sangue.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos. Benefícios decorrentes da avaliação da prevalência de positividade sorológica para sífilis em doadores de sangue.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto relevante e bem elaborado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos os termos de apresentação obrigatória foram inseridos na plataforma Brasil.

Recomendações:

Nada a recomendar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Projeto aprovado sem pendências.

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36

Bairro: PACAEMBU

CEP: 01.246-903

UF: SP

Município: SAO PAULO

Telefone: (11)3893-4401

E-mail: cep.fm@usp.br

USP - FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - FMUSP



Continuação do Parecer: 2.470.318

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1012847.pdf	13/12/2017 16:59:34		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	13/12/2017 16:55:11	Suzete Cleusa Ferreira	Aceito
Brochura Pesquisa	Untitled_20171019_185720.PDF	26/10/2017 09:50:35	Suzete Cleusa Ferreira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.pdf	26/10/2017 09:43:29	Suzete Cleusa Ferreira	Aceito
Folha de Rosto	Untitled_20171019_185553.PDF	26/10/2017 09:33:15	Suzete Cleusa Ferreira	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 19 de Janeiro de 2018

Assinado por:
Maria Aparecida Azevedo Koike Folgueira
(Coordenador)

Endereço: DOUTOR ARNALDO 251 21º andar sala 36
Bairro: PACAEMBU **CEP:** 01.246-903
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3893-4401 **E-mail:** cep_fm@usp.br

ANEXO 2

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

DADOS DE IDENTIFICAÇÃO DO SUJEITO DA PESQUISA OU RESPONSÁVEL LEGAL

1. NOME: :.....

DOCUMENTO DE IDENTIDADE Nº : SEXO : .M F

DATA NASCIMENTO:/...../.....

ENDEREÇO Nº APTO:
.....BAIRRO: CIDADE
.....CEP:..... TELEFONE: DDD (.....)
.....

2.RESPONSÁVEL LEGAL

NATUREZA (grau de parentesco, tutor, curador etc.)
.....DOCUMENTO DE IDENTIDADE :SEXO: M F

DATA NASCIMENTO.:/...../.....

ENDEREÇO: Nº APTO:

BAIRRO: CIDADE:

CEP: TELEFONE: DDD (.....).....

DADOS SOBRE A PESQUISA

1. TÍTULO DO PROTOCOLO DE PESQUISA: “ANÁLISE DOS CASOS SOROPOSITIVOS DE SÍFILIS EM DOADORES DE SANGUE DA FUNDAÇÃO PRÓ-SANGUE – HSP NA CIDADE DE SÃO PAULO”.

PESQUISADOR: Dra. Suzete Cleusa Ferreira Spina Lombardi

CARGO/FUNÇÃO: Biologista, Fundação Pró-Sangue/Hemocentro de São Paulo INSCRIÇÃO
CONSELHO REGIONAL Nº

UNIDADE DO HCFMUSP: Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo

3. AVALIAÇÃO DO RISCO DA PESQUISA:

RISCO MÍNIMO

RISCO MÉDIO

RISCO BAIXO

RISCO MAIOR

4. DURAÇÃO DA PESQUISA: .24 meses.

FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Sugestões do que constar no TCLE:

1 – **Justificativa e objetivos do estudo:** essas informações estão sendo fornecidas para obter sua participação voluntária neste estudo, que visa determinar a prevalência atual de Sífilis Ativa entre os doadores de sangue da cidade de São Paulo. Avaliar se há uma tendência a aumento da prevalência de Sífilis ativa nos doadores de sangue da Cidade de São Paulo nos anos de 2017 e 2018. Avaliar a eficácia da utilização de um método não treponêmico como método de triagem de doadores de sangue. Caracterizar o perfil epidemiológico e sorológico do doador positivo para Sífilis. Avaliar a porcentagem de doadores com PCR (+) entre os doadores com perfil sorológico de Sífilis Ativa. Fornecer evidências científicas para proposição de estratégias de prevenção da transmissão de Sífilis por transfusão, melhorando assim a segurança.

2 – **Descrição dos procedimentos que serão realizados:** Se você aceitar participar desse estudo será coletado uma amostra de sangue no momento da doação de sangue, sem a necessidade de uma nova punção. Na sua amostra de sangue será realizada a técnica Elisa IgM *Treponema pallidum* e PCR em tempo real.

3 – **Relação dos procedimentos rotineiros e como são realizados** – coleta de sangue por punção periférica da veia do antebraço para realização das técnicas Elisa IgM *Treponema pallidum* e PCR em tempo real.

4 – **Explicitação de possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação da pesquisa:** Existe um pequeno risco de infecção e formação de hematoma no local em que for feita a punção da veia para coleta das amostras.

5 – **Benefícios esperados para o participante:** Não há benefício ou dano para o participante. Trata-se de estudo experimental testando a hipótese de que o participante tenha uma infecção recente pelo *Treponema pallidum*. O participante receberá o resultado e caso seja reativo receberá aconselhamento médico.

6 – **Relação de procedimentos alternativos que possam ser vantajosos, pelos quais o paciente pode optar-** Não há vantagens pelas quais o doador poderá optar. Apenas que terá o resultado dos testes de Elisa IgM *Treponema pallidum* e PCR em tempo real

7 – **Garantia de acesso: em qualquer etapa do estudo**, você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas. O principal investigador é a Dra. **Suzete Cleusa Ferreira Spina Lombardi**, que pode ser encontrado no endereço **Av. Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 155 1º andar**. Telefone(s) 4573-7638. Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (CEP-FMUSP): **Av. Dr. Arnaldo, 251 - Cerqueira César - São Paulo - SP -21º andar – sala 36- CEP: 01246-000** Tel: 3893-4401/4407 E-mail: cep.fm@usp.br

8 – **É garantida a liberdade da retirada de consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo**, sem qualquer prejuízo à continuidade de seu tratamento na Instituição;

09 – **Direito de confidencialidade** – As informações obtidas serão analisadas em conjunto com os demais participantes, não sendo divulgada a identificação de nenhum;

ANEXO 3

Received: 13 October 2020 | Revised: 29 December 2020 | Accepted: 2 January 2021

DOI: 10.1111/tme.12761

ORIGINAL ARTICLE



Detection and analysis of blood donors seropositive for syphilis

Adriana Attie¹ | Cesar de Almeida-Neto^{1,2} | Steven S. Witkin^{3,4} |
 Juliana Derriga¹ | Anna S. Nishiya^{1,5} | Jerenice E. Ferreira^{3,6} |
 Natalia de Souza Xavier Costa⁷ | Nanci Alves Salles¹ | Tila Facincani¹ |
 Jose E. Levi³ | Ester C. Sabino² | Vanderson Rocha^{1,2,5} |
 Alfredo Mendrone-Jr^{1,5} | Suzete C. Ferreira^{1,5}

¹Divisão de Pesquisa & Medicina Transfusional, Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, São Paulo, Brazil

²Disciplina de Ciências Médicas, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

³Laboratório de Investigação Médica em Virologia (LIM 52), Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

⁴Department of Obstetrics and Gynecology, Weill Cornell Medicine, New York, New York

⁵Laboratory of Medical Investigation in Pathogenesis and Targeted Therapy in Onco-Immuno-Hematology (LIM-31), Department of Hematology, Hospital das Clínicas HCFMUSP, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

⁶Centro de Patologia, Instituto Adolf Lutz, São Paulo, Brazil

⁷Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil

Correspondence

Suzete C. Ferreira, Fundação Pró-Sangue Hemocentro de SP, São Paulo, Brazil.
 Email: lom.suzy@gmail.com

Abstract

Background: The increasing incidence of syphilis worldwide has called attention to the risk of transmission by transfusion.

Aims: To determine the prevalence of active syphilis in blood donors and characterise the serological profile of syphilis-positive donors.

Methods: Samples positive for *Treponema pallidum* using the chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) during blood donor screening from 2017 to 2018 were tested by the Venereal Disease Research Laboratory (VDRL) non-treponemal test and for anti-*T. pallidum* IgM by ELISA (Immunoassay Enzyme test for detection of IgM antibodies). The INNO-LIA Syphilis test (Line Immuno Assay solid test for confirmation antibodies to *Treponema pallidum*) was performed as a confirmatory test on samples that were positive on ELISA-IgM but negative on VDRL. ELISA-IgM (+) samples were also tested for *T. pallidum* DNA in sera by real-time polymerase chain reaction (PCR).

Results: Of 248 542 samples screened, 1679 (0.67%) were positive for syphilis by CMIA. Further analysis was performed on 1144 (68.1%) of these samples. Of those tested, 16% were ELISA IgM(+)/VDRL(+), 16.5% were ELISA IgM(-)/VDRL(+), 4.1% were ELISA IgM(+)/VDRL(-), and 63.4% were ELISA IgM (-)/VDRL(-). The INNO-LIA Syphilis test results were 33 (3%) positive, 2 (0.2%) undetermined and 12 (1%) negative. Of the 230 EIA-IgM(+) samples (20.1%), 5 (2.2%) were PCR positive. The prevalence of active syphilis in 2017 and 2018 was 0.1% and 0.07%, respectively, and overall prevalence of serologic markers for syphilis was highest among male, unmarried, 25–34-year-olds with a high school education and who were first-time donors.

Conclusion: There is a risk of transfusion-transmitted syphilis in blood banks that exclusively use the VDRL test for donor screening, as is currently the situation in some Brazilian blood centres, as well as in other blood centres around the world.

KEYWORDS

blood donors, IgM antibody, syphilis, *Treponema pallidum*, VDRL

1 | INTRODUCTION

Transmission of syphilis by blood transfusion has re-emerged in many countries as a threat to public health, especially among vulnerable populations. This likelihood requires a re-evaluation of current diagnostic tools and implementation of enhanced haemovigilance programmes.¹⁻¹⁰

Since the mid-1980s, the need to continue serological screening for syphilis in blood donors has been debated. Although the American Association of Blood Banks has not required testing for syphilis since 1985, the US Food and Drug Administration (FDA) has not supported this change, and screening for syphilis has remained mandatory. The US Food and Drug Administration's (FDA's) position was to maintain syphilis testing as an indirect test of risk-related behaviour for susceptibility to human immunodeficiency virus (HIV) infection rather than for the prevention of transfusion-transmitted syphilis.¹¹

Brazil began serological screening for syphilis in blood donors using the VDRL test in 1969, and this test is still widely used.^{1,9} Between 2010 and 2016, approximately 230 000 new cases of syphilis were reported, most of them located in the southeast region. According to data from the 2016 Epidemiological Bulletin, between 2014 and 2015, acquired syphilis increased by 32.7%, syphilis in pregnant women by 20.9% and congenital syphilis by 19%. In 2015, the total number of reported cases of syphilis in Brazil was 65 878. In the same period, the detection rate was 42.7 cases per 100 000 inhabitants, mostly among men (136 835, 60.1%). Although the increase in syphilis cases over time was evident, the Ministry of Health only announced that the country faced a syphilis epidemic in 2016.⁴

Transmission of *Treponema pallidum*, the causative agent of syphilis, through blood transfusion, although rare, is possible and is recognised as the third form of syphilis acquisition. Syphilis was the first transfusion-transmitted infection to be systematically investigated in blood donors following the implementation of serological screening in 1938.⁵ Prior to the initiation of testing, more than 100 cases of transfusion-related syphilis were reported. After the start of serological screening in blood banks, there was a drastic reduction in the number of cases of transfusion-transmitted syphilis. In the last 40 years, only three cases of transfusion-related syphilis transmission have been reported.⁶⁻⁸

Despite this very low incidence, serological screening for syphilis remains mandatory in many countries, including Brazil. The significant reduction in transmission by transfusion was not only due to the introduction of syphilis screening in blood banks and improvement in donor recruitment but also because of its low incidence among blood donors in the 1990s and early 2000s, as well as *T. pallidum*'s inability to survive in refrigerated blood products.⁹

Transfusion transmission became so rare in developed countries in the late 1990s that the need for maintaining mandatory serological screening for syphilis in blood banks began to be questioned. However, cases of transfusion-transmitted syphilis may increase again because of the current resurgence of this infection, relaxation in donor selection criteria due to social pressure and non-compliance in donor screening interview responses. Platelet concentrates,

frequently used in the treatment of patients with haemo-oncogenic disorders, although typically stored in pouches with oxygen in which *T. pallidum* cannot survive, may also be stored at ambient temperature (20–24°C) where the organism can remain viable. Thus, further discussion about whether or not mandatory donor screening should be enforced is worthwhile.^{3,9}

Regarding recent efforts in transfusion medicine to improve safety conditions for donors, current screening protocols have limitations in the clinical interpretation of serological patterns, especially in asymptomatic blood donors.¹ The present study sought to determine the prevalence of active syphilis in blood donors, evaluate the reliability of the prevalent VDRL test and characterise individuals who were positive for *T. pallidum*.

2 | METHODS

2.1 | Study design

We conducted a retrospective cross-sectional analysis in 2019–2020 of samples from blood donations obtained between January 2017 and December 2018 at Fundação Pró-Sangue (FPS), the blood centre of São Paulo, Brazil, that were seropositive for syphilis. The study was approved by the Ethical Committee of Hospital das Clínicas at the University of São Paulo and the ethical review board of FPS (assent n°. 2.470.318) and was financially supported by FAPESP (2017/23028-9).

2.2 | Laboratory analyses, risk behaviours, donation type and motivational factors

All qualified candidate blood donors are routinely serologically screened for HIV types 1 and 2; human T-cell lymphotropic virus (HTLV) 1 and 2; hepatitis B (hepatitis B surface antigen [HBsAg] and total antibody to hepatitis B core antigen [anti-HBc]) and hepatitis C; syphilis and Chagas disease; and nucleic acid test (NAT) HIV, NAT-HBV (hepatitis B virus) and NAT-HCV (hepatitis C virus). All positive samples are stored in a repository and are available for subsequent in-depth analysis (retrovigilance). Donor samples that were positive for anti-treponema by a chemiluminescent microparticle immunoassay (CMIA) (Abbott Architect) during their initial screening were obtained and tested for IgM antibody to *T. pallidum* by ELISA (Euroimmun) and by the non-treponema-specific VDRL test (ANTIGEN-Omega Diagnostics). All samples positive for EIA-IgM or VDRL were tested by real-time PCR for *T. pallidum* DNA. The INNO-LIA Syphilis-Fujirebio Immunoblot test was also performed on samples that were EIA-IgM positive and VDRL negative (Figure 1).

As a routine in our blood centre, all donors who tested positive in any serologic screening test are recalled to collect a new sample to confirm the original results. They are also subjected to an interview about risk factors for syphilis and other transfusion-transmitted

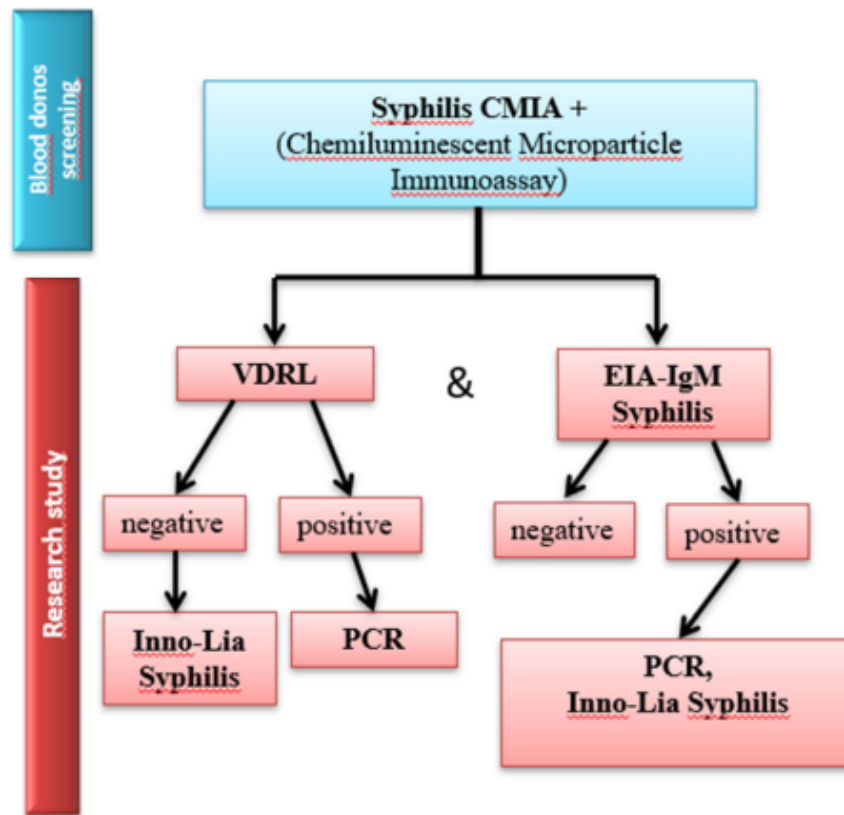


FIGURE 1 Flow chart of the study design. The CMIA test was used in the initial screening of blood donors. Positive samples were tested for VDRL, IgM antibody to *Treponema pallidum* (EIA-IgM), *T. pallidum* DNA by PCR and by the INNO-LIA Syphilis assay [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

diseases and their motivation to donate blood. The interviews are face to face, in a private room, using a standardised questionnaire and are conducted by trained physicians according to the Standard Operation Procedures of our institution. Donors who tested positive in the CMIA test were requested to provide repeat samples to confirm the results. When they returned for assay results, notification and counselling, the donors filled out a questionnaire to assess their risk factors for becoming infected with syphilis and motivations for blood donation. The questions asked included: "In the past 12 months, with how many different people have you had sex?" "Concerning your steady sexual partners, what was the frequency of condom use when you had sex?" and "Have you ever exchanged (given or received) money or drugs to have sex with someone?" Motivations for blood donation were classified as direct appeal, altruism and self-interest according to a previous publication.¹²

Donation type was classified as (i) first-time donation (a donation from an individual who had never donated in our blood centre), (ii) repeat donation (a donation from a person who donated at least twice in the last 12 months) and (iii) sporadic donation (a donation

from someone who donated at least twice within an interval greater than 12 months).¹³

To detect *T. pallidum* DNA, 500 μ l of serum were extracted by MagNa Pure Compact Nucleic Acid Isolation—Large Volume kit (Roche, Germany) in an automatized system MagNa Pure Compact (Roche, Germany), according to the manufacturer's protocol, and were subjected to real-time PCR. TaqMan was performed in StepOne Plus TM Real-Time PCR Systems (Life Technologies, Foster City, CA, USA). The primers and probes were designed using the assay of the design programme (Applied BioSystems, Carlsbad, CA, USA) targeting the *poA* gene of *T. pallidum*.¹⁰

2.3 | Statistical analyses

We used the SPSS 17 software (SPSS Inc/IBM Chicago, USA) for the statistical analyses. Sociodemographic variables included gender; age group; marital status; educational attainment; and first-time, repeat or sporadic donor status. Comparisons between the frequencies of the

TABLE 1 Demographic characteristics of CMIA-positive and syphilis IgM-positive blood donors

	CMIA+			Total (n = 1144)	p-Value	EIA-IgM+			Total (n = 230)	p-Value
	2017 (n = 617)	2018 (n = 527)	Total (n = 1144)			2017 (n = 138)	2018 (n = 92)			
Gender					0.6606					0.915
Male	337 (54.6%)	281 (53.3%)	618 (54.0%)			70 (50.7%)	46 (50.0%)	116 (50.4%)		
Female	280 (45.4%)	246 (46.7%)	526 (46.0%)			68 (49.3%)	46 (50.0%)	114 (49.6%)		
Age (years)					0.196					0.036
17-24	117 (19%)	110 (20.9%)	227 (19.8%)			34 (24.6%)	37 (40.2%)	71 (30.9%)		
25-34	188 (30.5%)	160 (30.4%)	348 (30.4%)			57 (41.3%)	35 (38%)	92 (40%)		
35-44	136 (22%)	88 (16.7%)	224 (19.6%)			32 (23.2%)	10 (10.9%)	42 (18.3%)		
45-54	102 (16.5%)	94 (17.8%)	196 (17.1%)			12 (8.7%)	6 (6.5%)	18 (7.8%)		
≥55	74 (12%)	75 (14.2%)	149 (13%)			3 (2.2%)	4 (4.3%)	7 (3%)		
Educational level					0.2273					0.5796
<Elementary school	43 (6.9%)	39 (7.4%)	82 (7.2%)			3 (2.3%)	3 (3.3%)	6 (2.6%)		
Elementary school	66 (10.7%)	73 (13.9%)	139 (12.2%)			12 (8.9%)	8 (8.8%)	20 (8.7%)		
High School	373 (60.5%)	307 (58.5%)	680 (59.5%)			96 (69.0%)	66 (71.5%)	162 (70.4%)		
College and above	135 (21.9%)	106 (20.2%)	241 (21.1%)			27 (19.8%)	15 (16.4%)	42 (18.3%)		
Marital status					0.02853					0.2795
Single	343 (55.6%)	273 (51.8%)	616 (53.8%)			92 (66.7%)	71 (77.2%)	163 (70.9%)		
Married	209 (33.9%)	173 (32.8%)	382 (33.4%)			35 (25.4%)	14 (15.2%)	49 (21.3%)		
Divorced/Separated	21 (3.4%)	28 (5.3%)	49 (4.3%)			3 (2.1%)	3 (3.3%)	6 (2.6%)		
Other	44 (7.1%)	53 (10.1%)	97 (8.5%)			8 (5.8%)	4 (4.3%)	12 (5.2%)		
Donation type					0.8913					0.6981
First time	604 (97.9%)	517 (98.1%)	1121 (98.0%)			135 (97.8%)	91 (98.9%)	226 (98.3%)		
Repeat	5 (0.8%)	4 (0.8%)	9 (0.8%)			2 (1.5%)	1 (1.1%)	3 (1.3%)		
Sporadic	8 (1.3%)	6 (1.1%)	14 (1.2%)			1 (0.7%)	0 (0.0%)	1 (0.4%)		
Donors who returned for notification and counselling	217 (35.2%)	190 (36.1%)	407 (35.6%)			39 (28.3%)	26 (28.3%)	65 (28.3%)		

TABLE 2 Motivations to donate blood among syphilis-positive blood donors

	Direct appeal		Altruism		Self-interest		p-Value
	n	(%)	n	(%)	n	(%)	
CMIA +	238	(58.5%)	157	(38.6%)	12	(2.9%)	0.68
VDRL	67	(16.5%)	38	(9.3%)	3	(0.7%)	
ELISA IgM +	36	(8.8%)	28	(6.9%)	1	(0.2%)	
INNO-LIA +	73	(17.9%)	41	(10.1%)	3	(0.7%)	
Active syphilis	36	(8.8%)	25	(6.1%)	0	0	

sociodemographic characteristics and the treponemal/non-treponemal assay results were performed using the Pearson Chi-square (χ^2) test. Results were considered statistically significant at $p < 0.05$.

3 | RESULTS

Among 248 542 (123 851 in 2017 and 123 691 in 2018) samples screened, 1679 (0.67%) were positive in the CMIA assay. Of the 1144 (68.1%) positive patients available for inclusion in the study, 16.0% were EIA-IgM(+)/VDRL(+), 16.5% were EIA-IgM(-)/VDRL(+), 4.1% were EIA-IgM(+)/VDRL(-), and 63.4% were EIA-IgM(-)/VDRL(-). The INNO-LIA Syphilis test, performed as a confirmatory test in 47 (4.1%) samples that were EIA-IgM positive and VDRL negative, yielded 33 (3.0%) positive results, 2 (0.2%) that were inconclusive and 12 (1.0%) that were negative. Of the 230 EIA-IgM (+) samples, 5 (2.2%) were positive for *Treponema* DNA by real-time PCR.

In 2017, the prevalence of collected blood that was positive for syphilis screening tests was 0.77%. It was higher among men (54.6%) who were unmarried (55.6%) and between 25 and 34 years old (30.5%) with a high school education (60.5%) and who were first-time donors (97.9%). In 2018, the prevalence of blood units positive for syphilis screening tests was 0.62%. Among the EIA-IgM-positive samples, 10.4% were positive for antibody to HBV anti-Core, 1.1% for antibody to HIV, 1.5% for anti-HTLV-1/2 and 1.1% for NAT-HIV (Table 1).

Among the 1144 donors who returned following notification for counselling, 407 (35.6%) completed the questionnaire, and 33 (2.9%) responded affirmatively to the question, "Have you ever exchanged (given or received) money or drugs to have sex with someone?" Of these, 57.7% were above 45 years of age, 53.3% were married, 53.3% graduated from high school, and 100% were first-time donors.

In Table 2, we show that, among motivation choices, a direct appeal was the most frequent response (58.5%), followed by altruism (38.6%).

Associations with condom usage are shown in Table 3. About a third of female and a quarter of male donors never used condoms during sex. The prevalence rate for syphilis was 55.5% among donors who did not use condoms, 25.3% for those who used condoms sometimes and 16% for those who always used condoms ($p < 0.044$). Among the women positive for syphilis, 15.5% were between 45 and 54 years old, 28.2% were married, 30.2% had a high school education level, and 56.6% were first-time donors ($p < 0.0001$) (Tables 3 and 4).

4 | DISCUSSION

In blood donations provided to Fundação Pró-Sangue Hemocentro de São Paulo, one of the largest blood banks in the city of São Paulo, between 2015 and 2017, there was an apparent increase of 24% in the detection of syphilis-associated markers, from 0.62% in 2015 to 0.73% in 2016 and 0.77% in 2017, followed by a small decline to 0.62% in 2018 ($p < 0.0001$). A similar increase was reported in 2014–2015 in the United States (3). Also paralleling our findings, the donors in their study with the highest rate of a positive test were men, unmarried, between 25 and 34 years old, with a high school education and were first-time blood donors (3).

The prevalence of active syphilis among blood donors seen at our centre between 2017 and 2018 was 0.09%. We identified 35 cases that were negative for syphilis by VDRL but were anti-*T. pallidum* IgM and INNO-LIA positive. These findings are consistent with a study by Moore et al, who showed that non-treponemal tests for primary syphilis infection were negative in 30%–50% of infected individuals.^{12–17} They strongly suggest that there remains a risk for transfusion-transmitted syphilis in those blood banks that exclusively use the VDRL test for syphilis donor screening. In addition, the detection of co-infection with HIV, HBV or HTLV-1/2 in 2.2%, 10.4% and 1.5% of syphilis-positive cases, respectively, suggests that the application of treponemal-specific tests are also relevant for the prevention of the transfusion-related transmission of other sexually transmitted infections.¹⁸

Our demonstration that 2.2% of EIA-IgM-positive donors had *T. pallidum* DNA in their circulation is consistent with a previous investigation by Dow et al and suggests that this organism might still be present in some individuals despite evidence of an antibody response. It must be acknowledged that detection of *T. pallidum* DNA cannot distinguish between the presence of viable or dead organisms.^{5,18} Similar results were found in our previous study conducted in 2014, where we detected 2 (1.02%) cases positive for *T. pallidum* DNA from a total of 197 blood samples from donors positive for syphilis.¹⁰ However, the routine use of a nucleic acid amplification test for syphilis is not recommended for all blood donors due to expense, the need for trained personnel and uncertainty about organism viability. In addition, treponema-specific antibody tests appear to be sufficient to identify infected individuals and prevent transfusion transmission.^{5,10}

Among our blood donors who were positive for syphilis, it was not surprising that the highest risk of active syphilis infection occurred in those who did use condoms. This observation was also previously described by Hopkins et al in 2004.¹⁵ The preferential screening for

	How often did you use condoms (n = 407)						p-Value
	Never	Sometimes	Always				
Gender ^a							0.0555
Male	98	52.1%	51	27.1%	39	20.8%	
Female	128	62.1%	52	25.2%	26	12.6%	
Age (years) ^a							<0.0000001
17-24	20	28.2%	29	40.8%	22	31.0%	
25-34	53	48.2%	36	32.7%	21	19.1%	
35-44	44	60.3%	21	28.8%	8	11.0%	
45-54	61	73.5%	10	12.0%	12	14.5%	
≥55	48	84.2%	7	12.3%	2	3.5%	
Education ^a							0.0283
<Elementary school	30	81.1%	7	18.9%	0	0.0%	
Elementary school	24	60.0%	10	25.0%	6	15.0%	
High school	119	52.0%	67	29.3%	43	18.8%	
College and above	51	59.3%	19	22.1%	16	18.6%	
Marital status ^a							<0.0000001
Single	76	39.8%	66	34.6%	49	25.7%	
Married	111	74.5%	28	18.8%	10	6.7%	
Divorced/separated	15	88.2%	1	5.9%	1	55.9%	
Other	24	64.9%	8	21.6%	5	13.5%	
Donation type ^a							0.8443
First time	223	57.3%	101	26.0%	65	16.7%	
Repeat	1	50.0%	1	50.0%	0	0.0%	
Sporadic	2	66.7%	1	33.3%	0	0.0%	

^aTotal may be missing two values.

	CMIA +		ELISA IgM +		p-Value
	n	(%)	n	(%)	
How often did you use condoms when you had sex?	0.0593				
Never	226	(57.4%)	27	(42.9%)	
Sometimes	103	(26.1%)	25	(39.7%)	
Always	65	(16.5%)	11	(17.5%)	
Have you ever exchanged money or drugs to have sex with someone?	0.145				
Yes	33	(8.1%)	2	(3.1%)	
No	374	(91.9%)	63	(96.9%)	

sexually transmitted diseases in blood donors who engage in unprotected sexual intercourse is certainly warranted.

A direct appeal for blood was the most frequent motivation for blood donation, followed by altruism, similar to our previous findings.¹⁹ Only 2.9% of donors were motivated by self-interest. More research is needed as to why individuals who are at elevated risk for syphilis and other sexually transmitted diseases (STDs) volunteer to donate blood. The availability of STD testing at the blood centre might

be an additional motivating factor that overlaps with more socially accepted responses such as altruism and direct appeal.¹⁹⁻²¹

An advantage of our study was the ability to analyse findings from a large number of individuals, all of whom underwent a similar testing protocol from a single major specialised service. This increases the probability of uniform handling of all specimens. One limitation of our study is that the bacterial load for *T. pallidum* in donated blood is low because donors are typically healthy and asymptomatic individuals. Therefore, we

TABLE 3 Associations with condom usage in blood donors

TABLE 4 The association between detection of syphilis, condom usage and specific behaviours

were unable to further analyse the PCR-positive samples for other treponemal genes. This would have been of value to provide evidence of the possible presence of intact organisms. This limitation was also reported by Ferreira et al in 2014.¹² Other limitations include the absence of data on the length of syphilis infection and mode of acquisition in positive donors.

Since 2016, serological evidence of syphilis has become the most prevalent marker for infectious disease found in blood donors at our institution. Continuous monitoring of the profile of syphilis-infected donors at this time of re-emergence of the infection is useful and relevant not only for blood banks but also as a reflection of the epidemiological status of syphilis in the community. Availability of these data can contribute to the refocusing of health policies and priorities. Our demonstration that 3% of donors with acute phase syphilis antibodies were negative in the VDRL test strongly suggests that non-treponemal tests are not ideal for screening blood donors. In addition to a lack of sensitivity, results of these assays are subjective and require interpretation by an experienced technician.¹⁰

In conclusion, we emphasise that, due to the increased incidence of syphilis among blood donors worldwide, it is clearly necessary that new syphilis screening guidelines for blood donors be established to maximise transfusion safety.



ACKNOWLEDGMENTS

All authors fulfilled the following four criteria: substantial contributions to the conception or design of the work; and/or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work; and/or drafting the work or revising it critically for important intellectual content. All authors gave final approval of the version to be published and agreed to be accountable for all aspects of the work and in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved. **Adriana Attie** performed the research, contributed essential reagents or tools, analysed data, wrote the manuscript and reviewed and edited text and tables. **Cesar de Almeida-Neto** designed the research study, performed the research, analysed data, wrote the manuscript and reviewed and edited text and tables. **Steven S. Witkin** analysed data, wrote the manuscript and reviewed and edited text and tables. **Jullana Derriga** contributed essential reagents or tools and analysed data. **Anna S. Nishiya** contributed essential reagents or tools and analysed data. **Jerenice Esdras Ferreira** analysed the data and reviewed and edited the text. **Natalia de Souza Xavier Costa** analysed the data and reviewed and edited the text. **Nanci Alves Salles** contributed essential reagents or tools. **Tila Facincani** reviewed and edited the text. **Jose E. Levi** reviewed and edited the text. **Ester C. Sabino** reviewed and edited the text. **Vanderson Rocha** reviewed and edited the text. **Alfredo Mendrone-Jr** analysed the data and reviewed and edited the text. **Suzete C. Ferreira** designed the research study, performed the research, analysed data, wrote the manuscript and reviewed and edited the text and tables.

CONFLICT OF INTEREST

The authors have no competing interests.

ORCID

Cesar de Almeida-Neto  <https://orcid.org/0000-0002-8490-4634>
Jose E. Levi  <https://orcid.org/0000-0002-3557-2717>

REFERENCES

- Owusu-Ofori AK, Parry CM, Bates I. Transfusion-transmitted syphilis in teaching hospital, Ghana. *Emerg Infect Dis*. 2011;17:2080-2082.
- Waugh M. The centenary of *Treponema pallidum*: on the discovery of *Spirochaeta pallida*. *Skinmed*. 2005;4:313-315.
- Avella JCR, Bottino G. Syphilis: diagnosis, treatment and control. *An Bras Dermatol*. 2006;81:111-126.
- Goh BT. Syphilis in adults. *Sex Transm Infect*. 2005;81:448-452.
- Dow BC, Franklin IM, Munro H, Gunson R. Syphilis nucleic acid testing: usefulness in syphilis confirmation? *Transfusion*. 2010;50:737-739.
- Ferreira C, Ferreira W, Motta C, Vasquez F, Pinto A. Reactividade do teste VDRL em bolsas de sangue da Fundação de Hematologia e Hemoterapia do Amazonas-HEMOAM, os custos decorrentes do descarte e a estimativa de prevalência de sífilis em doadores de sangue do estado do Amazonas. *DST J Bras Doenças Sex Transm*. 2006;18:14-17.
- Chambers RW, Foley HT, Schmidt PJ. Transmission of syphilis by fresh blood components. *Transfusion*. 1969;9:32-34.
- Perkins HA, Busch MP. Transfusion associated infections: 50 years of relentless challenges and remarkable progress. *Transfusion*. 2010;50:2080-2099.
- Oliveira VM, Verdasca IC, Monteiro MC. Syphilis detection using ELISA and VDRL tests on blood donors at the blood center of Guarapuava, State of Paraná. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2008;41:428-430.
- Ferreira SC, Almeida-Neto C, Nishiya AS, et al. Prevalence of *Treponema pallidum* DNA among blood donors with two different serologic tests profiles for syphilis in Sao Paulo, Brazil. *Vox Sang*. 2014;106:376-378.
- WHO. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. *World Health Organization Department of HIV/AIDS*, 2001. Geneva, Switzerland: World Health Organization; 2001.
- Ferreira SC, Almeida-Neto C, Nishiya AS, et al. Demographic, risk factors and motivations among blood donors with reactive serologic tests for syphilis in São Paulo, Brazil. *Transfus Med*. 2014;24:169-175.
- Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Brasil). 5º Boletim Anual de Avaliação Sanitária em Serviços de Hemoterapia. Novembro 2013. Disponível em: Acesso em: 31 maio. 2014.
- Moore M, Knox J. Sensitivity and specificity in syphilis serology: clinical implications. *South Med J*. 1965;58:963-968.
- Hopkins S, Lyons F, Coleman C, Courtney G, Bergin C, Mulcahy F. Resurgence in infectious syphilis in Ireland: an epidemiological study. *Sex Transm Dis*. 2004;31(5):317-321.
- Shrama S, Sethi S, Garg S, Lamba DS, Sharma RR, Marwaha N. Comparative evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay with rapid plasma reagin for screening of syphilis in blood donors. *Asian J Transfus Sci*. 2018;12:165-168.
- Orton S. Syphilis and blood donors: what we know, what we do not know, and what we need to know. *Transfus Med Rev*. 2001;15:282-292.
- Salles NA, Sabino EC, Barreto CC, Barreto AM, Otani MM, Chamone DF. The discarding of blood units and the prevalence of infectious diseases in donors at the Pro-Blood Foundation/Blood Center of São Paulo, São Paulo, Brazil. *Rev Panam Salud Publica*. 2003;13:111-116.
- Carneiro-Proietti AB, Sabino EC, Sampaio D, et al. Demographic profile of blood donors at three major Brazilian blood centers: results from the international REDS-II study, 2007 to 2008. *Transfusion*. 2010;50:918-925.

20. Cavalcante EG, Araujo MA, Galvão MT, de Moura HJ, Gondim AP, da Silva RM. Sexually transmitted infections associated syndromes assisted in the primary health care in Northeast, Brazil. *BMC Public Health*. 2012;12:595.
21. Gonçalves TT, Di Lorenzo Oliveira C, Carneiro-Proietti ABF, et al. Motivation and social capital among prospective blood donors in three large blood centers in Brazil. *Transfusion*. 2013;53(6):1291-1301. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1537-2995.2012.03887.x>.

How to cite this article: Attie A, de Almeida-Neto C, S. Witkin S, et al. Detection and analysis of blood donors seropositive for syphilis. *Transfusion Medicine*. 2021;31: 121-128. <https://doi.org/10.1111/tme.12761>