

# SUBTIPAGEM DE *Treponema pallidum* POR SEQUENCIAMENTO MULTILOCUS - MLST

Kellyane Oliveira do Nascimento, Camila Gurgel

## INTRODUÇÃO

A Sífilis é uma treponematose sistêmica, de evolução crônica classificada como Infecção Sexualmente Transmissível – IST, exclusiva do ser humano, causada pelo *Treponema pallidum*, uma bactéria Gram-negativa de alta patogenicidade.

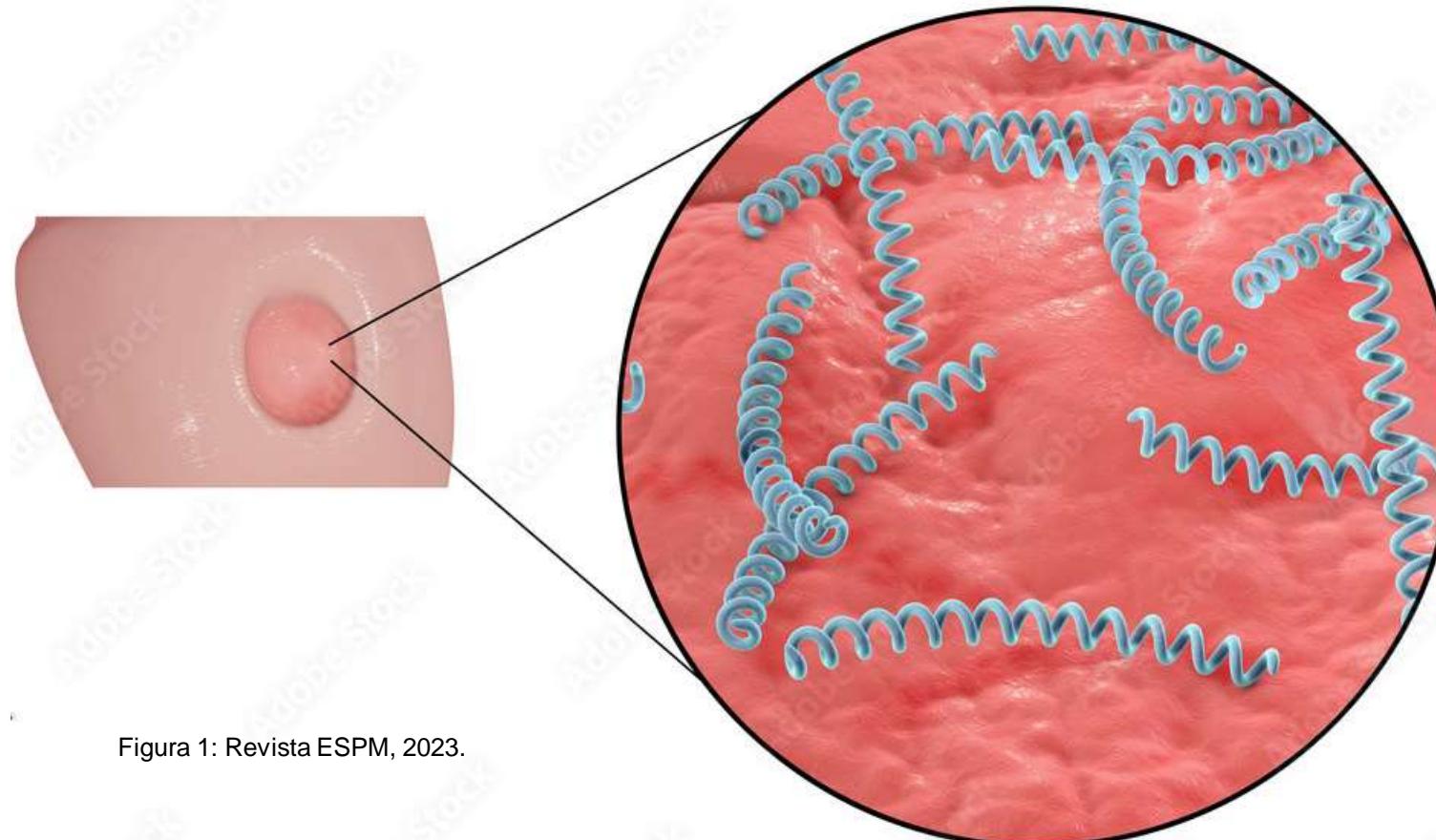


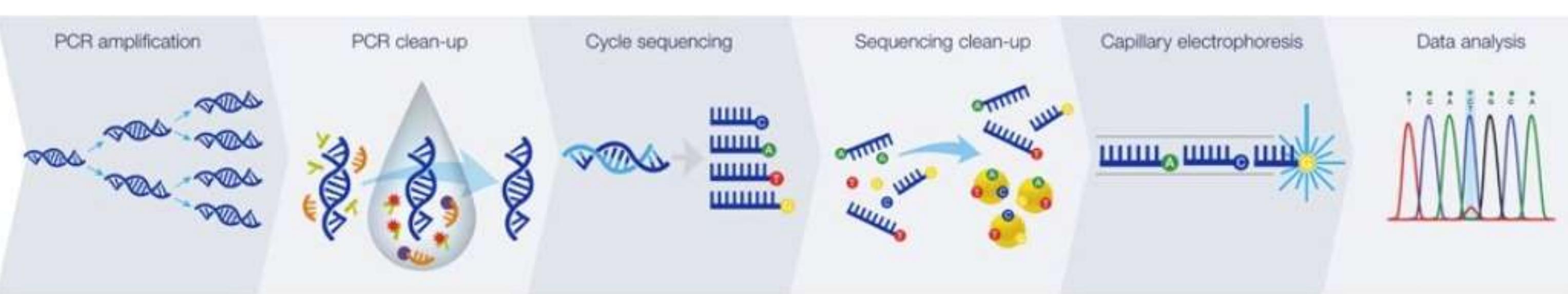
Figura 1: Revista ESPM, 2023.

O objetivo geral do estudo é otimizar a técnica de MLST na identificação de subtipos de *Treponema pallidum*.

## METODOLOGIA

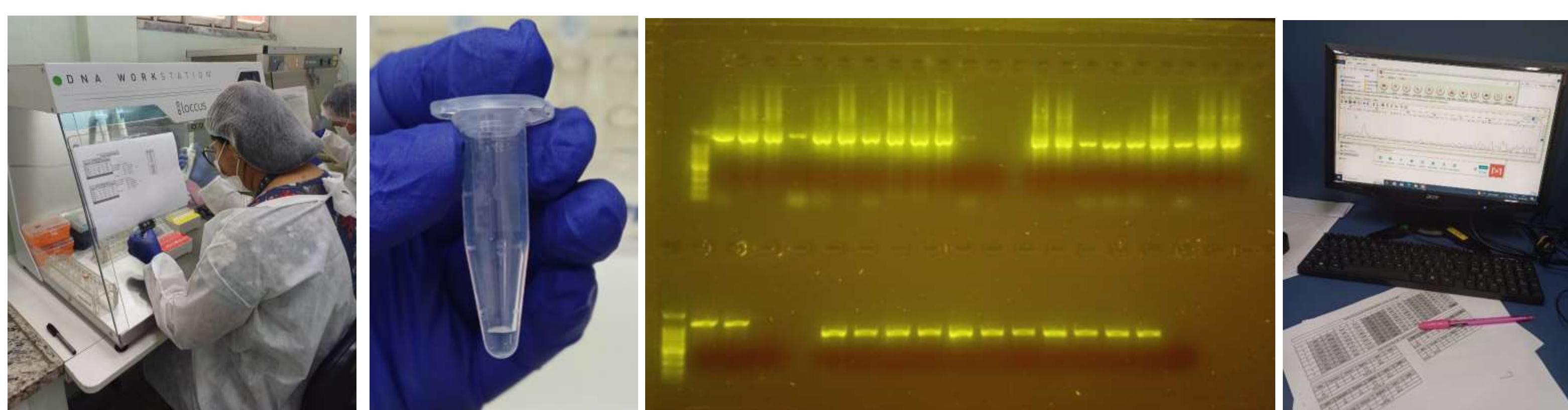
Estudo descritivo de otimização aplicada a epidemiologia molecular. Utilizou-se amostras provenientes de um projeto maior, excluindo amostras que não permitem a detecção do TP.

Figura 1 – Fluxo de trabalho do MLST.



Fonte: Thermo Fisher Scientific, 2023.

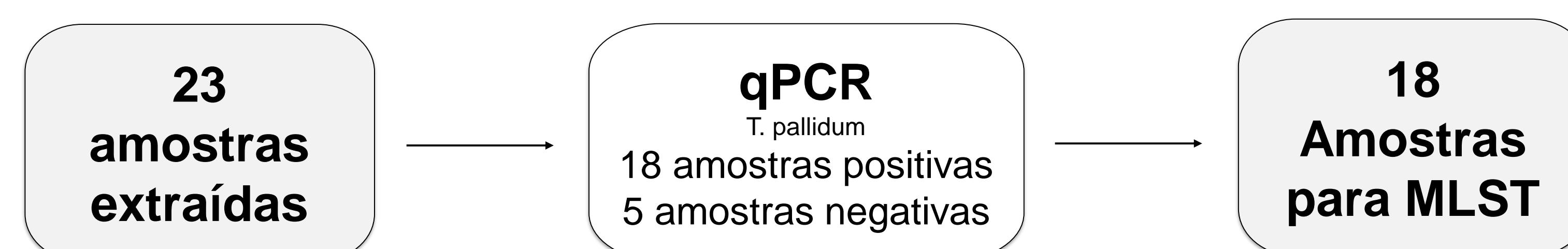
- Replicou-se a técnica descrita por Grillová dos genes TP0136, TP0548 e TP0705;
- Sequenciamento das amostras que apresentam amplificação por Sanger;
- Foram analisadas no MEGA11 as sequências consensos;
- Por fim, submetidas ao PubMLST.



## RESULTADOS

Não houve êxito na replicação exata da metodologia de Grillová de PCR convencional, após ajuste de temperatura e concentração dos primers, os resultados foi alcançado o que possibilitou o sequenciamento dos subtipos.

Foram testadas 23 amostras a partir de secreções do raspado de úlceras genitais, das quais após a realização de qPCR para detecção do DNA de *Treponema pallidum*, temos:



As 18 amostras positivas passam pela análise completa proposta por Grillová et al.

A partir do disso a database retornou com os seguintes resultados:

- 10 amostras para Nichols-like;
- 6 amostras para SS14-like;
- 2 amostras não foram possível a identificação do seu subtipo (complexo clonal).

Tabela 1 - Perfil das amostras incluídas para análise do MLST (n= 18)

ID	TP0136	TP0548	TP0705	CLONAL COMPLEX	ST
32	1	3	21	X	115
40	9	7	3	Nichols-like	26
61	9	7	3	Nichols-like	26
	36	7	3	Nichols-like	26, 37, 90, 112, 113, 122
66	1	48	10	SS14-like	67
87	9	7	3	Nichols-like	26
117	9	7	3	Nichols-like	26
122	9	7	3	Nichols-like	26
166	9	7	3	Nichols-like	26
200	9	7	3	Nichols-like	26
213	1	3	1	SS14-like	1
	1	48	9	SS14-like	27, 28, 67, 103, 114, 117
291	9	7	3	Nichols-like	26
144	1	3	1	SS14-like	1
146	1	30	1	SS14-like	54
	1	70	3	SS14-like	11, 61, 63, 69, 100, 117
172	1	48	3	X	117
274	9	7	3	Nichols-like	26
275	1	30	1	SS14-like	54
	1	70	3	SS14-like	11, 61, 63, 69, 100, 117

Legenda: ID - Identificação da amostra; ST - Sequence Typing; ND - Não determinado.

Em relação as características sociais, temos:

Tabela 2 - Perfil dos pacientes no estudo (n = 18)

Variável	Resultado
Sexo	<b>Masculino – 100%</b>
Faixa etária	<b>20 – 50 anos</b>
Raça/Cor	<b>Pardo – 12   Negro – 4   Branco – 2</b> <b>Heterossexual – 13</b> <b>HSH Ativo/Passivo – 4</b> <b>Outros – 1</b>
Orientação Sexual	<b>Nº de parceiros (fixo ou eventual)</b> <b>Nenhum – 0   1 parceiro – 7</b> <b>2 ou mais – 11</b> <b>Todas as relações – 3</b> <b>Eventualmente (fixo ou não) – 6</b> <b>Só com parceiro fixo – 2</b> <b>Não uso – 7</b>
Uso de preservativo	

## COMENTÁRIOS FINAIS

O estudo mostra um bom desempenho na otimização da técnica de MLST para os padrões internos do laboratório que permitiu a subtipagem das subespécies e que poderá servir com uma ferramenta para futuros estudos de epidemiologia molecular.

## REFERÊNCIAS

1. BVS, Biblioteca Virtual em Saúde – Ministério da Saúde. 2018. <https://bvsms.saude.gov.br/sifilis-2/>.
2. Castro, R., E. Prieto, M. J. Águas, M. J. Manata, J. Botas, and F. Martins Pereira. 2009. "Molecular Subtyping of *Treponema Pallidum* Subsp. *Pallidum* in Lisbon, Portugal." *Journal of Clinical Microbiology* 47 (8): 2510–12. <https://doi.org/10.1128/JCM.00287-08>.
3. Grillová, Linda, Tanika Bawa, Lenka Mikalová, Angèle Gayet-Ageron, Kay Nieselt, Michal Strouhal, Patrice Sednaoui, et al. 2018. "Molecular Characterization of *Treponema Pallidum* Subsp. *Pallidum* in Switzerland and France with a New Multilocus Sequence Typing Scheme." *PLoS ONE* 13 (7): 1–16. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200773>.
4. Ma, Daphne Y., Lorenzo Giacani, and Arturo Centurión-Lara. 2015. "The Molecular Epidemiology of *Treponema Pallidum* Subspecies *Pallidum*." *Sex Health* 12 (2): 141–47. <https://doi.org/10.5993/AJHB.40.1.1.The>.