



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

**“Evaluación de la respuesta inmune a  
sífilis, y factores asociados a su incidencia  
en poblaciones clave usuarios de clínicas  
de ITS del Perú: Factores asociados a  
Sífilis en CERITS”**

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE  
DOCTOR EN CIENCIAS EN  
INVESTIGACIÓN EPIDEMIOLÓGICA

SILVER KEITH VARGAS RIVERA

LIMA - PERÚ

2024



Asesora

Dra. Kelika Anne Konda

## **DEDICATORIA**

A mi familia, y mi esposa  
Lourdes, por su constante  
paciencia, apoyo y  
comprensión al trabajo que he  
venido realizando, sus  
tiempos invertidos han  
sumado mucho a la  
finalización de este trabajo de  
tesis y han sido mis mayores  
motivaciones.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al equipo del Centro de Salud Interdisciplinaria en Sexualidad, SIDA y Sociedad por haberme abierto las puertas para el desarrollo de mi tesis y por ser el lugar en el que me pude dedicar a la investigación.

A mi asesora Dra. Kelika Anne Konda por el apoyo constante y permanente para lograr mis objetivos en la investigación

A todos mis colegas, y amigos a quienes agradezco el apoyo, el tiempo, y las respuestas oportunas.

A los participantes del estudio Picasso e ImPrEP

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

FONDECYT/CIENCIACTIVA

Beca de formación EF033-235-2015

National Institutes of

Health under the National

Institute of Allergy and

Infectious Diseases

1R01AI139265-01

Programa D43 TW007393 "Emerge,

Entrenamiento en Investigación en

Epidemiología de las Enfermedades

Emergentes", auspiciado por el Centro

Internacional Fogarty de los Institutos

Nacionales de Salud de los Estados

Unidos.

## 10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

### Filtrado desde el informe




- ▶ Bibliografía
- ▶ Coincidencias menores (menos de 8 palabras)

### Exclusiones

- ▶ N.º de fuentes excluidas

---


### Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 3%  Publicaciones
- 1%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

---

### Marcas de integridad

#### N.º de alerta de integridad para revisión

-  **Caracteres reemplazados**  
44 caracteres sospechosos en N.º de páginas  
Las letras son intercambiadas por caracteres similares de otro alfabeto.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

# Tabla de Contenidos

RESUMEN	14
ABSTRACT	18
I. INTRODUCCIÓN	21
II. HIPÓTESIS GENERAL	23
IV. INVESTIGACIÓN 1	26
“Evaluación de la asociación entre el estadio de la enfermedad y los niveles de citoquinas siete días después del tratamiento en pacientes con sífilis activa en Perú”	26
3.1 Justificación	26
3.2 Pregunta de Investigación Principal	33
3.3 Hipótesis Secundarias	33
3.4 Materiales y Métodos	34
3.4.1 Diseño	34
3.4.2 Población y diseño muestral	35
3.4.2.1 Población	35
3.4.2.1.1 Criterios de inclusión	35
3.4.2.1.2 Criterios de exclusión	37
3.4.3 Muestreo	37
3.4.3.1 Tipo de muestreo	37
3.4.4 Procedimientos del estudio	38
3.4.4.1 Recolección de datos	40
3.4.4.1.1 Cuestionarios	40
3.4.4.1.2 Muestras biológicas	40
3.4.4.2 Procesamiento de muestras biológicas	41
3.4.5 Variables de estudio	43
3.4.5.1 Variable desenlace (dependiente) y co-variable principal (independiente)	43
3.4.5.2 Otras co-variables relevantes	44
3.4.5.3 Gráfico acíclico dirigido (DAG)	45
3.4.6 Procesamiento y análisis estadístico	45
3.4.7 Cálculo de tamaño de muestra o potencia estadística	46
3.5 Resultados	47
3.6 Discusión	59



V. INVESTIGACIÓN 2: Incidencia de sífilis y su asociación con la adherencia a la PrEP entre hombres que tienen sexo con hombres y mujeres transgénero que usan PrEP en Perú	63
4.1 Justificación	63
4.2 Pregunta de Investigación Principal	67
4.3 Hipótesis Secundarias	67
4.4 Materiales y Métodos	67
4.4.1 Diseño	67
4.4.2 Población y diseño muestral	68
4.4.2.1 Población	68
4.4.2.1.1 Criterios de inclusión para el Estudio Madre	69
4.4.2.1.2 Criterios de inclusión del proyecto de tesis	70
4.4.2.1.3 Criterios de exclusión para el Estudio Madre	70
4.4.2.1.4 Criterios de exclusión para el proyecto de Tesis	71
4.4.3 Muestreo	72
4.4.3.1 Tipo de muestreo	72
4.4.4 Procedimientos del estudio	72
4.4.4.1 Recolección de datos	74
4.4.4.1.1 Cuestionarios	74
4.4.4.1.2 Muestras biológicas	75
4.4.4.2 Procesamiento de muestras biológicas	76
4.4.5 Variables de estudio	77
4.4.5.1 Variable desenlace (dependiente) y co-variable principal (independiente)	77
4.4.5.2 Otras co-variables relevantes	78
4.4.5.3 Gráfico acíclico dirigido (DAG)	80
4.4.6 Procesamiento y análisis estadístico	80
4.4.7 Cálculo de tamaño de muestra o potencia estadística	82
4.5 Resultados	83
4.5.1 Enrolamiento y muestra de estudio	83
4.5.2 Factores asociados con la incidencia de sífilis	86
4.5.3 Análisis del efecto de la emergencia sanitaria y el confinamiento por COVID-19	88
4.6 Discusión	92
VI. ASPECTOS ÉTICOS	98
VII. LIMITACIONES	99
VIII. CONCLUSIONES GENERALES	102

IX.	RECOMENDACIONES GENERALES	103
X.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	105
XII.	ANEXOS	
10.1	Anexo 1: Aprobaciones éticas de los estudios primarios	
10.2	Anexo 2: Consentimiento informado, asentimiento informado y/u hoja informativa	

## **ABREVIATURAS**

Ag p24: Antígeno p24 del VIH

CD40L: Ligando de CD40 (cluster of differentiation 40)

CERITS: Centro de referencia de ITS

CT: Chlamydia trachomatis

FNT- $\alpha$ : Factor de necrosis tumoral- $\alpha$

FTA-ABS (Absorción de anticuerpos treponémicos fluorescentes)

HSH: Hombres que tienen Sexo con Hombres

IC: Intervalo de confianza

IgG: Inmunoglobulina G

IgM: Inmunoglobulina M

IL: interleukina

IL1ra: receptor antagonista de interleukina 1

ITS: infección de transmisión sexual

MINSA: Ministerio de Salud

MT: Mujeres transgénero

MPR: Razón de posesión de medicamento

NG: Neisseria gonorrhoeae

PEP: Profilaxis post-exposición

PrEP: Profilaxis pre-exposición

PVVS: personas viviendo con VIH

RANTES: quimiocina de regulación por activación expresada y secretada por los linfocitos T.

RPR: Prueba rápida de reaginas plasmáticas

RIQ: rango intercuartil

RTI: Razón de tasas de incidencia

TARV: Tratamiento antiretroviral

Trail: Ligando inductor de apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral

TP-HA: Ensayo de hemaglutinación de *Treponema pallidum*

TP-PA: Ensayo de aglutinación de *Treponema pallidum*

VDRL: Laboratorio de investigación de Enfermedades Venéreas

VIH: Virus de la inmunodeficiencia humana

## **RESUMEN**

La sífilis sigue siendo un problema de salud pública importante a la actualidad. Las secuelas de la sífilis congénita pueden ser fatales, sin embargo, es una epidemia que afecta principalmente a ciertas poblaciones, incluyendo los hombres que tienen sexo con hombres (HSH), y las mujeres trans (MT), quienes según deben ser tamizados frecuentemente; sin embargo, las pruebas de diagnóstico actuales se basan en la detección de anticuerpos, los cuales no pueden ser detectados con facilidad en ciertas fases de la infección, o no permiten una identificación total de los casos en los sujetos evaluados. Dada la necesidad de nuevas tecnologías para la detección y monitoreo de la sífilis que faciliten un diagnóstico temprano y correcto, principalmente en las poblaciones que concentran la mayor cantidad de casos, se planteó un estudio con el fin de generar evidencia para el uso de las citoquinas como marcador biológico en pacientes con sífilis, evaluando dos redes de citoquinas que previamente mostraron una buena performance para identificar casos de sífilis activa en los diferentes estadios de la enfermedad. Así mismo, dado que se requiere información de la dinámica de las infecciones de transmisión sexual en el marco de nuevas estrategias de prevención para el VIH dirigidas a poblaciones clave de Perú como son los HSH y MT, se evaluó la asociación de la adherencia a la profilaxis pre-exposición (PrEP) con la incidencia de sífilis, para generar evidencia que sirvan en la implementación de nuevos programas de salud pública.

Las preguntas de investigación que desarrollamos fueron: 1) ¿Cuál la asociación entre el estadio de sífilis y la concentración de dos redes de citoquinas (Eotaxina-Rantes-Leptina y IL1ra-Trail-CD40L) al momento del diagnóstico y tratamiento, y a los siete días post-tratamiento en suero de pacientes diagnosticados con sífilis que

se atienden en clínicas de ITS?; 2) ¿Cuál es la asociación entre la adherencia a PrEP y la incidencia de Sífilis en hombres que tienen sexo con hombres y mujeres transgénero usuarios de clínicas de ITS, enrolados en el estudio de implementación ImPrEP?

Se realizaron dos proyectos: un primer estudio pre-post, anidado en un estudio de cohorte de pacientes con sífilis, en el cual se incluyó una visita a los 7 días post-diagnóstico y tratamiento, para realizar una colección adicional de sangre y evaluar la asociación entre los niveles de citoquinas y al estadio de sífilis. En la segunda investigación, desarrollada a partir de los datos colectados en el estudio longitudinal de implementación de Profilaxis pre-exposición (PrEP) para VIH en usuarios HSH y MT de centros de salud del Ministerio de Salud (MINSa) en diferentes ciudades de Perú, se evaluó la asociación entre la adherencia a PrEP (MPR, razón de posesión de medicamento [*Medication Possession Ratio*] y la incidencia de sífilis. Además se evaluó la incidencia de sífilis y los factores asociados, antes y después de la declaratoria de cuarentena por la emergencia sanitaria de COVID-19 (16 de marzo del 2020). En el primer proyecto se incluyeron a 31 participantes con diagnóstico de sífilis. Las medianas de RANTES (10073.3 [RIQ: 7465]) vs 14697.3 [5604.8]) y de IL1RA (28.5 [11.3] vs 23 [6.8]) fueron diferentes a los 7 días post-tratamiento comparado con la mediana del basal (valor  $p < 0.05$ ). Sin embargo, los niveles de las citoquinas estudiadas no estuvieron asociados el estadio de sífilis; Además, encontramos que existe asociación entre el status de VIH y la variación de los niveles de Eotaxina, IL1RA y CD40L a los 7 días comparado con la medición basal (valor  $p < 0.05$ ). En el segundo estudio se tienen datos de 2292 sujetos que se enrolaron en el estudio ImPrEP y estuvieron entre mayo del 2018 y junio del 2021;

encontramos que la incidencia de sífilis fue mayor entre los adherentes a PrEP (MPR $\geq$ 0.6) (razón de tasas de incidencia, (RTI): 1.48 [IC 95%: 1.09 – 2.00]; La incidencia de sífilis fue mayor entre los que reportaron sexo anal sin protección (: 1.53 [1.11 - 2.11]) y en mujeres transgénero (1.66 [1.09 - 2.53]).; En el análisis pre-post confinamiento (antes y después del 16/03/2020), en el periodo pre-confinamiento la incidencia de sífilis fue mayor entre los adherentes a PrEP (1.50 [1.01-2.23] y en los que reportaron sexo anal sin preservativo (2.35 [1.43-3.86]. El diagnóstico de sífilis al enrolamiento fue el único factor asociado a la incidencia de sífilis en el periodo post-confinamiento (2.70 [1.67-4.36]). La incidencia de sífilis en toda la cohorte fue de 9.07 (IC95%: 7.91-10.40) por cada 100 personas-año (p.a.); La incidencia de sífilis en los individuos adherentes a PrEP fue 9.97 (IC95%: 8.42 - 11.71) y la incidencia de sífilis en población trans fue 14.72 (10.47 - 20.12) por cada 100 p.a.

No encontramos asociación entre el estadio de sífilis y los valores de citoquinas; dos citoquinas (RANTES e IL1RA) presentaron variaciones en sus concentraciones a los 7 días comparados con el basal, y encontramos que el status de VIH está asociado a la variación de los niveles de tres citoquinas (Eotaxina, IL1RA y SCD40L). Este resultado sugiere que existe un potencial uso de las citoquinas como marcadores inmunológicos de progresión de enfermedad o para diagnóstico de infección activa, sin embargo se requieren de mediciones con intervalos más prolongados entre medición que permitan identificar los cambios en el sistema inmune durante la respuesta sífilis. Además, en usuarios de PrEP, la incidencia de sífilis fue mayor entre los adherentes a PrEP, en personas que reportaron sexo sin protección y en las mujeres transgénero, por lo que se requieren estrategias

específicas que acompañen esta implementación para las poblaciones objetivo y se pueda reducir el impacto de las ITS, especialmente entre los grupos más vulnerables.

**PALABRAS CLAVE:**

Sífilis, citoquinas, hombre que tiene sexo con hombre, Mujer transgénero, PrEP, adherencia



## **ABSTRACT**

Syphilis remains a major public health problem today. The sequelae of congenital syphilis can be fatal, yet it is an epidemic that primarily affects certain populations, including men who have sex with men (MSM), and transgender women (TW), who should be screened frequently; however, current diagnostic tests are based on antibody detection, which cannot be easily detected at certain stages of infection, or do not allow full identification of cases in tested subjects. Given the need for new technologies for the detection and monitoring of syphilis that facilitate an early and correct diagnosis, mainly in populations that concentrate the largest number of cases, we proposed a study in order to generate evidence for the use of cytokines as a biomarker in patients with syphilis, we measured two cytokine networks, that showed good performance in identifying cases of active syphilis previously, at different stages of the disease. Likewise, given the importance of studying the dynamics of syphilis in the framework of new HIV prevention strategies, for key populations in Peru such as MSM and MT, we evaluated the association of adherence to pre-exposure prophylaxis (PrEP) with the incidence of syphilis to generate evidence that could be used in the implementation of new public health programs

Our research questions were: 1) what is the relationship between syphilis stage and the concentration of two cytokine networks (Eotaxin-Rantes-Leptin and IL1ra-Trail-CD40L) at the time of diagnosis and treatment, and at seven days post-treatment in serum of syphilis patients attending STI clinics? 2) What is the relationship between adherence to PrEP and syphilis incidence in men who have

sex with men and transgender women enrolled in the ImPrEP implementation study?

Two projects were conducted: a first pre-post study, nested in a cohort study of patients with syphilis, which included a visit at 7 days post-treatment, to perform an additional blood collection and evaluate the association between cytokine levels and syphilis stage. In the second study, based on data collected in the longitudinal study of the implementation of pre-exposure prophylaxis (PrEP) for HIV in MSM and TW users of Ministry of Health (MINSA) STI clinics in different cities of Peru, we evaluated the association between adherence to PrEP (MPR, Medication Possession Ratio) and the incidence of syphilis. In addition, the incidence of syphilis and associated factors were assessed before and after the declaration of quarantine due to the COVID-19 health emergency.

In the first project, 31 syphilis cases were included. The median of RANTES (10073.3 [IQR: 7465]) vs 14697.3 [5604.8]) and IL1RA (28.5 [11.3] vs 23 [6.8]) were different at 7 days post-treatment compared to the median at baseline ( $p$ -value $<0.05$ ). However, the levels of the cytokines studied were not associated with syphilis stage; furthermore, we found that there was an association between HIV status and the variation of Eotaxin, IL1RA and SCD40L levels at 7 days compared to baseline ( $p$ -value $<0.05$ ). In the second study we included data from 2292 subjects who were enrolled in the ImPrEP and followed May 2018 and June 2021; we found that syphilis incidence were higher among PrEP adherent participants (MPR $\geq 0.6$ ) (Incidence Rate Ratio, (IRR): 1.48 [95% CI: 1.09 - 2.00]; among those reporting condomless anal sex (1.53 [1.11 - 2.11]) and among transgender woman (1.66 [1.09 - 2.53]); In the pre-post confinement analysis (before and after 16/03/2020), in the

pre-confinement period syphilis incidence was higher among PrEP adherent participants (1.50 [1.01-2.23] and among those reporting condomless anal sex (2.35 [1.43-3.86]). Syphilis diagnosis at enrollment was the only factor associated with syphilis incidence in the post-confinement period (2.70 [1.67-4.36]). The incidence of syphilis in the entire cohort was 9.07 (95%CI: 7.91-10.40) per 100 person-years (p.a.); syphilis incidence in PrEP-adherent individuals was 9.97 (8.42 - 11.71) and the incidence of syphilis among transgender women was 14.72 (10.47 - 20.12) per 100 p.a.

We found no association between syphilis stage and cytokine values; two cytokines (RANTES and IL1RA) presented variations in their concentrations at 7 days compared to baseline, and we found that HIV status is associated with variation in the levels of three cytokines (Eotaxin, IL1RA and SCD40L). This result suggests that there is a potential use of cytokines as immunological markers of disease progression or for diagnosis of active infection, however, measurements with longer intervals between measurements are required to identify changes in the immune system during the syphilis response. In addition, in PrEP users, the incidence of syphilis is higher among PrEP adherent users, among those reporting condomless sex and among transgender woman; specific strategies are required to accompany this implementation for the target populations and to reduce the impact of STIs, especially among the most vulnerable groups.

**KEYWORDS:**

Syphilis, cytokines, men who have sex with men, transgender women, PrEP, adherence.

## **I. INTRODUCCIÓN**

La sífilis sigue vigente como un problema grave de salud pública, con un resurgimiento de casos asociado a la epidemia del VIH. La mayor cantidad de casos de sífilis se concentra en poblaciones vulnerables como los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y mujeres transgénero (MT).

El diagnóstico de sífilis y monitoreo de la respuesta al tratamiento se basa en la detección de anticuerpos; sin embargo, ciertos factores como el estadio de la enfermedad, la coinfección por VIH, y el historial de infecciones pasadas pueden alterar la producción o el tiempo que estos anticuerpos se mantienen circulantes, afectando la detección de casos nuevos, o el monitoreo del éxito del tratamiento. Ante este escenario, se han tratado de identificar nuevos marcadores inmunológicos que permitan una detección precisa y más temprana de casos; nuestro grupo de investigación ha identificado 2 grupos de citoquinas (Eotaxina-Rantes-Leptina y Mig-IL1ra-Trail-CD40L) que clasifica a los sujetos con y sin sífilis; en este trabajo hemos realizado la evaluación de estas dos redes de citoquinas para evaluar su variación según el estadio en una cohorte de pacientes con sífilis que se atienden en centros de referencia de ITS y centros comunitarios. Esta nueva herramienta podría generar evidencia para la detección de casos y mejorar el manejo clínico de la sífilis en poblaciones con una alta prevalencia de la enfermedad en Perú, como los HSH y las MT.

Además de evaluar nuevos marcadores para el monitoreo de la infección por *T. pallidum*, se requiere caracterizar la epidemia de sífilis en el marco de las nuevas estrategias para la prevención del VIH como la profilaxis pre-exposición (PrEP),

que se acompaña del monitoreo de conductas sexuales de riesgo e infecciones de transmisión sexual (ITS), incluyendo sífilis. Entre los usuarios que usen PrEP para prevenir la adquisición de VIH existe evidencia de que el efecto protector de PrEP se relaciona con la adherencia a la toma del medicamento, pero no se cuenta con información del efecto de la adherencia a la PrEP sobre la incidencia de sífilis en usuarios de los centros de salud de Perú.

El objetivo del primer estudio busca evaluar los niveles de citoquinas en pacientes con sífilis en diferentes estadios. En el segundo estudio, evaluamos la asociación entre la adherencia a la PrEP y la incidencia de sífilis, en usuarios de clínicas de ITS de Perú.

## **II. HIPÓTESIS GENERAL**

En el primer estudio se hipotetiza que el estadio de la infección está asociado a los niveles de citoquinas en suero de personas con sífilis evaluados al momento del diagnóstico y a los 7 días post-diagnostico.

Para el segundo estudio se hipotetiza que la incidencia de sífilis está asociada a la adherencia al régimen de PrEP en población HSH y MT usuarios de centros de Salud.

### **III. CONTRIBUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y ROL DEL INVESTIGADOR**

El presente trabajo de tesis es una importante contribución al estudio de la sífilis en el aspecto laboratorial, evaluando los niveles de citoquinas en pacientes con sífilis, sin embargo se desconocía si ciertos aspectos de la enfermedad, como los estadios o el historial de episodios previos de sífilis pueden influir en los niveles de citoquinas que se analizan; en el aspecto epidemiológico, se evaluó la dinámica de la sífilis en el contexto de un ensayo de implementación de PrEP, una intervención biomédica para la prevención de la transmisión del VIH, que ha demostrado tener un efecto en la dinámica de las ITS sobre las poblaciones que acceden a este esquema de prevención. La contribución del tesista estuvo orientada en la concepción de la pregunta, hipótesis y diseño en ambas investigaciones que componen la tesis. En el primer estudio, Picasso, la tesis se desarrolló como un sub-estudio piloto que incorporó una nueva visita de seguimiento (visita de 7 días) dentro del programa de visitas original para cada participante, y se añadieron nuevos procesos como el tamizaje de clamidia y gonorrea, para evaluar su efecto en los niveles de citoquinas, lo que no está planteado en el protocolo original de Picasso. En el segundo estudio, ImPrEP, conocer la incidencia de sífilis en la cohorte era un objetivo secundario, sin embargo no se había planteado evaluar la adherencia a PrEP como un factor asociado, ni tampoco se tenía planteado analizar el efecto del confinamiento de la pandemia en la incidencia de sífilis.. En ambas investigaciones, el tesista participó activamente en la ejecución del estudio primario, como responsable del diseño e implementación de los manuales de procedimientos de laboratorio en ambos

estudios, formatos de recolección y emisión de resultados, formatos para transporte y almacenamiento de muestras, entrenamiento de los procesos de laboratorio al personal de campo que ejecutó los procesos de recolección de datos y visitas de monitoreo correspondientes, además de desarrollar las bases de datos que contenían toda la información de laboratorio para ambos estudios.

El aporte del tesista en ambos estudios primarios, tuvo que ver con el aseguramiento de la generación de los datos de laboratorio, el cual sirvió para la redacción de posters presentados en diferentes conferencias internacionales y artículos científicos, además de la implementación de los procesos propios de la tesis, del análisis de datos y posterior redacción.



#### IV. INVESTIGACIÓN 1

“Evaluación de la asociación entre el estadio de la enfermedad y los niveles de citoquinas siete días después del tratamiento en pacientes con sífilis activa en Perú”

##### 3.1 Justificación

Globalmente se estiman alrededor de seis millones de nuevos casos de sífilis anualmente (1). En los últimos años, se observa un decremento en la prevalencia de sífilis a nivel global (2, 3), en paralelo se observa el resurgimiento de la epidemia en poblaciones clave, principalmente en los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y mujeres transgénero (MT) (4-6), y en personas viviendo con VIH (PVVS) (7-9). En Perú, la prevalencia de sífilis en población general es de 0.5% (10), pero en poblaciones de bajos recursos de ciudades costeras se encontró una prevalencia de 6.3% en hombres y 3.7% en mujeres (11). La epidemia de sífilis en Perú está concentrada en HSH, MT y PVVS; la prevalencia de sífilis fue de 11.0% en hombres que reportan sexo con mujeres y con hombres el 2002 (12); un estudio en barrios de la ciudad de Lima, la ciudad capital, reportó una prevalencia de sífilis de 24.5%, con una prevalencia de infección activa (RPR  $\geq$  1:8) de 9% (13). En el año 2011, otro estudio multicéntrico en Lima incluyendo dos ciudades en la costa y dos ciudades de la selva, reportó una prevalencia total de 13.8%, con una prevalencia de sífilis activa de 5.1% (14). En MT de Lima la prevalencia de sífilis fue del 22% y sífilis activa fue de 5.4% (15). Finalmente, en HSH viviendo con VIH usuarios de clínicas de ITS,

la prevalencia de sífilis fue de 35% y la prevalencia de sífilis activa fue de 21% (16).

Sífilis es una infección causada por *Treponema pallidum pallidum* (17), que comprende diferentes estadios clínicos. La sífilis primaria es el estadio inicial, caracterizado por la presencia de una sola lesión como una úlcera con borde endurecido, generalmente no doloroso ni purulento, algunas veces acompañada de adenopatía. Puede aparecer a partir de las tres semanas post-infección, para luego desaparecer espontáneamente sin necesidad de tratamiento (18, 19). La sífilis secundaria, es la etapa sistémica de la infección; los síntomas aparecen usualmente a las 12 semanas desde la infección, siendo el síntoma más frecuente la aparición de erupciones mucocutáneas diseminadas de forma simétrica en el tronco y extremidades, en las palmas, y en la planta de los pies (20, 21). Algunos pacientes pueden desarrollar también condylomata lata, una lesión húmeda en el perineo, el ano o genitales (18, 19, 22). Si el paciente no recibe tratamiento, los síntomas desaparecen y entra al estadio latente, la etapa asintomática y la infección solo se detecta por serología; La sífilis latente se divide en sífilis latente temprana, si se estima que la infección ocurrió dentro de los 12 meses previos, y sífilis latente tardía, en la que el paciente tiene la infección por más de 12 meses, entrando en un estado no infeccioso (18, 22). La neurosífilis es una presentación clínica en la que *T. pallidum* invade el sistema nervioso, y se presentan síntomas inespecíficos como fiebre, náusea, o rigidez del cuello; pueden surgir problemas visuales, auditivos y debilidad facial por daño neurológico (18, 22). Existen otras manifestaciones clínicas que aparecen

luego de varios años desde la infección, incluyendo goma sifilítica, sífilis cardiovascular y neurosífilis tardía (18, 22).

El diagnóstico laboratorial de sífilis incluye la detección de dos tipos de anticuerpos, los anticuerpos treponémicos que reaccionan contra proteínas de la bacteria, y permiten detectar exposición a sífilis (23). Las pruebas diagnósticas usadas para detectar este tipo de anticuerpos incluyen pruebas de inmunofluorescencia como FTA-ABS (por sus siglas en inglés *Fluorescent Treponemal Antibodies Absortion*), y ensayos de aglutinación indirecta que usan hematíes de diferentes especies animales (ej. TP-HA, del inglés *Treponema pallidum Hemagglutination assay*) o partículas de gelatina (TP-PA) como superficie a la que se adhieren las proteínas de *T. pallidum*, facilitando que se visualice macroscópicamente la unión anticuerpo-antígeno; Estas pruebas son consideradas como las pruebas Gold standard para definir el estado de exposición a sífilis en los casos sospechosos (18, 24). Al comparar la performance entre ensayos treponémicos, se ha detectado alrededor del 10% de discordancias entre el TPHA y las pruebas inmunocromatográficas (25), y una discordancia alrededor del 12% entre el TPHA con el TPPA (26). La principal limitación de las pruebas treponémicas es que no pueden diferenciar entre infección activa e infección curada (27), ya que los anticuerpos treponémicos pueden ser detectados mucho tiempo después de que la infección ha curado, ocasionando que algunas personas puedan recibir tratamiento sin tener infección activa, únicamente por los resultados positivos en este tipo de pruebas.

Los otros anticuerpos son llamados no-treponémicos, y reaccionan contra moléculas de naturaleza lipídica (24). Estos anticuerpos no-treponémicos se usan para monitoreo de la respuesta al tratamiento y detección de reinfecciones, dado que se utilizan de forma semi-cuantitativa mediante diluciones seriadas para calcular el la máxima dilución en la que se visualiza la reacción antígeno-anticuerpo, y se compara con el resultado previo registrado del paciente para determinar nueva infección o reinfección (28). Las pruebas no-treponémicas más utilizadas son la prueba del Laboratorio de investigación de Enfermedades Venéreas (VDRL por sus siglas en inglés *Venereal Disease Research Laboratory*), que requiere el uso del microscopio para lectura, y la prueba rápida de reagentes plasmáticos (RPR, por sus siglas en inglés *Rapid Plasma Reagin*) que incluye partículas de carbón para visualizar la unión antígeno-anticuerpo (24). Dado que la lectura de los resultados se hace de forma visual, existen sistemas de control de calidad para estandarizar la interpretación de resultados. En base a la implementación de programas de control de calidad de RPR, se identificó hasta un 25% de falsos positivos y resultados inconsistentes entre laboratorios de Etiopia (29); también se identificaron hasta casi 60% de resultados discordantes para el RPR entre 25 laboratorios en la India (30). En Uganda, se evaluó la concordancia de resultados de RPR entre 3 laboratorios, y se designó un laboratorio de referencia para los resultados discordantes. La concordancia inter-laboratorio varió entre 98,0% y 71,4%, además uno de los laboratorios participantes reportó resultados de RPR que no fueron equivalentes con los

resultados del laboratorio de referencia, encontrándose una diferencia en los resultados del RPR de hasta 3 diluciones, lo que puede influir en el diagnóstico y podría dar lugar a un tratamiento insuficiente o innecesario del paciente (31). Entre las principales desventajas en el desempeño de las pruebas no-treponémicas tenemos la baja sensibilidad en la sífilis primaria y en casos de sífilis latente tardía, reacciones cruzadas con otras condiciones clínicas (enfermedades autoinmunes, malaria, tuberculosis, entre otras) (32, 33) y la necesidad de equipamiento, personal bien entrenado, y la variabilidad de resultados entre operadores y entre diferentes marcas presentes en el mercado. Estos datos demuestran una limitación clave de la prueba RPR y destacan la urgente necesidad de una prueba cuantitativa más reproducible que el RPR para diagnosticar y determinar la cura de la sífilis.

El seguimiento de la respuesta al tratamiento requiere pruebas serológicas trimestrales a partir de la fecha de tratamiento para detectar la disminución de al menos 4 títulos en los resultados de la prueba RPR para evidenciar cura (34), pero en personas viviendo con VIH puede requerirse hasta 24 meses para evidenciar cura (35, 36). Los anticuerpos treponémicos se mantienen circulantes años después de curada la infección, complicando la diferenciación entre casos nuevos y casos curados y no son usados para monitoreo de respuesta al tratamiento (24); hasta 20% de los pacientes que completan tratamiento no evidencian la disminución de 4 títulos de anticuerpos no-treponémicos, o no presentan cambios en su valor de RPR (pacientes “serofast”) (37, 38), generando escenarios de posible falta de

tratamiento o sobretratamiento (39, 40) dado que no existe un entendimiento completo de la respuesta inmune en este grupo de pacientes. Estas situaciones con el tiempo para evidenciar cura, y la falta de herramientas para la detección y caracterización de los pacientes serofast crean dudas en el manejo clínico de pacientes con títulos bajos de RPR.

En los últimos años se han desarrollado nuevas herramientas para el diagnóstico de sífilis, incluyendo la detección de anticuerpos treponémicos y no-treponémicos en un único dispositivo (41), y espectrometría de masas para la detección simultánea de múltiples antígenos en suero y en orina (42, 43). El uso de citoquinas ha resultado una buena alternativa para la detección de casos en otras infecciones, (44-46). En el caso de sífilis, existe un aumento en los niveles de citoquinas pro inflamatorias (interferón- $\gamma$ , factor de necrosis tumoral- $\alpha$  [FNT- $\alpha$ ] e interleukina-6) a las 24 horas post-tratamiento entre pacientes con sífilis secundaria que logran curar comparado con pacientes que permanecen en estado serofast (47). Kenyon *et al*, encontraron niveles más altos de interleukina-10 (IL-10) en pacientes co-infectados con sífilis y VIH, comparados con personas que solo tenían sífilis (48). También existe evidencia que los niveles de IL-10 aumentan hasta casi cuatro veces al momento del diagnóstico de sífilis, comparado con los niveles sin enfermedad previo al diagnóstico, y disminuyen a niveles similares al estado sin enfermedad luego de recibir tratamiento, mientras que los niveles de FNT- $\alpha$  disminuyen significativamente luego del tratamiento (49). Además existe evidencia que los niveles de algunas citoquinas son más bajos en una

reinfección, comparado con los niveles de citoquinas encontrados en la primera infección (50). Otro estudio comparó los niveles de citoquinas entre pacientes con sífilis versus controles sanos, encontrando 16 citoquinas con niveles elevados que pueden ser usadas para la detección de pacientes con sífilis activa (51). A partir de esta primera evidencia, se analizaron sueros de una cohorte de personas a riesgo de adquirir sífilis, y se compararon los niveles de citoquinas en el suero de personas con sífilis en diferentes momentos del seguimiento: en la muestra de suero de la visita previa al diagnóstico de sífilis activa, al momento del diagnóstico de sífilis, y al momento de evidenciar cura, y se calcularon los cambios en las concentraciones de las citoquinas analizadas entre cada medición, para cada sujeto. Se generaron y analizaron pares de citoquinas para evaluar la existencia de una relación directa o inversa en tablas de 2x2 usando los valores de los terciles más altos y más bajos de cada citoquina y se analizó la asociación entre ellas para cada momento de medición y se generó un sistema que permitió clasificar a los sujetos como “casos” o “no casos” (visita previa al diagnóstico y luego de recibir tratamiento). A partir de este análisis se identificaron dos redes de citoquinas (Eotaxin-Rantes-Leptina y Mig-IL1ra-Trail-CD40L) que permitirían identificar a pacientes con sífilis activa y pacientes con infección curada (52).

Sin embargo, en el estudio de Kojima et al, no se evaluaron los niveles de citoquinas de acuerdo al estadio de la enfermedad, pese a que cada estadio de sífilis tiene una presentación clínica distinta y que podría estar relacionada

con la respuesta inmune; además el cambio en los valores de citoquinas se analizó al menos con 90 días entre la visita en la que el sujeto fue diagnosticado con sífilis y el monitoreo para cura. Debido a la necesidad de nuevas herramientas para el monitoreo temprano y oportuno de cura de sífilis, sería útil evaluar si los valores de las 2 redes de citoquinas cambian en un tiempo más corto respecto al valor basal; para evaluar esto, se realizó la medición de 2 redes de citoquinas (Eotaxin-Rantes-Leptina y IL1ra-Trail-CD40L) en el momento del diagnóstico de sífilis y aplicación de tratamiento, y a los 7 días post-tratamiento luego del diagnóstico de sífilis activa en usuarios de clínicas de ITS de Lima y Pucallpa.

### **3.2 Pregunta de Investigación Principal**

¿Cuál la asociación entre el estadio de sífilis y la concentración de dos redes de citoquinas (Eotaxina-Rantes-Leptina y IL1ra-Trail-CD40L) al momento del diagnóstico y tratamiento, y a los siete días post-tratamiento en suero de pacientes diagnosticados con sífilis que se atienden en clínicas de ITS?

### **3.3 Hipótesis Secundarias**

La concentración de dos redes de citoquinas (Eotaxina-Rantes-Leptina y IL1ra-Trail-CD40L) al momento del diagnóstico y tratamiento, es diferente a la concentración a los siete días post-tratamiento en los pacientes diagnosticados con sífilis.



## 3.4 Materiales y Métodos

### 3.4.1 Diseño

Se desarrolló un sub-estudio dentro del estudio Picasso, que es un estudio de cohorte que reclutó a 220 personas con diagnóstico confirmado de sífilis y los dividió en 3 grupos: pacientes con infección *de novo* (sin antecedentes de infección), pacientes con infección repetida, y personas sin información de los antecedentes de infección y que se presentan con una lesión sugerente de chancro en Centros de Referencia de ITS (CERITS) de Lima y Pucallpa (53). El enrolamiento de participantes inició en mayo del 2019 y duró hasta junio del 2022. Los participantes fueron evaluados en la visita inicial, a las 4 semanas del enrolamiento y posteriormente cada 3 meses hasta completar los 12 meses de seguimiento. Cada visita, incluyó una revisión clínica, una entrevista de comportamiento y pruebas rápidas para diagnóstico y monitoreo de sífilis y VIH, además se colectaron muestras para otros estudios inmunológicos y de biología molecular.

Adicional a las visitas planificadas en Picasso, entre junio y noviembre del 2020, un sub-grupo de participantes acudió a una visita extra a los siete días post enrolamiento para la colección de muestras biológicas para evaluar los niveles de citoquinas.

### **3.4.2 Población y diseño muestral**

#### **3.4.2.1 Población**

El estudio madre Picasso se llevó a cabo en cuatro CERITS ubicados en Lima, en los distritos de Barranco, San Juan de Lurigancho, Independencia y el Callao, y un centro adicional en Pucallpa; todos estos centros de salud están claramente identificados y son accesibles para la población objetivo del estudio.

Se reclutaron 220 participantes que viven en Lima o en el Callao o Pucallpa, eran mayores de edad, tienen competencia mental para proveer consentimiento informado para su participación y presentan un nuevo diagnóstico de sífilis, entre los que se definen 3 grupos: a) participantes con una prueba treponémica negativa documentada en los 12 meses previos, b) participantes con una prueba treponémica positiva e historia de tratamiento para sífilis, c) participantes sin antecedentes de sífilis disponibles en el CERITS, pero que presentan chancro (sífilis primaria).

El proyecto de tesis incluyó una muestra del total de los participantes reclutados en el estudio madre Picasso.

##### **3.4.2.1.1 Criterios de inclusión**

Los criterios de inclusión para el estudio Picasso fueron los siguientes:

- Mayoría de edad (>18 años)

- Tener un diagnóstico de sífilis activa
  - Grupo A: participantes con una prueba treponémica negativa documentada en los 12 meses previos. Para el enrolamiento, el paciente debe presentar un resultado reactivo en la prueba RPR, y una prueba confirmatoria positiva (TPPA positivo), además tiene documentada una prueba treponémica previa negativa realizada en los últimos 12 meses en el centro de ITS, por lo que este sería el primer episodio de sífilis del sujeto.
  - Grupo B: participantes con una prueba treponémica positiva registrada en la historia clínica, antecedentes de infección y tratamiento documentado para sífilis. Paciente con un nuevo incremento de 4 títulos en la prueba RPR. o un resultado de la prueba RPR reactivo cuando el RPR previo registrado fue seronegativo, además cuenta con una prueba treponémica positiva previa, documentada en el centro de salud.
  - Grupo C: participantes que presentan una lesión sifilítica pero no cuenta con registro de pruebas de sífilis en el centro de salud y por lo tanto se desconoce su historial de sífilis.
  
- Disposición a participar en el estudio y proveer las muestras biológicas requeridas
  
- Vivir en Lima o el Callao durante el tiempo que dure el estudio
  
- Tener competencia mental para entender el consentimiento informado

Proyecto de Tesis

- Haber sido enrolado en el estudio Picasso
- Disposición a participar en el estudio y proveer las muestras biológicas requeridas a los 7 días luego del diagnóstico y tratamiento de sífilis.

#### **3.4.2.1.2 Criterios de exclusión**

Proyecto Picasso (estudio madre):

- Incapacidad de brindar el consentimiento informado
- Improbable que complete el tiempo de seguimiento del estudio

Proyecto de Tesis

- No presentar datos de la segunda medición de citoquinas (a los 7 días del diagnóstico)
- No tener resultados de laboratorio para el diagnóstico de ITS y VIH
- No tener registro de recibir tratamiento para sífilis
- Ser desenrolado del estudio Picasso

### **3.4.3 Muestreo**

#### **3.4.3.1 Tipo de muestreo**

El tipo de muestreo del estudio Picasso fue consecutivo. El personal de laboratorio informó de resultados sospechosos en las pruebas de tamizaje

para sífilis al coordinador de cada sede, quien revisó los antecedentes de la infección en la historia clínica. Una vez confirmado que el paciente fue elegible, el coordinador de la sede explicó sobre el estudio a los participantes potenciales, para finalmente invitarlos a participar en el estudio y continúe con los procedimientos correspondientes.

En el proyecto de tesis, todos aquellos participantes enrolados de forma consecutiva en el estudio Picasso entre julio y diciembre del 2020, fueron invitados a participar del sub-estudio, y se explicaron los procesos adicionales (i.e. retorno a los 7 días para colección de sangre venosa).

#### **3.4.4 Procedimientos del estudio**

El equipo de trabajo del estudio Picasso realizó la estandarización de los procesos en las sedes donde se lleva a cabo; se preparó al personal médico y demás profesionales de la salud en aspectos clínicos relevantes para el diagnóstico y tratamiento de la sífilis. El personal de laboratorio recibió entrenamiento para la obtención de las muestras biológicas necesarias y para el procesamiento de las pruebas de diagnóstico requeridas en el estudio Picasso. Se entrenó a los coordinadores de cada sede para que puedan explicar los consentimientos informados y los procesos del estudio, además cómo aplicar la encuesta en lenguaje sencillo a los participantes. El protocolo del estudio Picasso, los instrumentos y procesos, además del consentimiento informado fueron evaluados y aprobados por el comité de ética de la UPCH. Además, dado que el estudio Picasso retomó sus actividades luego del periodo de confinamiento entre marzo y junio del

2020, se incorporaron los protocolos de bioseguridad para la atención de los usuarios, incluyendo la aplicación de una ficha de síntomas, y solo acudían al centro de salud cuando no reportaron ningún síntoma relacionado a COVID-19, manteniendo el uso de mascarillas KN95 y o equivalentes durante todo el tiempo que duró la visita, el uso de desinfectante de manos y realizando los procesos en áreas ventiladas y de poco tránsito.

Para el proyecto de tesis, se informó y solicitó permiso a los pacientes enrolados en el estudio Picasso para evaluar su elegibilidad y se extendió la invitación a participar en el nuevo estudio. Se informó a los participantes interesados sobre los riesgos, beneficios y alternativas de unirse al estudio. La estrategia de reclutamiento para el estudio Picasso incluyó los siguientes pasos:

1. Los pacientes que acuden a los servicios de salud de cada CERITS por pruebas o prevención del VIH/ITS y fueron diagnosticados con sífilis eran invitados a participar en el estudio.
2. Se realizó la evaluación de elegibilidad mediante revisión de los antecedentes de sífilis registrados en la historia clínica para poder definir el grupo al cual pertenecería el paciente.
3. En caso el paciente fue elegible para participar en el proyecto basado en las evaluaciones realizadas, recibieron información básica del proyecto Picasso. Aquellos interesados recibieron mayor información sobre los beneficios y riesgos de su participación.

4. Cuando el participante aceptó participar, se obtuvo el consentimiento informado y fue enrolado en Picasso.

5. Una vez finalizado el enrolamiento en Picasso, se informó al participante del proyecto de tesis que se llevará a cabo, incluyendo información sobre la visita de 7 días, y se les invitó a participar.

6. Cuando el participante aceptó participar en el nuevo proyecto de investigación, se obtuvo el consentimiento informado y fue enrolado.

### **3.4.4.1 Recolección de datos**

#### ***3.4.4.1.1 Cuestionarios***

En cada visita del estudio Picasso, los participantes completaron una encuesta en formato Entrevista Personal Asistida por Computadora (CAPI, por sus siglas en inglés Computer-Assisted Personal Interviewing). El cuestionario usado tuvo una duración de 40 minutos y abordó información básica sobre características socio-demográficas, comportamiento sexual de riesgo, antecedentes de diagnóstico previo de sífilis, tratamiento previo, reacciones adversas al tratamiento, estatus de VIH, e historial de enfermedades autoinmunes. La visita de 7 días adicional correspondiente al sub-estudio no incluyó encuesta.

#### ***3.4.4.1.2 Muestras biológicas***

En el estudio madre Picasso, la cantidad máxima de sangre extraída por venopunción estuvo prevista para ser de 20 mL. Se obtuvieron suero y plasma en cantidad suficiente para los procedimientos de tamizaje de VIH,

sífilis y ensayos complementarios y se colectó sangre total en tubos con anticoagulante para realizar el recuento de CD4. En caso de pacientes con pruebas rápidas reactivas para VIH-1, se colectaron muestras de sangre adicionales para realizar la carga viral de VIH-1.

Para el sub-estudio de tesis se obtuvo sangre por venopunción en la visita de 7 días, y se colectó en tubos de sangre apropiados para las pruebas planteadas. El volumen de sangre fue de 12 ml, cantidad que sirvió para realizar el análisis de las citoquinas y para realizar el conteo de linfocitos CD4. Además, se instruyó al participante para que realice la auto colección de hisopos anales, orina o hisopos vaginales según sea el caso para la detección de infección por *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*.

#### **3.4.4.2 Procesamiento de muestras biológicas**

Estudio Picasso:

- Tamizaje de sífilis: El diagnóstico de sífilis se realizó usando una prueba rápida treponémica (Alere Determine™ Syphilis) en paralelo con la prueba RPR, ambas en suero. Las muestras con un resultado reactivo de RPR pasaron a ser semi-cuantificadas hasta obtener la máxima dilución con resultado reactivo. El diagnóstico confirmatorio de sífilis se realizó usando el ensayo de aglutinación partículas de *T. pallidum* (Treponema pallidum particle agglutination Test [TPPA] Fujirebio, Japón).



- Tamizaje de VIH: En los centros de reclutamiento se realizó mediante el uso de pruebas inmunocromatográficas de 4ta generación en suero para la detección de anticuerpos IgG e IgM y el Ag p24 del VIH.
- Recuento de CD4: Se realizó el conteo de Linfocitos CD4+ usando el equipo Alere Pima (Abbott Inc, USA). El sistema usa cartuchos con un sistema de microfluidos que contienen anticuerpos marcados Anti-CD3 y CD4, los cuales se hidratan con la sangre del paciente. Luego del tiempo de incubación para la adherencia de los anticuerpos a las células, estas pasan a una zona en la que una cámara registra imágenes de las células presentes, y reporta el conteo de células/ $\mu$ L de sangre total después de 20 minutos.

Proyecto de Tesis:

- Evaluación de citoquinas: los sueros colectados en la visita de enrolamiento y 7 días después se almacenaron a  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta el momento del procesamiento. Las muestras fueron enviadas al Laboratorio de Inmunología de la Universidad Stanford, donde se realizó la detección de un panel de 45 citoquinas, incluyendo 6 citoquinas (Eotaxina, Rantes, Leptina, IL1ra, Trail, CD40L) mediante citometría de flujo (Luminex multiplex assay, Millipore, LINCO Research Inc, St. Charles, MO).

- Detección de *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis*: El tamizaje de *Neisseria gonorrhoeae* (GC) y *Chlamydia trachomatis* (CT) rectal se realizó en la visita de 7 días post-enrolamiento usando un ensayo molecular con la tecnología TMA (amplificación mediada por transcripción) mediante el ensayo comercial Aptima Combo2 (Hologic Inc, San Diego, USA). La entrega de resultados se realizó en la siguiente visita del estudio Picasso, programada a los 30 días de la visita inicial, y de obtenerse un resultado reactivo para alguno de los patógenos, se brindó el tratamiento respectivo.

### **3.4.5 Variables de estudio**

#### **3.4.5.1 Variable desenlace (dependiente) y co-variable principal (independiente)**

“concentración sérica de citoquinas”. Las citoquinas son un grupo de proteínas que modulan la actividad celular del sistema inmune en procesos inflamatorios o infecciosos y los niveles de concentración en sangre varían como parte de la respuesta inmune de la sífilis. La concentración de citoquinas en suero se obtuvo mediante el ensayo Luminex, que se basa en el procesamiento simultáneo de múltiples biomarcadores usando perlas de diferentes colores a las que se conjuga un marcador fluorescente específico para la molécula de interés, lo que permite cuantificar de manera simultánea varias moléculas en una sola corrida. El procesamiento de muestras se realizó por duplicado y se incluyeron curvas de calibración para calcular la concentración de cada biomarcador en cada corrida,

monitoreando también el número de perlas procesadas para cada uno. Las citoquinas que se midieron para el estudio fueron: Eotaxina, Rantes, Leptina, IL1ra, Trail, CD40L

**Variable independiente:** “estadio clínico de sífilis”. Fase de la enfermedad según historia natural de la enfermedad, que puede identificarse combinando información de la evaluación clínica y las pruebas de laboratorio, incluyendo la prueba RPR y TPHA/TPPA. Los médicos de cada sede recibieron entrenamiento para la identificación de los estadios de sífilis y para el correcto llenado de la ficha clínica. El clínico registró en la historia clínica del participante el estadio corresponde entre las siguientes categorías: “Primaria”, “secundaria”, “Latente precoz”, “Latente tardía”, “sospecha de sífilis terciaria”, “sospecha de neurosífilis”

### 3.4.5.2 Otras co-variables relevantes

Nombre de la Variable	Descripción	Valores posibles
Identidad de género	variable categórica nominal	“transgénero”, “cisgénero”
Orientación sexual	variable categórica nominal	“Heterosexual”, “Gay”, “Bisexual”
Nivel de estudios	variable categórica nominal	“inicial/primaria”, “secundaria”, “universidad o instituto”
Estatus de VIH	variable dicotómica	“positivo” y “negativo”
Antecedentes de sífilis previa	variable categórica nominal	“sí”, “no”, “historial desconocido”
Sexo anal sin preservativo	variable categórica nominal	“Ninguna vez”, “menos de la mitad de las veces”, “la mitad de las veces”, “más de la mitad”, “todas las veces”, “no tuvo sexo anal”

Historial de ITS	variable dicotómica	“si”, “no”
Signos de sífilis	variable dicotómica	“si”, “no”
Infección por clamidia/gonorrea	Variable dicotómica	“si”, “no”
Presencia de chancro	Variable dicotómica	“si”, “no”
Tiempo a cura de sífilis	Variable categórica nominal	“1 mes FU”, “3 meses FU”, “6 meses FU”, “9 meses FU”, “No cura”
Uso de PrEP	Variable categórica nominal	“nunca”, “anteriormente”, “actualmente”

### 3.4.5.3 Gráfico acíclico dirigido (DAG)

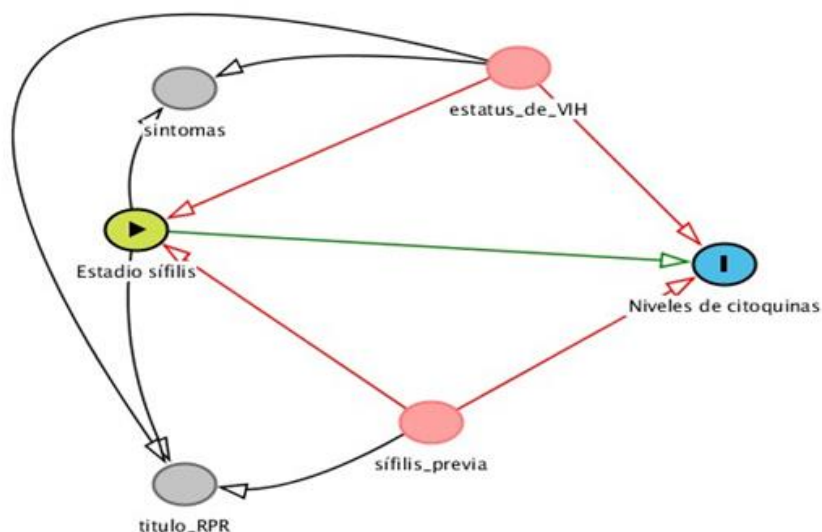


Fig. 1: Gráfico acíclico dirigido propuesto para la asociación entre el estadio de sífilis y los niveles de citoquinas en suero.

### 3.4.6 Procesamiento y análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo reportando la mediana y el rango intercuartil de los valores de citoquinas al enrolamiento y a los 7 días, y también según las principales covariables. Se calculó la diferencia de la concentración de citoquinas en el basal y luego de 7 días usando la prueba

de los rangos con signo de Wilcoxon; para analizar la asociación de las covariables de interés con la concentración de las citoquinas de la visita basal y con la diferencia de los niveles de citoquinas entre el basal y los 7 días se usó la prueba U de Mann-Whitney. El análisis estadístico de los datos se realizó usando el software estadístico STATA 17.

### 3.4.7 Cálculo de tamaño de muestra o potencia estadística

Para realizar el cálculo de tamaño de muestras, se tomaron 2 de las citoquinas pertenecientes a la primera red de citoquinas a evaluar, (Eotaxina-Leptina-RANTES). En comunicación con el Dr. Klausner, se obtuvieron los valores necesarios para el cálculo de muestra.

Tamaño de muestra usando la diferencia en niveles de Leptina. Comparación de medias emparejadas

Desviación estándar de las diferencias:	1709.0
Diferencia de medias a detectar:	1350,0
Nivel de confianza:	95,0%

Potencia (%)	Número de pares
80	15
85	17
90	19
95	23

Tamaño de muestra usando la diferencia en niveles de Eotaxina. Comparación de medias emparejadas

Desviación estándar de las diferencias:	165,0
Diferencia de medias a detectar:	120,0
Nivel de confianza:	95,0%

Potencia (%)	Número de pares
80	17
85	19
90	22
95	27

Para detectar una diferencia de medias de 1350 y 120 MFI con un 80% de Poder en las citoquinas Leptina y Eotaxina respectivamente, se necesitan enrolar al menos 20 sujetos.

### 3.5 Resultados

Se enrolaron 32 sujetos en el sub-estudio de citoquinas, uno de ellos fue excluido ya que se determinó que no era un caso de sífilis activa. La mediana de edad fue 30 años (RIQ: 12), la mayoría 74.2% (23/31) se identificó como cisgénero y un 9.7% (3/31) se identificó como transgénero. De los participantes, 42.0% (13/31) viven con VIH; 9/13 (69.2%) reportaron estar en tratamiento y 5/13 (38.4%) con carga viral de VIH indetectable. Más de un tercio de los participantes (11/31, 35.5%) tiene un historial de infecciones de transmisión sexual. En cuanto al antecedente de sífilis 51.6% (16/31) tenía al menos un episodio previo de sífilis, 32.3% (10/31) tuvieron su primera infección, y 16.1% (5/31) no tenían un historial conocido de sífilis; 32.3% (10/31) fueron casos de sífilis primaria, 9.7% (3/31) fueron casos de sífilis secundaria, 54.8% (17/31) fueron casos de sífilis latente temprana y hubo 1 caso de sífilis latente tardía; 11 (35.5%) de ellos presentaron una lesión sugerente de chancro, y en 8/11 se pudo detectar ADN de *T. pallidum* en la lesión; Casi el total (96.9%, 26/27) de los participantes que regresaron a sus

visitas de seguimiento respondieron al tratamiento (tuvieron una disminución del RPR en al menos 4 títulos) en los 9 meses posteriores al tratamiento (5 al primer mes, 15 a los 3 meses, 5 a los 6 meses y 1 a los 9 meses) y solo 1 no demostró variación en los títulos de RPR hasta el final de su seguimiento (Tabla 1).

Tabla 1: Características de los casos de sífilis enrolados en el estudio

Variable	N	%
Identidad de género		
Trans	3	9.7
Cisgénero	28	90.3
Edad en años	31	30 (12)*
Orientación sexual		
Heterosexual	1	3.2
Homosexual	23	74.2
Bisexual	6	19.6
Status de VIH		
Positivo	13	41.9
Negativo	18	58.1
Sexo sin preservativo en el último trimestre		
Ninguna vez	4	12.9
Menos de la mitad	1	3.2
Mitad de las veces	4	13.9
Más de la mitad	14	45.2
Todas las veces	6	19.3
No tuvo sexo anal	2	6.5
Uso de PrEP		
Anteriormente	1	3.2
Actualmente	10	32.3
Nunca	20	64.5
Antecedentes de sífilis		
Con historial de sífilis	16	51.6

Sin historial	10	32.3
Historial desconocido	5	16.1
Estadio de sífilis		
Sífilis primaria	10	32.3
Sífilis secundaria	3	9.7
Sífilis latente precoz	17	54.8
Latente tardía	1	3.2
Síntomas de sífilis al diagnóstico		
No	24	77.4
Si	7	22.6
Historial de ITS		
No	20	64.5
Si	11	35.5
Signos sífilis al diagnóstico		
No	25	80.7
Si	6	19.3
Clamidia/gonorrea rectal		
Negativo	24	77.4
Positivo	7	22.6
Presencia de lesión al diagnóstico		
No	20	64.5
Si	11	35.5
Presencia de ADN T. pallidum en lesión†		
Negativo	3	27.3
Positivo	8	72.7
Visita de cura sífilis		
1 mes FU	5	18.5
3 meses FU	15	55.6
6 meses FU	5	18.5
9 meses FU	1	3.7
12 meses	0	0
No cura	1	3.7

\*p50 (RIQ)

† En aquellos que presentaron una lesión genital



En cuanto a los valores de citoquinas, encontramos que las medianas de Eotaxina (455.8 [RIQ: 352.5] vs 474.3 [RIQ: 442.3]), Leptina (192.25 [1001.8] vs 157 [891.3]), TRAIL (195.0 [70.0] vs 184.5 [90.8]) y SCD40L (35.5 [74.8] vs 30 [32.8]) fueron diferentes a los 7 días post-tratamiento comparado con la mediana del basal, pero estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (valor  $p > 0.05$ ). Las medianas de RANTES (10073.3 [7465] vs 14697.3 [5604.8]) y de IL1RA (28.5 [11.3] vs 23 [6.8]) fueron diferentes a los 7 días post-tratamiento comparado con la mediana del basal, y estas diferencias si fueron estadísticamente significativas (valor  $p < 0.05$ ) (Tabla 2).

Tabla 2: Análisis de los valores de citoquinas al basal y a los 7 días

Citoquina	Periodo		Valor P
	Basal p50 (RIQ)	7 días p50 (RIQ)	
EOTAXIN	455.8 (352.5)	474.3 (442.3)	0.7989
RANTES	10073.3 (7465)	14697.3 (5604.8)	<b>&lt;0.001</b>
LEPTINA	192.25 (1001.8)	157 (891.3)	0.9219
IL1RA	28.5 (11.3)	23 (6.8)	<b>&lt;0.001</b>
TRAIL	195 (70)	184.5 (90.8)	0.4104
SCD40L	35.5 (74.8)	30 (32.8)	0.1416

En cuanto a los factores asociados a los valores de citoquinas en la visita basal, no existe asociación entre los estadios de sífilis y los valores de citoquinas (valor  $p > 0.05$ ); Encontramos asociación entre los niveles de RANTES son mayores en las personas con antecedentes de sífilis (Mediana: 12033.5 [RIQ: 8745.63] vs 8095.875 [7963.8], valor  $p = 0.05$ ); También encontramos que la

mediana de 3 citoquinas es mayor entre las personas infectadas con VIH vs personas sin VIH: Eotaxina (752.3 [356.5] vs 314.5 [205.8]), IL1RA (31.5 [13.5] vs 25.5 [8.0]) y TRAIL (227.5 [165.3] vs 179.0 [62.3]) (valor  $p < 0.05$ ); Además encontramos que la mediana de Leptina es mayor entre quienes curan luego de 6 meses vs los que curan en los primeros 6 meses post-tratamiento y los valores de Leptina (1173.4 [1565.5] vs 136.8 [360.9], valor  $p < 0.05$ ) (Tabla 3).

En cuanto a los factores asociados a la diferencia de los valores de citoquinas entre basal y a los 7 días post-tratamiento, tenemos que no existe asociación entre los estadios de sífilis y los valores de citoquinas (valor  $p > 0.05$ ); Tampoco encontramos asociación entre los niveles de las citoquinas analizadas y los antecedentes de sífilis, ni encontramos asociación entre el tiempo de cura y los valores de citoquinas (valor  $p > 0.05$ ). Encontramos que el status de VIH está asociado a 3 de las citoquinas evaluadas: Los niveles de Eotaxina entre personas infectadas con VIH disminuyen a los 7 días comparado con el basal mientras que en personas VIH negativas aumenta (Mediana: -133.3 [230.5] vs 83.9 [RIQ: 281.5]); los niveles de IL1RA entre personas infectadas con VIH disminuyen a los 7 días comparado con el basal mientras que en personas VIH negativas también disminuye (-5.5 [7.5] vs -2.9 [3.5]) y los niveles de SCD40L entre personas infectadas con VIH disminuyen a los 7 días comparado con el basal mientras que en personas VIH negativas aumenta SCD40L (-38.5 [74] vs 2.3 [27.3]) (valor  $p < 0.05$ ); Además encontramos que existe asociación entre

el reporte de síntomas de sífilis y los valores de Leptina (-1.8 [99.4] vs -109.3 [502], valor  $p=0.03$ ); Finalmente encontramos asociación entre la presencia de lesión sífilítica y los valores de SCD40L (2.3 [41.3] vs -38.5 [79.8], valor  $p=0.02$ ) (Tabla 3).

Tabla 3: Análisis bivariado entre los niveles de citoquinas en la visita basal y variables de interés

Variable	N	EOTAXIN		RANTES		LEPTIN		IL1RA		TRAIL		SCD40L	
		Basal p50 (RIQ)	valor p	Basal p50 (RIQ)	valor p	Basal p50 (RIQ)	valor p	Basal p50 (RIQ)	valor p	Basal p50 (RIQ)	valor p	Basal p50 (RIQ)	valor p
<b>Identidad de genero</b>			0.947		0.061		0.229		0.841		0.350		0.504
Cis	28	440.8 (430.4)		9580.4 (7485.6)		228.5 (1076.0)		28.5 (10.4)		190.6 (68.4)		35.5 (68.0)	
Trans	3	496.0 (337.5)		15030.5 (5686.8)		149.0 (126.0)		31.5 (12.8)		233.5 (119.0)		92.25 (104.5)	
<b>Status de VIH</b>			<b>0.001</b>		0.522		0.246		<b>0.028</b>		<b>0.020</b>		0.114
Negativo	18	314.5 (205.8)		11222.9 (7793.8)		267.5 (1155.5)		25.5 (8.0)		179.0 (62.3)		34.0 (34.0)	
Positivo	13	752.3 (356.5)		9366.5 (9508.5)		117.5 (142.8)		31.5 (13.5)		227.5 (165.3)		70.3 (79.3)	
<b>Uso de PrEP</b>			0.052		0.386		0.342		0.069		0.342		0.375
Alguna vez	11	355.5 (174.8)		9794.3 (8590.0)		242.5 (1155.5)		25.0 (7.5)		186.3 (78.0)		34.5 (68.5)	
Nunca	20	510.4 (510.1)		10990.3 (7167.5)		137.9 (581.4)		31.0 (10.9)		202.8 (107.8)		46.5 (78.6)	
<b>Antecedentes de sífilis</b>			0.065		<b>0.045</b>		0.317		0.154		0.280		0.544
Con historial de sífilis	16	497.5 (447.8)		12033.5 (8745.63)		113.6 (786.8)		31.0 (17.8)		208.8 (104.8)		47.8 (79.5)	
Sin historial	10	327 (205.8)		8095.875 (7963.8)		325.5 (938.3)		26.0 (6.0)		181.5 (66.0)		34 (63.0)	
<b>Estadio de sífilis</b>			0.749		0.215		0.246		0.207		0.889		0.749
Sífilis temprana	13	425.8 (523.8)		9366.5 (4398.5)		233.5 (1139.8)		25.5 (9.0)		210.5 (75.8)		36.0 (93.3)	
sífilis tardía	18	485.9 (289.5)		12033.5 (8433.5)		132.9 (398.8)		30.3 (12.0)		190.6 (60.5)		35.5 (61.0)	

<b>Síntomas de sífilis</b>			0.962		0.119		0.108		1.000		0.603		0.508
No	24	465.8 (303.3)		11915.4 (6829.5)		152.5 (360.9)		28.6 (7.8)		198. (68.5)		35.8 (68.9)	
Si	7	330.0 (593.8)		7838.8 (2239.5)		836.3 (2918.5)		25.5 (20.0)		173.8 (65.8)		24.8 (85.5)	
<b>Historial de ITS</b>			0.231		0.563		0.934		0.967		0.160		0.445
No	20	421.3 (361.8)		9580.4 (7669.8)		189.8 (880.5)		28.6 (8.9)		181.5 (63.4)		35.0 (77.4)	
Si	11	475.8 (642.0)		11907.3 (6623.3)		192.3 (1150.0)		27.8 (19.5)		222.5 (186.5)		36.3 (70.5)	
<b>Signos sífilis</b>			0.250		0.881		0.294		0.305		0.134		0.424
No	25	425.8 (249.5)		10073.3 (7151.3)		149.0 (1010.3)		28.5 (9.3)		186.3 (60.0)		35.5 (62.3)	
Si	6	758.6 (589.3)		10636.9 (7206.5)		263.0 (644.0)		29.6 (41.8)		298.9 (292.8)		67.3 (82.5)	
<b>CT/NG rectal†</b>			0.321		0.850		0.925		0.267		0.832		0.688
Negativo	24	465.8 (402.9)		10305.9 (6983.4)		170.6 (1076.0)		28.6 (11.9)		198.4 (65.9)		35.5 (78.0)	
Positivo	7	373.5 (412.8)		9035.8 (9292.3)		233.5 (331.5)		26.5 (6.8)		195.0 (131.8)		36.3 (73.8)	
<b>Presencia de lesión</b>			0.837		0.483		0.457		0.420		0.918		<b>0.099</b>
No	20	497.5 (313.3)		11231.0 (7929.4)		174.1 (574.8)		28.1 (7.0)		184.5 (77.9)		34.0 (48.1)	
Si	11	425.8 (536.5)		9366.5 (6455.8)		242.5 (2731.3)		31.5 (19.5)		210.5 (66.0)		70.3 (92.8)	
<b>Visita de cura sífilis‡</b>			0.903		0.952		<b>0.04</b>		0.330		0.692		0.378
Cura antes de 6 meses	20	450.8 (325.8)		10471.5 (8753.3)		136.8 (360.9)		30.3 (9.5)		188.9 (58.5)		48.1 (79.5)	

Cura en 6 meses o mas	6	357.9 (514.0)	10166.4 (4928.0)	1173.4 (1565.5)	24.0 (18.8)	209.9 (71.8)	28.6 (88.8)
--------------------------	---	---------------	------------------	-----------------	-------------	--------------	-------------

---

\*5 participantes no tenían historial conocido de sífilis y no entraron en el análisis

†CT: Clamidia; NG: Gonorrea

‡4 participantes no regresaron para sus visitas de seguimiento y 1 participante no disminuyó los títulos de RPR para ser considerado cura

Tabla 4: Análisis bivariado entre los factores asociados a la diferencia de los valores de citoquinas entre basal y a los 7 días post-tratamiento

Variable	N	EOTAXIN		RANTES		LEPTIN		IL1RA		TRAIL		SCD40L	
		Diferencia 7d – Basal P50 (RIQ)	valor P	Diferencia 7d - Basal P50 (RIQ)	valor P	Diferencia 7d - Basal P50 (RIQ)	valor P	Diferencia 7d - Basal P50 (RIQ)	valor P	Diferencia 7d - Basal P50 (RIQ)	valor P	Diferencia 7d - Basal P50 (RIQ)	valor P
<b>Identidad de genero</b>			0.548		0.504		0.894		0.920		0.385		0.548
Cisgénero	28	-7 (250.8)		3650 (6306)		-6.8 (126.6)		-4 (5.4)		-3.1 (51.4)		-1.9 (52)	
Trans	3	78.3 (2119)		2023.5 (4870)		1 (16.3)		-3.3 (12.5)		-14.5 (58.5)		-39.8 (87.3)	
<b>Status de VIH</b>			<b>0.008</b>		0.749		0.401		<b>0.028</b>		0.484		<b>0.034</b>
Negativo	18	83.9 (281.5)		4203.6 (4502.5)		-1.4 (788.5)		-2.9 (3.5)		-3.1 (36.3)		2.3 (27.3)	
Positivo	13	-133.3 (230.5)		3091 (7229)		-7.3 (47.8)		-5.5 (7.5)		-19.3 (65.1)		-38.5 (74)	
<b>Uso de PrEP</b>			0.201		0.967		0.201		0.223		0.773		0.386
Alguna vez	11	-9 (692.5)		3280 (5004.8)		17.8 (837)		-2.5 (5.3)		-11.8 (54.5)		2.3 (80)	
Nunca	20	-3 (281)		3985.9 (6703.3)		-6.8 (77.7)		-4 (7.5)		-2.9 (42.3)		-6 (49.9)	
<b>Antecedentes de sífilis*</b>			0.562		0.246		0.916		0.598		0.399		0.414
Con historial de sífilis	16	-17.8 (287.6)		1520.6 (6360.1)		-2.6 (66.4)		-4.1 (8.3)		0.8 (57.8)		-1.9 (65)	
Sin historial	10	30.9 (191.8)		5153.5 (3105.5)		-4.6 (922.3)		-3.6 (3.8)		-13.1 (32.8)		1.1 (76.8)	

<b>Estadio de sífilis</b>			0.841		0.379		0.447		0.749		0.459		0.447
Sífilis temprana	13	70.8 (250.8)		3867.8 (4362)		-12.8 (115)		-3.3 (4.5)		1.3 (38.5)		-6.3 (48.5)	
Sífilis tardía	18	-12.4 (206.3)		3185.5 (6146)		-2.6 (84.3)		.4 (6)		-13.1 (53)		1.25 (46.8)	
<b>Síntomas de sífilis</b>			0.741		0.238		<b>0.026</b>		0.832		0.723		0.850
No	24	-12.4 (250.8)		3356.1 (6469.9)		-1.8 (99.4)		-3.6 (5)		-3.1 (60)		-3.1 (57.5)	
Si	7	70.8 (378)		4708 (5180.3)		-109.3 (502)		-4 (8.8)		-10 (29.5)		-3.3 (64.8)	
<b>Historial de ITS</b>			0.302		0.457		0.620		0.509		0.710		0.186
No	20	-3 (174.9)		4203.6 (6430.9)		-7.4 (76.8)		-4 (6.4)		-2.9 (45.1)		1.9 (72.375)	
Si	11	-74.3 (330)		3091 (5227.5)		17.3 (147.5)		-3.2 (4.5)		-19.3 (91.5)		-7 (42.3)	
<b>Signos sífilis</b>			0.294		0.726		0.368		0.395		0.901		0.803
No	25	-5 (206.3)		3432.3 (5004.8)		-6.3 (311)		-3.3 (4.8)		-6.8 (37.5)		-0.5 (44.5)	
Si	6	-68.1 (371)		2584.1 (6905)		-34.4 (311)		-4.4 (16.5)		-1.6 (159)		-24.9 (64.3)	
<b>CT/NG rectal<sup>†</sup></b>			0.777		0.143		0.777		0.435		0.637		0.555
Negativo	24	-3 (271.3)		4203.6 (4451.1)		-6.8 (126.6)		-4 (4.9)		-6.8 (53.8)		-1.9 (53.1)	
Positivo	7	-9 (206.3)		-330.5 (6727.8)		1 (31.3)		-2 (9.8)		2.8 (43.7)		-11 (62.8)	
<b>Presencia de Lesión</b>			0.265		0.173		0.302		0.577		0.665		<b>0.023</b>



No	20	32.9 (182.1)	2135.8 (6742.1)	-7.4 (77.6)	-3.6 (5.6)	-4.8 (52.5)	2.3 (41.3)	
Si	11	-74.3 (330)	4704.3 (3861)	17.8 (121.3)	-4.3 (7.8)	-6.8 (48.8)	-38.5 (79.8)	
<b>Visita de cura sífilis‡</b>			0.201	0.361	0.273	0.784	0.411	0.273
Cura antes de 6 meses	20	-7 (188.1)	4621.9 (6684.4)	-6.8 (70.3)	-4 (4.8)	-4.8 (51.0)	-7.1 (71)	
Cura en 6 meses o mas	6	132 (653.3)	1646.5 (2816)	415.4 (974)	-3.3 (7.8)	-22.9 (64.3)	9.8 (96)	

\*5 participantes no tenían historial conocido de sífilis y no entraron en el análisis

†CT: Clamidia; NG: Gonorrea

‡4 participantes no regresaron para sus visitas de seguimiento y 1 participante no disminuyó los títulos de RPR para ser considerado cura

### **3.6 Discusión**

En nuestro estudio aplicamos 2 redes de citoquinas que fueron reportadas previamente para detectar casos de sífilis activa y evaluamos si existía diferencias en los niveles de estas citoquinas entre los estadios de la infección; Encontramos que no existe asociación entre los niveles de las citoquinas evaluadas y estadios de la enfermedad en personas con sífilis usuarias de clínicas de ITS. No existen muchos estudios que analicen estas citoquinas. Kojima et al reportaron que podían diferenciar casos activos de sífilis versus personas sin sífilis (sanos y curados) usando las citoquinas analizadas en nuestro estudio, pero no analizaron diferencias en los niveles de citoquinas según estadios de sífilis entre los casos positivos (52) y evaluamos. Podwilska et al analizaron citoquinas relacionadas a activar la respuesta celular y reportó que se encuentran en sus niveles más altos durante la sífilis primaria pero van disminuyendo en los estadios posteriores, mientras que los niveles de citoquinas reguladoras de la respuesta inmune van en aumento según los estadios de la enfermedad (54)

Los niveles de RANTES y de IL1RA a los 7 días fueron diferentes comparados con los niveles del basal. RANTES es una quimioquina que promueve el desplazamiento de fagocitos y células T, y se encuentra elevada durante la etapa pro-inflamatoria junto con IFN- $\gamma$  y IL-6 en monos Rhesus infectados con *M. tuberculosis* (55). Además, Stojewska et. al. encontraron que los niveles de RANTES eran más elevados en neonatos con sepsis comparados con neonatos sanos (56). Existe evidencia que la producción insuficiente de RANTES está asociado con defectos en

la respuesta inmune a Malaria (57) y se ha encontrado una correlación inversa entre los niveles de RANTES y la carga viral de VIH (58). Los niveles más altos de RANTES a los 7 días comparado con los niveles basales en nuestro estudio podría deberse a la activación de la fagocitosis y otras vías del sistema inmune por el aumento de antígenos treponémicos circulantes debido a la destrucción de *T. pallidum* luego de la aplicación del tratamiento (59, 60); IL1RA funciona como un elemento anti-inflamatorio actuando sobre los receptores de IL1, interrumpiendo el estímulo de IL1. Se ha reportado que los niveles de IL1RA se encuentran elevados en pacientes con dengue y está asociado a la presencia de fiebre (61). Además, en un estudio que comparaba los niveles de citoquinas entre pacientes con tuberculosis activa versus tuberculosis latente, los niveles de IL1RA eran más altos en el grupo de tuberculosis activa (62). En nuestro análisis los niveles de IL1RA fueron menores a los 7 días comparados con el basal, y podría encontrarse disminuido para que la respuesta inflamatoria responda al estímulo causado por los antígenos treponémicos circulantes.

Encontramos que el status de VIH está asociado a los valores de Eotaxina, IL1RA y TRAIL en la medición basal, y también a los niveles de Eotaxina, IL1RA y SCD40L en la diferencia entre la visita basal y los 7 días post-tratamiento. En el estudio de Kojima et al no hubo asociación entre los niveles de citoquinas y el status de VIH (52). Existe evidencia de que los niveles de Eotaxina en plasma son mayores en personas coinfectadas con VIH y Hepatitis C (63) comparado con personas infectadas únicamente con HCV; además se encuentra elevado en el líquido seminal de varones y en el tracto genital de mujeres infectados con VIH (64, 65); y se

encuentra asociada con niveles bajos de linfocitos CD4 (66) y niveles altos de carga viral (67). IL1RA se encuentra elevado en pacientes con VIH que presentan coinfección con tuberculosis y podría estar asociado con desenlaces más severos (68, 69), además podría ser utilizado como un marcador de progresión temprana para la infección con VIH (70). TRAIL es una citoquina de la familia del Factor de Necrosis Tumoral, que se encuentra elevada en pacientes con VIH, y está asociada a la apoptosis de linfocitos CD4 y CD8 infectados y no infectados (71), Está reportado que la coinfección de sífilis y VIH está asociado a niveles bajos de linfocitos CD4 en sangre e incremento de la carga viral de VIH (72) además aumenta la frecuencia de falla al tratamiento con TAR (73) posiblemente por alteraciones en la respuesta inmune innata y adquirida.

Existen ciertas limitaciones en nuestro estudio. Nuestro estudio incluyó sujetos con diferentes estadios de sífilis, la gran mayoría con estadio latente, que generalmente no presentan síntomas, y puede que la respuesta inmune asociada de esta presentación clínica no haya permitido encontrar diferencias estadísticamente significativas entre estadios para las citoquinas analizadas, o es posible que se necesite un mayor número de sujetos con sífilis para evidenciar las diferencias entre los estadios de la enfermedad, comparado a diferenciar casos de sífilis de aquellos que no son casos. En nuestro estudio se analizaron 2 grupos de citoquinas que fueron utilizadas por Kojima et al para diferenciar casos de sífilis de aquellos que no eran casos, pero las muestras analizadas en ese estudio tuvieron intervalos de al menos 90 días entre visitas (52), y puede que las diferencias en los niveles de citoquinas analizadas no sean observables a los 7 días post-tratamiento. Pastuszczak et al.

analizaron los niveles de citoquinas en pacientes con sífilis secundaria y encontraron diferencias en los niveles de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e IL-6 a las 8 horas post-tratamiento en sujetos que curaron comparado con sujetos en estadio serofast (47), sin embargo en nuestro análisis casi todos los sujetos curaron dentro del periodo de seguimiento excepto 1, por lo que no pudo explorarse la utilidad de las citoquinas evaluadas para identificar casos serofast pero si pudimos encontrar diferencias entre los niveles de Leptina para aquellos que curaron en los primeros 6 meses versus aquellos que curaron luego de los 6 meses.

En nuestro estudio, las concentraciones de las citoquinas medidas en los casos de sífilis antes y después del tratamiento fueron diferentes, pero esta variación no estuvo asociada al estadio de la enfermedad ni a los antecedentes de sífilis, pero sí estuvo asociada al estatus de infección por el VIH. Es posible que sea necesario seguir investigando en otras poblaciones, incluir otras citoquinas y utilizar otros intervalos de tiempo que puedan reflejar el efecto del estadio, en la respuesta inmune a sífilis.

## **V. INVESTIGACIÓN 2: Incidencia de sífilis y su asociación con la adherencia a la PrEP entre hombres que tienen sexo con hombres y mujeres transgénero que usan PrEP en Perú**

### **4.1 Justificación**

Sífilis es una infección reemergente y se estima que hubieron 6.3 millones de casos nuevos en el mundo el año 2016 (74). En América Latina y el Caribe, los grupos que concentran la mayor cantidad de casos de sífilis son los hombres que tienen sexo con hombres (HSH) y mujeres transgénero (MT) (75) y también en Perú, la sífilis afecta principalmente a los HSH y MT (16, 76). Los factores de riesgo más importantes asociados a sífilis son el reporte de conductas sexuales riesgosas (sexo anal sin protección, múltiples compañeros sexuales, el rol sexual), además la infección por VIH aumenta el riesgo de adquisición (77) (78-80).

El VIH sigue siendo un problema de salud pública a nivel global, se reportan 39 (33.1–45.7) millones de personas viviendo con VIH al 2022; 2.2 (2.0 - 2.5) millones de personas viviendo con VIH en América Latina, siendo las poblaciones más afectadas los HSH y MT (81)

La profilaxis pre-exposición (PrEP) ha demostrado ser efectiva como estrategia de prevención del VIH. El estudio iPrEX reportó una reducción de 44% en la transmisión del VIH en HSH y MT (82). Estudios posteriores demostraron un nivel de protección superior para PrEP, entre ellos los estudios IPERGAY y

PROUD que mostraron una reducción en 86% el riesgo de adquirir VIH usando diferentes esquemas de toma de PrEP (83) (84).

En los estudios mencionados, la eficacia protectora de la PrEP estuvo asociada a la adherencia al régimen de toma de medicamentos. En la etapa de ensayo clínico de iPrEX, solo 51% tenían una concentración de medicamento que alcanzaba niveles protectores (82), pero, en la fase de etiqueta abierta, más del 70% de los participantes tenía niveles protectores de medicamento (85). En IPERGAY, se detectó Tenofovir y Emtricitabina en más del 80% de la cohorte y un 72% reportó estar usando PrEP (83). En la fase de etiqueta abierta de IPERGAY, se detectó Tenofovir en 71% de los participantes, y el reporte de uso de PrEP fue de 74% (86). En el ensayo clínico PROUD, en una sub muestra de 52 participantes que reportaron tomar PrEP, todos tenían niveles detectables de medicamento (84). Además de usar la concentración de medicamento en sangre como marcador del uso de medicamento, otras mediciones de adherencia a PrEP tienen un buen desempeño: En Brasil el auto-reporte de uso de medicamento tuvo una sensibilidad similar al conteo de pastillas y al ratio de posesión de medicamento (MPR, por sus siglas en ingles) para identificar a personas adherentes con niveles de medicamento protectores o adecuados en sangre (87).

Además del efecto protector de la PrEP sobre VIH, se evaluó el cambio en las conductas sexuales de los usuarios, y el riesgo de adquirir otras infecciones de transmisión sexual (ITS) durante el uso de PrEP. En iPrEx, el reporte de sexo

sin protección se redujo 23%; sin embargo, casi la cuarta parte de los que reportaron sexo con condón al enrolamiento, tuvieron sexo sin protección alguna vez durante el seguimiento; además disminuyó el número de parejas sexuales, aumentó el sexo con preservativo, y disminuyó la incidencia de sífilis (88). En la fase abierta, disminuyeron el número de parejas sexuales, el sexo no protegido y la incidencia de sífilis entre los participantes usuarios de PrEP (85). En IPERGAY, el no uso de preservativo en el último acto sexual (70.3%) el igual que el reporte de sexo anal receptivo sin preservativo (69.3%) durante el seguimiento se mantuvo sin cambios; pero si disminuyó el número de parejas sexuales reportadas (89). En la fase de etiqueta abierta, el número de parejas sexuales fue estable durante el seguimiento, el reporte de sexo sin protección aumentó hacia el final del seguimiento respecto al basal, y la incidencia de ITS (sífilis, clamidia o gonorrea) fue mayor comparada con la fase de ensayo clínico (59% vs 49%) (86). Otros estudios reportaron que en usuarios de clínicas de ITS, la incidencia de ITS era mayor durante el periodo de uso de PrEP al comparar los registros antes y después del inicio de PrEP (90, 91), y también hubo una reducción en el reporte de sexo protegido (91). Además en Australia, entre HSH usuarios de PrEP se reportó aumento del sexo no protegido y de los casos de ITS, además de un incremento en el auto-reporte de adherencia al PrEP, durante los primeros 12 meses de uso (92). Un análisis cualitativo en usuarios de PrEP del estudio PROUD, encontró que aproximadamente la mitad de los entrevistados disminuyeron la aplicación de estrategias de reducción de riesgo, además aquellos que usaban preservativo de forma inconsistente, mantuvieron esa conducta durante el uso de PrEP (93).



Existe evidencia del cambio de conductas por uso de PrEP, y del aumento de casos de ITS entre los usuarios de PrEP comparado con no-usuarios y cuando se comparan periodos de uso de PrEP vs periodos previos; Sin embargo, no existe evidencia suficiente sobre el efecto de la adherencia al régimen de PrEP, (i.e. comparar una mayor adherencia vs una adherencia baja al régimen de PrEP) y su efecto sobre la incidencia de ITS, específicamente de sífilis. Esta información sería de mucha utilidad para los sistemas de salud que tienen planeado la incorporación de PrEP en el esquema de prevención del VIH.

El estudio de Implementación de PrEP (ImPrEP) es un proyecto que se ha desarrollado en 3 países de América Latina: Brasil, México y Perú y demostró la factibilidad de la implementación de un régimen administración de PrEP oral diaria para usuarios HSH y Trans en centros de salud públicos (94).

En este análisis, se evaluó la asociación entre la adherencia al régimen de PrEP diario y la incidencia de sífilis en HSH/TG usuarios de clínicas de ITS de Perú enrolados en el estudio de implementación ImPrEP, el objetivo es describir la dinámica de la sífilis en HSH/TG usuarios de PrEP de Perú, generar evidencia en la región del efecto de PrEP para adaptar las estrategias de control de las ITS que acompañen oportunamente la implementación de esta nueva herramienta de prevención del VIH en Perú.

## **4.2 Pregunta de Investigación Principal**

¿Cuál es la asociación entre la adherencia a PrEP y la incidencia de Sífilis en hombres que tienen sexo con hombres y mujeres transgénero usuarios de clínicas de ITS, enrolados en el estudio de implementación ImPrEP?

## **4.3 Hipótesis Secundarias**

Se hipotetiza que el sexo anal sin protección y el número de parejas está asociada a la incidencia de sífilis

Se hipotetiza que la incidencia de sífilis estuvo asociada al historial de ITS y al reporte de sífilis previa.

## **4.4 *Materiales y Métodos***

### **4.4.1 Diseño**

El presente trabajo es un estudio longitudinal. Se realizó el análisis secundario de los datos recolectados desde el enrolamiento en mayo del 2018 hasta el 30 de junio del 2021 en Perú del estudio de implementación ImPrEP, un estudio de implementación de PrEP desarrollado en Brasil, México y Perú.

## **4.4.2 Población y diseño muestral**

### **4.4.2.1 Población**

La población del presente estudio incluye HSH y MT en riesgo de contraer la infección por VIH en Perú y participan en el Proyecto de Implementación de la Profilaxis Previa a la Exposición al VIH (ImPrEP). ImPrEP es un proyecto demostrativo multicéntrico de PrEP, bajo el régimen con los fármacos co-formulados Emtricitabina/Tenofovir disoproxil fumarato (TDF/FTC), recetados por vía oral una vez al día en una cohorte de HSH y a MT usuarios de clínicas de ITS en Brasil, México y Perú. Brevemente, a partir de mayo 2018 hasta fines de diciembre de 2021, se evaluaron a HSH y MT usuarios de los CERITS y UAMPS de diferentes regiones del país. Los participantes potenciales debían reportar ciertas conductas sexuales de riesgo para ser incluidos en el estudio, y además se realizó el tamizaje de VIH e ITS; a las personas VIH-negativas se les ofreció el paquete de prevención combinada disponibles en cada centro de enrolamiento (i.e. dispensa de preservativos y lubricantes, profilaxis post-exposición [PEP], y tratamiento antirretroviral [TARV] como prevención de la transmisión) y el régimen de PrEP diario. Los participantes fueron monitoreados trimestralmente para evaluar cambios en el comportamiento sexual de riesgo, la incidencia de ITS, efectos secundarios, toxicidad renal, adherencia al tratamiento, y seroconversión del VIH (94) . Los centros incluidos fueron los siguientes:

<b>CIUDAD</b>	<b>SEDE</b>
Lima	Centro de Salud Alberto Barton
Lima	Centro Materno Infantil San José
Lima	Centro Materno Infantil Tahuantinsuyo bajo
Lima	CERITS Tres Compuertas de Caja de Agua
Lima	Investigaciones Médicas en Salud (Privado)
Pucallpa	Uamp del Hospital Amazónico
Ica	CERITS del Hospital Regional de Ica
Pisco	Uamp del Hospital San Juan Bautista
Chimbote	CERITS del Hospital La Caleta
Trujillo	CERITS del Hospital Regional Docente de Trujillo

El proyecto de tesis usó los datos recolectados del estudio ImPrEP hasta Junio del 2021 para realizar un análisis prospectivo de tipo longitudinal, que tiene como objetivo principal evaluar la asociación entre la adherencia a la PrEP y la incidencia de Sífilis en HSH/MT usuarios de los CERITS y UAMPS que participan en el proyecto.

#### **4.4.2.1.1 Criterios de inclusión para el Estudio Madre**

1. Sexo masculino (al nacer).
2. Reportar tener sexo con al menos una pareja masculina (HSH) o identificarse como Mujer Transgénero (MT)
3. Capacidad y disposición y para proporcionar el consentimiento informado por escrito.
4. Edad  $\geq$  18 años.

5. Evidencia de no estar infectado por VIH-1 (resultados negativos en una prueba de VIH de cuarta generación y en una prueba de amplificación de ácidos nucleicos de VIH (NAAT) en plasma al enrolamiento.
6. Reporte de conductas sexuales de riesgo para contraer la infección por VIH-1, incluyendo cualquiera de los siguientes factores reportados dentro de los 6 meses previos al enrolamiento:
  - a. Sexo anal sin preservativo con parejas sexuales de sexo masculino o transgénero
  - b. Sexo anal con al menos una pareja VIH +
  - c. Gonorrea o clamidia uretral o anal, o sífilis o diagnosticadas en el enrolamiento
  - d. Reporte de intercambio de sexo por dinero, regalos, refugio o drogas.
7. Para este proyecto además es necesario que el participante cumpla con haber asistido al menos a 1 visita de seguimiento.

#### **4.4.2.1.2 Criterios de inclusión del proyecto de tesis**

1. Para este análisis además es necesario que el participante cumpla con haber asistido al menos a 1 visita de seguimiento.

#### **4.4.2.1.3 Criterios de exclusión para el Estudio Madre**

1. Los Signos o síntomas de infección aguda por VIH.
2. Aclaramiento de creatinina  $< 60\text{ml/min}$  según la fórmula del MDRD (Modification of Diet in Renal Disease).

3. Infecciones activas y graves previamente diagnosticadas, incluyendo tuberculosis u osteomielitis e infecciones que requieran terapia antibiótica parenteral (excepto las ITS que requieran inyecciones intramusculares de antibióticos). Para los casos de personas con tuberculosis, los sujetos podían ser re-evaluadas luego de al menos 15 días después de haber iniciado el esquema de tratamiento para TB.
4. Presentar cuadros clínicamente significativos, incluyendo enfermedad cardiaca mal controlada (por ejemplo, síntomas de isquemia, insuficiencia cardiaca congestiva) o diagnóstico previo de neoplasia maligna que requiera tratamiento adicional.
5. Antecedentes de fracturas patológicas de hueso no relacionadas con traumatismos.
6. Estar recibiendo tratamiento con cualquiera de los siguientes: ART, incluyendo análogos de nucleósidos, inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa, inhibidores de proteasa o agentes antiretrovirales en investigación, terapia con interferón (alfa, beta o gamma) o interleucina (por ejemplo, IL-2), agentes con potencial nefrotóxico significativo, otros agentes que pueden inhibir o competir por la eliminación mediante secreción tubular renal activa (por ejemplo, probenecid) y / u otros agentes de investigación.
7. Participación concomitante en un ensayo clínico utilizando agentes de investigación, incluidos ensayos clínicos controlados con placebo que utilicen dichos agentes.

#### **4.4.2.1.4 Criterios de exclusión para el proyecto de Tesis**

1. Para este proyecto los participantes que no tengan registro de pruebas para sífilis en la visita de enrolamiento o en los seguimientos

### **4.4.3 Muestreo**

#### **4.4.3.1 Tipo de muestreo**

El estudio ImPrEP aplicó el muestreo de tipo consecutivo para el enrolamiento de participantes. El proceso de enrolamiento iniciaba con el personal encargado de la consejería de prevención de VIH, quien brindaba una breve introducción sobre el estudio ImPrEP a los usuarios considerados participantes potenciales, se encargaba de absolver algunas dudas, y luego se les invitaba participar en el estudio; acto seguido, eran derivados con el coordinador de estudio de cada sede quien aplica un cuestionario breve sobre comportamiento sexual de la persona elegible para saber si este cumple con los criterios de inclusión, y en caso de aceptar participar, el participante firma el consentimiento informado para ingresar al estudio.

#### **4.4.4 Procedimientos del estudio**

La estrategia de reclutamiento se describe de la siguiente forma: Los HSH y las MT que acuden a los servicios de salud por pruebas o prevención del VIH / ITS fueron invitados a participar en una sesión de consejería sobre evaluación y manejo de riesgo de VIH / ITS y firmaron un consentimiento informado para evaluar su elegibilidad. Luego recibieron información sobre prevención y manejo del riesgo para VIH, incluyendo PrEP en base al riesgo

estimado. El personal del proyecto explicó los riesgos y beneficios del uso de PrEP y los objetivos del estudio. Después, se invitó a participar en la cohorte ImPrEP a las personas que reportaron un riesgo sustancial para VIH y cumplían con los criterios para ingresar al estudio ImPrEP. Para el proceso de enrolamiento, se asignó un número de identificación del participante (PID) y también continuaron los procedimientos del estudio para determinar los criterios finales de inclusión y exclusión mediante la encuesta de enrolamiento y tamizaje de VIH. Aquellos que rechazaron participar en el estudio ImPrEP completaron una breve encuesta sobre las razones del rechazo, información sociodemográfica, comportamientos de riesgo, e historial de ITS y se retiraron. Si el participante era HBsAg negativo y no informó haber sido previamente vacunado contra el VHB, se le ofreció cumplir el esquema de vacunas contra el VHB según disponibilidad en cada centro de salud. Además, se realizó el tamizaje de ITS, incluyendo sífilis y clamidia y gonorrea (GC y CT) Rectal. Posteriormente, el participante recibió una consejería breve sobre reducción de riesgos para VIH en ITS y adherencia al régimen de PrEP, se le proporcionó preservativos y lubricantes, y tratamiento para las ITS detectadas durante la visita de enrolamiento, incluyendo sífilis. Finalmente, el participante recibió una dosis inicial suficiente para 30 días de FTC/TDF.

Para las visitas de seguimiento trimestral, se incluyeron los procedimientos de tamizaje de VIH con las pruebas de cuarta generación, en caso de salir positiva, se tomaron muestras adicionales para el diagnóstico con NAAT. En cada visita además se realizó el tamizaje de sífilis y se aplicó una



encuesta para evaluar las conductas sexuales reportadas al enrolamiento (sexo anal sin protección, número de parejas, entre otras), además el participante recibió una de dosis de FTC/TDF suficiente para 90 días.

#### **4.4.4.1 Recolección de datos**

Para el estudio ImPrEP se realizó la estandarización de todos los procesos en los centros de reclutamiento durante los entrenamientos para el inicio del estudio; El personal médico y demás profesionales de la salud recibieron capacitaciones en aspectos clínicos relevantes para el diagnóstico de ITS. El personal de laboratorio de cada centro recibió entrenamientos para la obtención, almacenamiento y transporte de las muestras biológicas necesarias y para el procesamiento de las pruebas de tamizaje. Con respecto a la encuesta, además de ser revisada y aceptada por el comité de ética, fue evaluada por el personal a cargo de aplicarla con el fin de familiarizarse con el instrumento, además de realizar correcciones en cuanto al orden y la forma de las preguntas. Adicionalmente, se llevaron a cabo sesiones piloto para evaluar la encuesta, que fue finalmente aceptada para iniciar el reclutamiento. Finalmente, los entrenamientos para la implementación en cada sede fueron exhaustivos y tomaron entre 3 y 4 días, incluyendo sesiones teóricas y prácticas para los proveedores de salud y los coordinadores de sede, además de simulaciones de enrolamiento para identificar los pasos del estudio y finalmente incorporarlos en el flujo de atención de pacientes de cada centro.

##### **4.4.4.1.1 Cuestionarios**

Los participantes completaron un cuestionario administrado por el coordinador de sede en la visita de enrolamiento, en cada visita de seguimiento y cuando el participante dejó de tomar PrEP. La entrevista de enrolamiento obtuvo información sociodemográfica como edad y nivel educativo, además de identidad de género (Cisgénero y transgénero) conductas sexuales de riesgo, consumo de drogas incluyendo estimulantes, y consumo excesivo de bebidas alcohólicas número de pastillas que dejaron de tomar, entre otros. Las entrevistas de monitoreo se enfocaron en el comportamiento de riesgo y en el auto-reporte de adherencia al PrEP. La administración de cuestionarios tomó aproximadamente 45 minutos. En la visita final o cuando decidió salir del estudio antes de completar la visita final, el participante completó una encuesta explicando las razones para interrumpir la toma de PrEP, si presentaron algún síntoma clínico, adherencia a la PrEP, comportamientos sexuales de riesgo, la experiencia con la PrEP y la percepción de riesgo para VIH. A los participantes que suspendieron la PrEP se les pidió que regresen luego de 4 semanas para una revisión clínica y de efectos secundarios.

#### **4.4.4.1.2 Muestras biológicas**

La cantidad máxima de sangre extraída en cada visita por venopunción fue de 30 mL. Se obtuvieron suero y plasma mediante centrifugación por 5 minutos a 3500 Revoluciones por Minuto (RPM) para separar el paquete globular, del suero y/o plasma según corresponda para el tamizaje de ITS y VIH. Además se colectó sangre en papel filtro para analizar las concentraciones de FTC/TDF en sangre y se les dieron instrucciones a los participantes para que realicen la

auto-colección de la muestra anal. En los casos de seroconversión del VIH-1, se recogieron 20 ml adicionales para el diagnóstico confirmatorio.

#### **4.4.4.2 Procesamiento de muestras biológicas**

##### **a. Pruebas para diagnóstico de sífilis**

Se realizó el tamizaje de sífilis en la visita de enrolamiento y en cada visita trimestral de seguimiento. El diagnóstico de sífilis incluyó la prueba treponémica Determine Syphilis (Abbott, Francia), y la prueba rápida de reagentes plasmáticos (RPR) RPR slide test - (Wiener Lab, Argentina). En el enrolamiento, el caso de sífilis estuvo definido por una prueba treponémica reactiva y un RPR con un título igual o mayor a 8 diluciones ( $RPR \geq 1:8$ ). En los seguimientos, el caso de sífilis estaba definido por una prueba treponémica reactiva acompañado de cualquier valor de RPR, si el participante tenía registro de pruebas negativas en las visitas previas. En caso el participante tenga registrado un resultado de prueba treponémica reactiva y un RPR reactivo, se definió el caso por el aumento en 4 títulos en la prueba de RPR. El monitoreo de respuesta al tratamiento se realizó únicamente con la prueba RPR y se interpretó como cura serológica cuando el participante presentó una disminución de 4 títulos de RPR comparado con el valor de RPR al momento del diagnóstico (95).

##### **b. Evaluación de adherencia al régimen de PrEP**

Los datos auto-reportados sobre la adherencia a la PrEP se recogieron utilizando un cuestionario administrado por el entrevistador en la visita de

4 semanas, en las visitas trimestrales, y cuando el participante dejó de tomar los medicamentos o seroconvirta para VIH. La adherencia a la PrEP también se evaluó calculando el MPR que está definida como la relación entre el número de pastillas dispensadas y los días transcurridos entre la fecha de dispensación previa y la siguiente visita de dispensación de PrEPcomplejo.

#### **4.4.5 Variables de estudio**

##### **4.4.5.1 Variable desenlace (dependiente) y co-variable principal (independiente)**

**Variable dependiente:** “Caso incidente de sífilis activa”. El diagnóstico de sífilis activa incluye un resultado positivo de una prueba rápida treponémica, y en paralelo se evalúa la aparición o aumento en los valores de la prueba RPR, la cual detecta las reaginas (anticuerpos formados por el huésped contra moléculas lipídicas) en suero que se producen a causa de la infección por *T. pallidum*. Este ensayo es semi-cuantitativo, ya que se realizan diluciones seriadas de suero, para titular la concentración de anticuerpos. Una reinfección se identifica con el aumento de dos diluciones (o 4 títulos), comparado con el resultado obtenido en el diagnóstico previo. La información de las pruebas rápidas y RPR fue colectada en los centros de reclutamiento del estudio luego de realizada la prueba. La variable solo incluye información de los casos detectados durante las visitas de seguimiento. Las pruebas fueron

realizadas por personal de laboratorio entrenado. Todo caso de sífilis detectado en el enrolamiento y durante los seguimientos recibió el tratamiento conforme a las guías del Ministerio de salud de Perú (95)

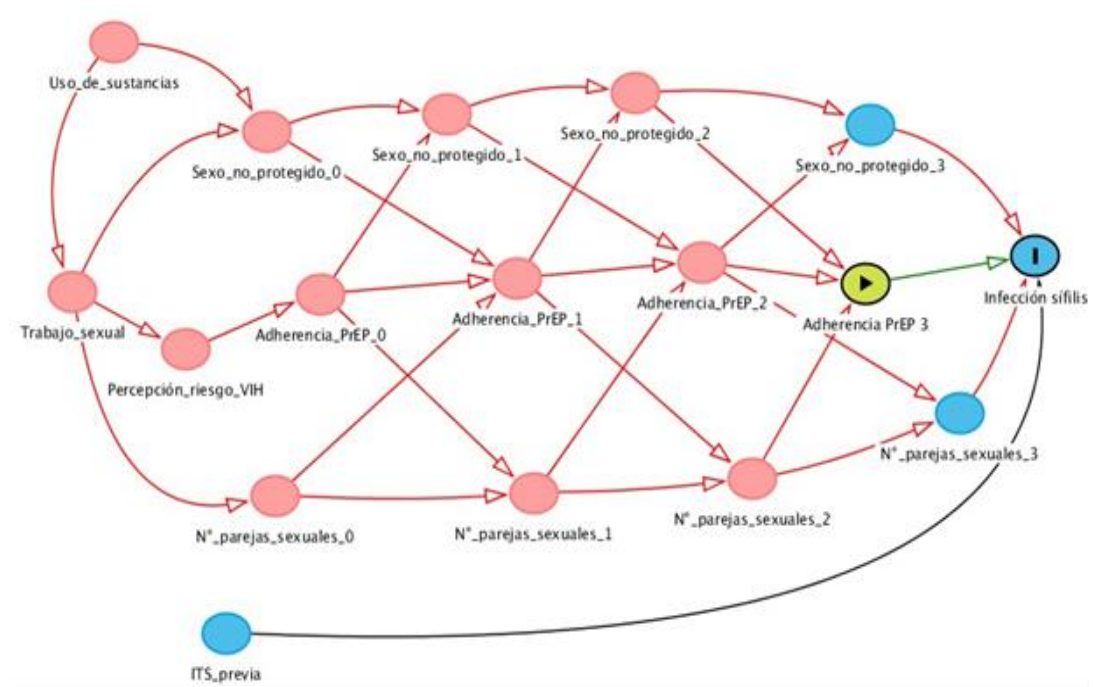
**Variable independiente:** Adherencia a la PrEP. Es el grado de conducta del paciente en relación con la toma de la PrEP y la modificación de estilos de vida de acuerdo a las sesiones de prevención y disminución de riesgo de ITS/VIH. La adherencia al régimen de PrEP se calculó mediante la tasa de posesión de medicación MPR (por sus siglas en inglés *medication possession ratio*), definida como la relación entre el número de pastillas dispensadas y los días transcurridos entre la fecha de dispensación previa y la nueva visita de dispensación que se tiene registrado de las visitas de seguimiento de cada participante; Se calculó el MPR para cada periodo entre visita durante el tiempo de seguimiento de cada participante. La adherencia a la PrEP se definió con un MPR igual o superior a 0.6, que se estima es equivalente a la toma de al menos cuatro comprimidos semanales de TDF, suficiente para alcanzar niveles protectores de tenofovir difosfato (87, 96)

#### **4.4.5.2 Otras co-variables relevantes**

1. Las siguientes variables fueron seleccionadas a priori, debido al reporte previo de su asociación con adquirir sífilis (16, 77, 78)

<b>Nombre de la Variable</b>	<b>Descripción</b>	<b>Valores posibles</b>
Edad	Variable categórica politómica	“18-24”, “25-34”, “35 a más”
Identidad de género autodefinida	variable categórica nominal	“”cisgénero”, “transgénero”
Uso de Alcohol	Variable dicotómica	“si”, “no”
Reporte de ITS previa	Variable dicotómica	“si”, “no”
Número de parejas sexuales en los últimos 3 meses	Variable categórica politómica	0”hasta 4 parejas”, “5- 10 parejas”, “11 o más”
Sexo anal sin preservativo en los últimos 3 meses	Variable dicotómica	“si”, “no”
Reporte de sexo con personas VIH+	Variable nominal	“si”, “no”, “no sabe”
Uso de estimulantes	Variable dicotómica	“si”, “no”
Diagnóstico de sífilis activa en el enrolamiento	Variable dicotómica	“si”, “no”
Trabajo sexual al enrolamiento	Variable dicotómica	“si”, “no”

#### 4.4.5.3 Gráfico acíclico dirigido (DAG)



#### 4.4.6 Procesamiento y análisis estadístico

Se realizó el análisis descriptivo de los casos de sífilis al enrolamiento y los casos incidentes durante las vistas de seguimiento, así como la descripción de las principales conductas sexuales de riesgo, incluyendo el número de parejas sexuales y el reporte de sexo anal sin preservativo, el reporte de trabajo sexual, además del reporte de sexo con parejas de status de VIH conocido y desconocido y el reporte de síntomas o diagnóstico de ITS en el pasado al enrolamiento. El MPR se calculó para todos los sujetos que registraron al menos una visita de seguimiento, y se calculó para cada periodo entre visitas de cada participante. Se calculó la incidencia de sífilis,

y los factores asociados usando ecuaciones de estimación generalizadas (GEE) con una regresión de Poisson, ya que este método permite evaluar y configurar la correlación entre observaciones de cada sujeto y permitió estimar las tasas de riesgo relativo (RTI). Para el análisis multivariado, la adherencia a PrEP (MPR) se dicotomizó en dos categorías usando como punto de corte un valor de MPR de 0.6, el cual representa una toma de al menos 4 pastillas por semana. Dado que el trabajo de campo se desarrolló durante la emergencia por COVID-19, se construyeron 2 modelos adicionales, uno de ellos incluye el periodo previo a la declaratoria de cuarentena del 16 de marzo del 2020 y el segundo modelo incluye la información colectada a partir del 17 de marzo del 2020 hasta junio del 2021. Para esto, se calcularon el número de personas-año para cada intervalo de tiempo, identificando si el participante fue diagnosticado o no con sífilis durante el seguimiento. Si las fechas de los intervalos de tiempo eran anteriores al 16 de marzo, entonces todo el intervalo de tiempo se asignó al periodo pre cuarentena; Si las fechas de los intervalos de tiempo eran posteriores al 16 de marzo, todos los intervalos de tiempo se asignaron al período pos cuarentena. Cuando las fechas de los intervalos de tiempo contenían el 16 de marzo, entonces los intervalos de tiempo se dividieron en tiempo pre cuarentena y tiempo pos cuarentena. Si el tiempo pre cuarentena era superior al tiempo pos cuarentena, y hubo un caso incidente de sífilis, se asumió que la infección ocurrió en el periodo pre cuarentena; En caso contrario, se asumió que la infección ocurrió en el periodo pos cuarentena. Se estimaron las tasas de incidencia de sífilis por cada 100 persona-años para el total de la cohorte, por



categoría de MPR, por género (cisgénero y transgénero) y para cada periodo antes y después del 16/03/2020. El análisis estadístico de los datos se realizó usando el software estadístico STATA 17 (StataCorp, College Station, TX).

#### 4.4.7 Cálculo de tamaño de muestra o potencia estadística

Se asume incidencia acumulada de sífilis de 10% en la población no adherente a PrEP, manteniendo la incidencia de sífilis de usuarios de clínicas de ITS de lima. Esperamos un aumento de incidencia al 15% en personas adherentes a PrEP debido al aumento en conductas de riesgo. El cálculo de poder se basa en un N=1500.

	Riesgo en expuestos:15,000%
Riesgo en no expuestos:	10,000%
Riesgo relativo a detectar:	1,500
Razón no expuestos/expuestos:	1,50
Nivel de confianza:	95,0%

Tamaño de la muestra*	Potencia (%)
1.000	65,9
1.250	75,3
1.500	82,4

## 4.5 Resultados

### 4.5.1 Enrolamiento y muestra de estudio

Entre mayo de 2018 y junio del 2021, se enrolaron a 2,292 sujetos, en el estudio demostrativo ImPrEP. Solo 11% (253) se identificaron como mujeres trans; la mediana de edad en el basal fue de 27 años (IQR 23-33). El uso de estimulantes fue reportado por 6.1% de participantes, mientras que el consumo de alcohol fue muy frecuente (73.7%). Entre las razones para visitar el centro de salud al momento del enrolamiento, 63.1% reportó que fue en busca de PrEP, y el 36.9% restante fue para buscar otro tipo de atención en salud (tamizaje para VIH, profilaxis post-exposición [PEP], tratamiento de ITS, entre otros).

En cuanto a las conductas sexuales evaluadas al enrolamiento, más de la mitad de los participantes (59.1%) reportó haber tenido sexo anal sin preservativo; la mediana del número de parejas sexuales al enrolamiento fue 4 (IQR 2-10); Casi la mitad de los enrolados reportó tener 5 o más parejas sexuales (5-10 parejas [26.5%];  $\geq 11$  [23.2%]). Más de la mitad de los enrolados reporta desconocer el status de VIH de sus parejas sexuales (57.2%) y el 10.3 % (N=253) reportó tener sexo sin condón con parejas diagnosticadas con VIH. Casi la cuarta parte de los enrolados (22.4%) reportó ser trabajador sexual. La quinta parte de los enrolados (20.2%) reportó haber tenido síntomas o fue diagnosticado con una ITS; 220 personas (9.6%) fueron diagnosticadas con sífilis activa ( $RPR \geq 1:8$ ) al enrolamiento y recibieron el tratamiento requerido. La adherencia al régimen de PrEP diario (MPR), tuvo una mediana de 0.92

(IQR: 0.69 - 0.99). La proporción total de visitas con un MPR  $\geq 0.6$  (equivalente a tomar 4 pastillas por semana) fue de 81.5% (Tabla 1)

La proporción de personas trans que reportan sexo anal sin protección al enrolamiento fue del 90.5%, y el reporte de sexo anal sin protección en personas cisgénero fue 55.2%; La proporción de personas trans que fueron trabajadores sexuales al enrolamiento fue del 70.0%, y para el mismo periodo, el reporte de trabajo sexual en personas cisgénero fue de 16.5%. (Datos no mostrados). Durante las visitas de seguimiento, el reporte de sexo anal sin preservativo varió entre el 56.3% y 75%. La proporción de personas que reportó tener hasta 4 parejas sexuales fue 58.4% en la visita de 16 semanas, y aumentó hasta 60.4% en la visita de 100 semanas. (Datos no mostrados).

La incidencia de sífilis fue de 9.07 (IC 95%: 7.91-10.40) casos por cada 100 persona-año (p.a.). Hubo un total de 205 casos incidentes de sífilis, en 185 personas (167 con 1 infección, 16 con 2 infecciones y 2 participantes con 3 infecciones). En cuanto a la retención, 727 (31.7%) participantes abandonaron tras el enrolamiento sin cumplir seguimiento, 593 (25.9%) después de 2 visitas, 312 (13.6%) tras 4-5 visitas, y 660 (28.8%) tienen más de 5 visitas. El 33.9% que desconocían el estatus de VIH de su pareja abandonó inmediatamente, así como 39.1% de la población trans, 37.2% de los que reportaron trabajo sexual, y 36.3% de los adultos jóvenes entre 18 y 24 años. El 38.6% de quienes tuvieron sexo con personas con VIH y 35% de los mayores de 35 años tienen más de 5 visitas. (Datos no mostrados)

La incidencia de sífilis en personas adherentes a PrEP (MPR  $\geq 0.6$ ) fue de 9.97 (IC95%: 8.42 - 11.71) p.a. y en los no-adherentes (MPR  $< 0.6$ ) la incidencia

de sífilis fue 7.35 (IC95%: 5.57 - 9.53) p.a. La incidencia de sífilis para personas Trans fue de 14.72 (IC95%: 10.47 - 20.12) p.a. y para personas Cisgénero fue de 8.32 (IC95%: 7.10 - 9.69) p. a. Además, la incidencia de sífilis antes de la declaratoria de confinamiento por la emergencia sanitaria de COVID-19 (16 de Marzo del 2020) fue de 10.03 (IC95%: 8.34-12.07) p.a. y luego de la declaratoria de confinamiento la tasa de incidencia fue 8.11 (IC 95%: 6.61-9.95) p. a.

**Tabla 1. Características basales de los participantes del proyecto ImPrEP**

<b>Características</b>	<b>N (%)</b>
Identidad de Genero	
Cisgénero	2039 (88.9)
Transgénero	253 (11.1)
Edad <sup>a</sup>	27 ( 23 - 33)
Edad	
18-24	805 (35.1)
25-34	977 (42.6)
>35	510 (22.2)
Uso de drogas, 3 meses previos	
Si	140 (6.1)
No	2152 (93.9)
Uso de alcohol, 3 meses previos	
Si	1678 (73.2)
No	614 (26.8)
Razones para visita al centro de salud	
Búsqueda de PrEP	1448 (63.2)
Otros (PEP, atención o pruebas VIH)	844 (36.8)
Sexo anal sin preservativo	
Si	1355 (59.1)
No	937 (40.9)

N° parejas sexuales, 6 meses previos <sup>a</sup>	4 (2 - 10)
N° parejas sexuales, 6 meses previos	
≤4	1153 (50.3)
5-10	608 (26.5)
≥ 11	532 (23.2)
Sexo con personas infectadas con VIH	
No	744 (32.5)
Si	236 (10.3)
Desconoce status de la pareja	1312 (57.2)
Trabajo sexual	
Si	513 (22.4)
No	1779 (77.6)
Reporte de síntomas y/o diagnóstico de ITS reciente	
Si	463 (20.2)
No	1829 (79.8)
Diagnóstico de sífilis activa <sup>c</sup>	
Si	220 (9.6)
No	2073 (90.4)
MPR <sup>a,b</sup>	0.92 (0.69 - 0.99)
Adherencia a PrEP (MPR)	
MPR <0.6	1120 (18.5)
MPR ≥0.6	4930 (81.5)

<sup>a</sup>Mediana (p25-p75)

<sup>b</sup>Corresponde al total de visitas de seguimiento

<sup>c</sup>El caso de sífilis activa se definió con RPR≥1:8

#### 4.5.2 Factores asociados con la incidencia de sífilis

En el análisis multivariado total, la incidencia de sífilis es mayor en personas adherentes a PrEP (MPR ≥0.6) (RTI: 1.46 [IC 95%: 1.08 – 1.99]), en participantes

que reportan sexo anal sin preservativo (1.53 [1.11 – 2.11]) y en participantes que se identifican como mujer transgénero (1.64 [1.08 – 2.51]); Además la incidencia de sífilis es menor entre los participantes con 35 años o más comparado con participantes entre 18–24 años (0.65 [0.44 – 0.96]). La incidencia de sífilis fue mayor entre los que tienen 5 –10 parejas sexuales (1.29 [0.91 – 1.79]) o  $\geq$  11 parejas sexuales (1.02 [0.96 – 1.80]) pero estas asociaciones no fueron estadísticamente significativas. No encontramos asociación entre la incidencia de sífilis con el antecedente de síntomas o diagnóstico de ITS pasadas (1.23 [0.90 – 1.69]), con el diagnóstico de sífilis al enrolamiento (1.36 [0.91 – 2.04]), ni con ser trabajador sexual (1.03 [0.73 – 1.46]) (Tabla 2).

**Tabla 2. Factores independientemente asociados a casos incidentes de sífilis en análisis de regresión múltiple.**

Características	Análisis bivariado			Regresión múltiple		
	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p
Adherencia a PrEP						
MPR <0.6	Ref.			Ref.		
MPR $\geq$ 0.6	<b>1.35</b>	<b>1.00 - 1.82</b>	<b>0.050</b>	<b>1.48</b>	<b>1.09 - 2.00</b>	<b>0.012</b>
Uso de alcohol, 3 meses previos <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>1.40</b>	<b>1.03 - 1.89</b>	<b>0.031</b>	1.32	0.97 - 1.80	0.077
Nº parejas sexuales, 3 meses previos						
$\leq$ 4	Ref.			Ref.		

5-10	1.34	0.97 - 1.85	0.072	1.29	0.92 - 1.80	0.138
≥ 11	1.36	0.96 - 1.94	0.088	1.03	0.69 - 1.54	0.886
Sexo anal sin preservativo, 3 meses previos						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>1.66</b>	<b>1.23 - 2.27</b>	<b>0.001</b>	<b>1.53</b>	<b>1.11 - 2.11</b>	<b>0.009</b>
Reporte de síntomas y/o diagnóstico de ITS <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.34	0.99 - 1.81	0.059	1.23	0.90 - 1.69	0.200
Sexo con personas infectadas con VIH <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	0.92	0.57 - 1.49	0.741	1.03	0.63 - 1.68	0.894
Desconoce status de la pareja	1.15	0.85 - 1.57	0.356	1.11	0.81 - 1.53	0.524
Identidad de género <sup>b</sup>						
Cis	Ref.			Ref.		
Trans	<b>1.81</b>	<b>1.27 - 2.57</b>	<b>0.001</b>	<b>1.66</b>	<b>1.09 - 2.53</b>	<b>0.018</b>
Uso de drogas, 3 meses previos <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.05	0.50 - 2.20	0.898	0.92	0.44 - 1.96	0.836
Diagnóstico de sífilis activa <sup>b,c</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>1.50</b>	<b>1.02 - 2.22</b>	<b>0.040</b>	1.37	0.91 - 2.05	0.130
Trabajo sexual <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>1.36</b>	<b>1.00 - 1.85</b>	<b>0.031</b>	1.03	0.73 - 1.46	0.845
Edad <sup>b</sup>						
18-24 años	Ref.			Ref.		
25-34 años	0.97	0.71 - 1.34	0.861	0.96	0.70 - 1.33	0.824
≥35 años	0.73	0.50 - 1.04	0.086	<b>0.65</b>	<b>0.44 - 0.95</b>	<b>0.028</b>

<sup>a</sup>RTI: Razón de tasa de incidencia; RTIa Razón de tasa de incidencia ajustada

<sup>b</sup>Corresponde a la visita de enrolamiento

<sup>c</sup>El caso de sífilis activa se definió con RPR>=1:8

### 4.5.3 Análisis del efecto de la emergencia sanitaria y el confinamiento por COVID-19

Se realizó un sub-análisis para evaluar el efecto de la emergencia sanitaria y el confinamiento por COVID-19 (análisis antes y después del 16/03/2020)

sobre la incidencia de sífilis. En los modelos multivariados correspondientes a cada periodo, durante el periodo pre-cuarentena, la incidencia de sífilis fue mayor entre los adherentes a PrEP (1.50 [1.01-2.23] y entre los que reportaron sexo anal sin preservativo (RTI: 2.35 [1.43-3.86]) (tabla 3). Por otro lado, en el periodo posterior al 16 de marzo del 2020, la incidencia de sífilis fue mayor entre los adherentes a PrEP (1.47 [0.94-2.29]) pero la asociación en el periodo post-cuarentena no fue estadísticamente significativa; la incidencia de sífilis fue mayor entre los que fueron diagnosticados con sífilis al enrolamiento (2.70 [1.67-4.36]) (tabla 3);

**Tabla 3. Factores asociados a casos incidentes de sífilis antes del confinamiento por la emergencia sanitaria por COVID-19.**

Características	Análisis bivariado			Regresión múltiple		
	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p
Adherencia a PrEP						
MPR <0.6	Ref.			Ref.		
MPR ≥0.6	1.28	0.85 - 1.92	0.242	<b>1.51</b>	<b>1.02 - 2.25</b>	<b>0.041</b>
Uso de alcohol, 3 meses previos <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.29	0.86 - 1.95	0.211	1.24	0.82 - 1.88	0.310
Nº parejas sexuales, 3 meses previos						
≤4	Ref.			Ref.		
5-10	1.20	0.77 - 1.85	0.419	1.12	0.72 - 1.76	0.607
≥ 11	1.30	0.81 - 2.08	0.279	0.81	0.50 - 1.45	0.555
Sexo anal sin preservativo, 3 meses previos						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>2.47</b>	<b>1.54 - 3.96</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>2.35</b>	<b>1.43 - 3.85</b>	<b>0.001</b>
Reporte de síntomas y/o diagnóstico de ITS <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.24	0.84 - 1.87	0.277	1.31	0.87 - 1.95	0.193
Sexo con personas infectadas con VIH <sup>b</sup>						
No	Ref.			Ref.		
Si	0.91	0.48 - 1.72	0.764	1.08	0.56 - 2.10	0.813
Desconoce status de la pareja	1.15	0.77 - 1.70	0.497	1.13	0.75 - 1.71	0.545



Identidad de género <sup>b</sup>						
Cis	Ref.				Ref.	
Trans	<b>1.97</b>	<b>1.28 - 3.03</b>	<b>0.002</b>		1.54	0.90 - 2.64 0.113
Uso de drogas, 3 meses previos <sup>b</sup>						
No	Ref.				Ref.	
Si	1.00	0.43 - 2.32	0.995		0.93	0.40 - 2.15 0.867
Diagnóstico de sífilis activa <sup>b,c</sup>						
No	Ref.				Ref.	
Si	0.70	0.35 - 1.39	0.317		0.59	0.29 - 1.21 0.154
Trabajo sexual <sup>b</sup>						
No	Ref.				Ref.	
Si	1.65	1.12 - 2.42	0.011		1.35	0.87 - 2.10 0.187
Edad <sup>b</sup>						
18-24 años	Ref.				Ref.	
25-34 años	1.01	0.66 - 1.53	0.978		1.04	0.68 - 1.58 0.861
≥35 años	0.70	0.42 - 1.13	0.146		0.62	0.37 - 1.05 0.075

<sup>a</sup>RTI: Razón de tasa de incidencia; RTIa Razón de tasa de incidencia ajustada

<sup>b</sup>Corresponde a la visita de enrolamiento

<sup>c</sup>El caso de sífilis activa se definió con RPR≥=1:8

**Tabla 4. Factores asociados a casos incidentes de sífilis después del confinamiento por la emergencia sanitaria por COVID-19.**

Variables	Análisis bivariado			Regresión múltiple		
	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p	RTI <sup>a</sup>	IC 95%	p
<b>Adherencia a PrEP</b>						
MPR <0.6	Ref.			Ref.		
MPR ≥0.6	1.40	0.91 - 2.16	0.124	1.48	0.95 - 2.30	0.085
<b>Uso de alcohol, 3 meses previos<sup>b</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.40	0.91 - 2.14	0.120	1.32	0.84 - 2.06	0.226
<b>Nº parejas sexuales, 3 meses previos</b>						
≤4	Ref.			Ref.		
5-10	1.57	0.97 - 2.56	0.068	1.54	0.92 - 2.55	0.097
≥ 11	1.48	0.90 - 2.43	0.122	1.35	0.77 - 2.35	0.289
<b>Sexo anal sin preservativo, 3 meses previos</b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.12	0.73 - 1.73	0.596	1.01	0.65 - 1.55	0.979
<b>Reporte de síntomas y/o diagnóstico de ITS<sup>b</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.42	0.91 - 2.22	0.123	1.19	0.75 - 1.89	0.459
<b>Sexo con personas infectadas con VIH<sup>b</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	0.99	0.49 - 2.03	0.986	0.99	0.48 - 2.03	0.969
Desconoce status de la pareja	1.23	0.77 - 1.96	0.397	1.10	0.67 - 1.78	0.728
<b>Identidad de género<sup>b</sup></b>						
Cis	Ref.			Ref.		
Trans	1.40	0.78 - 2.51	0.259	1.69	0.87 - 3.26	0.121
<b>Uso de drogas, 3 meses previos<sup>b</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	1.11	0.36 - 3.41	0.853	0.99	0.31 - 3.17	0.995
<b>Diagnóstico de sífilis activa<sup>b,c</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	<b>2.77</b>	<b>1.72 - 4.42</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>2.71</b>	<b>1.68 - 4.37</b>	<b>&lt;0.001</b>
<b>Trabajo sexual<sup>b</sup></b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	0.97	0.59 - 1.61	0.917	0.68	0.38 - 1.21	0.185

Edad <sup>b</sup>	Ref.			Ref.		
18-24 años	0.95	0.60 - 1.51	0.840	0.90	0.57 - 1.42	0.646
25-34 años	0.78	0.45 - 1.34	0.365	0.71	0.41 - 1.25	0.238
≥35 años						

<sup>a</sup>RTI: Razón de tasa de incidencia; RTIa Razón de tasa de incidencia ajustada

<sup>b</sup>Corresponde a la visita de enrolamiento

<sup>c</sup>El caso de sífilis activa se definió con RPR>=1:8

## 4.6 Discusión

En nuestro estudio, encontramos que la incidencia de sífilis es mayor en usuarios adherentes a PrEP (MPR  $\geq 0.6$ ) que son participantes de Perú del estudio de implementación de PrEP diario “ImPrEP. Son pocos los estudios que analizan la adherencia a PrEP y la incidencia de ITS. Bristow et al evaluaron en HSH y TG usuarios de PrEP de EEUU la incidencia de clamidia, gonorrea y sífilis de acuerdo a 3 niveles de adherencia según concentración de TFV-DP en sangre (adherencia alta,  $\geq 1246$  fmol/punch, siete pastillas/semana], adherencia adecuada  $\geq 719$  fmol/punch, cuatro o más pastillas/semana], adherencia baja [ $< 719$  fmol/punch, menos de cuatro pastillas/semana]). La incidencia de sífilis fue mayor en participantes con adherencia alta, pero esta asociación no fue estadísticamente significativa; tampoco hubo asociación entre las incidencias de clamidia y gonorrea con la adherencia a PrEP (97). En un estudio realizado entre HSH de color usuarios de PrEP en Alabama, EEUU, encontraron que la incidencia de ITS bacteriana era mayor entre los que reportaron ser más adherentes a PrEP y tenían múltiples parejas sexuales (98). Otros estudios compararon la incidencia de ITS en HSH y TG que usaban el régimen de PrEP diario vs la incidencia de ITS en el régimen de PrEP por evento, y encontraron que la incidencia de ITS fue mayor en el grupo que usaba el régimen de PrEP

diario (99, 100). Se puede entender a partir de nuestros datos y de los estudios listados, que la incidencia de sífilis y otras ITS es mayor en usuarios adherentes a la PrEP y que toman 4 o más pastillas por semana. Esto puede deberse a que los criterios de selección para formar parte de un programa de PrEP requiere que el sujeto reporte algunas conductas sexuales que los identifique como sujetos en riesgo de adquirir VIH, incluyendo el sexo sin protección, o múltiples parejas sexuales, las cuales son también factores de riesgo para adquirir sífilis.

La incidencia de sífilis en nuestro estudio para toda la cohorte fue de 9.1/100 p.a., valores superiores a los reportados por Solomon et al (incidencia de sífilis de 7.3/100 p.a.) (101) y Traeger et al que reportan una incidencia de 8.0/100 p.-a para sífilis; Además, en sub-análisis de los participantes que tenían datos de al menos una visita previa al enrolamiento, algunos ya habían usado PrEP antes de enrolarse en el estudio. La incidencia de sífilis en el grupo que tomó PrEP por primera vez aumentó de 6.4/100 p.-a a 7.9/100 p.-a durante el seguimiento, mientras que la incidencia de sífilis entre los participantes con uso previo de PrEP aumentó de 7.4/100 p.-a a 9.5/100 p.-a durante el seguimiento (102). Montaña et al realizó un análisis de datos clínicos y obtuvo que la incidencia de sífilis fue más alta en HSH usuarios de PrEP (6,9/100 p.a.), en comparación con HSH que no utilizaban la PrEP (2.3/100 p.a.) (103). Zhou et al realizaron un meta-análisis y calcularon que la incidencia de sífilis fue de 9.53/100 entre HSH que tomaban PrEP, resultados muy cercanos a los nuestros; Adicionalmente reportaron que la incidencia de sífilis en la población HSH antes de tomar PrEP fue de 5.95/100 p.-a. (104). Estos hallazgos muestran que la incidencia de sífilis

es elevada entre los HSH que usan PrEP, por lo que su implementación y distribución debe acompañarse por el cribado frecuente y la consejería específica sobre ITS, incluyendo información sobre la importancia de la prevención de ITS durante el tiempo en que se usa PrEP. Deberían realizarse más investigaciones sobre intervenciones adicionales, no basadas en el condón, para prevenir las ITS entre los HSH que utilizan la PrEP, incluyendo el tratamiento post exposición con doxiciclina (105) la notificación de parejas (106) y el manejo acelerado de contactos (107).

En el modelo multivariado general, la incidencia de sífilis fue mayor entre los que reportaron sexo anal receptivo sin protección. Un estudio en HSH seronegativos de Ámsterdam encontró que el sexo anal sin preservativo, el sexo anal receptivo sin preservativo y la frecuencia de ITS anal (clamidia y gonorrea) fue mayor en el periodo de toma de PrEP, comparado con años anteriores al uso de PrEP en el mismo usuario, y comparado con el grupo de HSH que no usaron PrEP. (108); Previamente, Clark et al. encontraron que la prevalencia de sífilis activa ( $RPR \geq 1:8$ ) en HSH que reportaron sexo receptivo fue de 15.1%, mientras que la prevalencia fue de 0.6% para los HSH que reportaron sexo insertivo (109); El sexo anal sin preservativo se reporta con mayor frecuencia entre usuarios de PrEP, además es más frecuente entre personas con sífilis comparado con el sexo insertivo.

La incidencia de sífilis fue mayor entre la población trans, comparado con la población Cis. La frecuencia de sífilis en población trans ha sido descrito previo

al uso de PrEP: Hung et al. reportaron que la proporción de mujeres trans con pruebas treponémicas positivas fue de 54.8%, comparado con 37.7% de pruebas treponémicas positivas en HSH usuarios de clínicas de ITS de Lima (110); Silva-Santisteban reportó que la prevalencia de sífilis en mujeres trans de Lima fue de 23% (15). Además de presentar una incidencia mayor de sífilis en nuestro estudio, la población trans es quien reportó un porcentaje mayor de sexo anal sin protección y una proporción de trabajadores sexuales por encima del 70%, factores que Pizzicato et al encontró asociados a la prevalencia de sífilis activa, que fue más del doble en mujeres trans (10.7%) comparado con la prevalencia de sífilis activa en HSH (4.2%) de Perú (14). Pese a que la población trans presenta una mayor vulnerabilidad a la incidencia de sífilis y VIH, históricamente tiene mayores barreras de acceso a salud (111, 112), lo que sugiere el diseño de estrategias específicas que permita disminuir el impacto de las ITS y VIH en esta población.

Debido a la emergencia por COVID-19, el acceso a los servicios de atención de ITS y VIH se vio afectado por las medidas de confinamiento, evidenciado por una disminución en el número de casos detectados comparado con periodos pre-pandemia (113-115), por lo que analizamos el efecto de las medidas de confinamiento tomadas por el gobierno Peruano sobre los factores asociados a sífilis en los usuarios de ImPrEP. Encontramos que el sexo anal sin protección estuvo asociado a la incidencia de sífilis durante el periodo pre cuarentena, lo que está parcialmente alineado a los resultados del modelo multivariado general. Para el modelo del periodo post cuarentena, únicamente el diagnóstico de sífilis al enrolamiento estuvo asociado a la incidencia de sífilis, lo que podría deberse

a que la mayor cantidad de casos de sífilis detectados en el enrolamiento fue en la población cisgénero, quienes se mantuvieron con mejor adherencia durante el periodo post cuarentena, comparado con la población trans, que tuvo una retención baja a lo largo del tiempo de estudio, pero su retención fue aún menor durante el periodo post cuarentena. Existen algunos reportes respecto a las barreras de acceso a PrEP o a la poca adherencia al régimen de PrEP en la población de mujeres trans (116, 117), relacionadas con la falta de información sobre esta estrategia de prevención, y sobre la falta de programas de implementación dirigidas específicamente a ellas, quienes tienen necesidades diferentes a la población HSH (118, 119). (113-115). Desafortunadamente, la emergencia sanitaria por COVID-19 resaltó las barreras sociales y disparidades en salud de la población Trans, limitando su acceso a los servicios de salud, debido a la poca oferta, y a la falta de recursos económicos por el confinamiento (120, 121), situación que también se refleja en Perú, en donde el 85% de mujeres trans perdió su empleo durante el periodo de confinamiento, y 93% dejó de recibir atención médica (122).

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. Primero, la definición de caso de sífilis estuvo construido únicamente con los datos de laboratorio, usando el criterio de seroconversión en las pruebas treponémicas y RPR si el participante tuvo un resultado negativo al enrolamiento, o si el participante presenta un aumento de 2 títulos en el RPR respecto a su prueba basal, sin embargo existen casos de infección temprana en las que no se evidencian pruebas treponémicas reactivas o no se identifica el aumento de títulos en el RPR, lo que puede

significar la pérdida de algunos casos (123). Sin embargo, esta presentación de sífilis es infrecuente y no generaría un subregistro de casos de sífilis. La adherencia a PrEP se midió usando el MPR, una medida indirecta a partir del ratio de días entre visitas y el número de pastillas correspondiente a cada visita, sin incluir un marcador biológico de consumo del medicamento; existen investigaciones previas que reportan una buena correlación entre el MPR y los niveles de fármaco en sangre (87). Existen otras medidas de adherencia al medicamento como la proporción de días cubiertos (PDC, *proportion of days covered*) (124) o el conteo de pastillas sin tomar (125), sin embargo tanto el MPR como el PDC tienen una performance similar comparado con mediciones biológicas (126), brindan información objetiva sin solicitar información del usuario y ambos podrían ser útiles en los programas de salud pública de distribución de PrEP (127). La pérdida temprana de participantes fue mayor en la población trans y en adultos jóvenes, estas sub-poblaciones están en mayor riesgo de adquirir VIH (128, 129) y son quienes presentan mayores dificultades para mantenerse dentro de los programas de PrEP (130-132). La declaratoria de cuarentena por la pandemia generó un escenario para el cual la sociedad y los sistemas de salud no estaban preparados, debido a ello algunos participantes dejaron de asistir a sus visitas de seguimiento, sin embargo en la re-apertura de los establecimientos de salud, incluyendo las sedes del estudio ImPrEP en Perú, se adoptaron todas las medidas de bioseguridad propuestas por el gobierno para reanudar las visitas de seguimiento del estudio, pero el contexto social de la población Trans durante la pandemia, sumado a las barreras sociales que experimentan dificultaron su acceso durante este periodo. A pesar de estas



limitaciones, consideramos que los hallazgos de nuestro estudio son relevantes para conocer la dinámica de la sífilis en las poblaciones HSH y Trans en escenarios de nuevas estrategias de prevención como la PrEP.

En nuestro análisis, encontramos que la incidencia de sífilis es mayor entre HSH y trans adherentes al régimen diario de PrEP en el estudio de implementación ImPrEP en Perú; Además, la incidencia de sífilis fue mayor entre quienes reportaron sexo anal sin protección y en la población. El contexto de la pandemia por COVID-19 expuso las necesidades reales de las poblaciones objetivo para la estrategia de prevención combinada de VIH en Perú, específicamente la población trans, la cual requiere una estrategia de implementación de PREP que satisfaga sus necesidades y elimine las disparidades de acceso a salud.

## **VI. ASPECTOS ÉTICOS**

El sub-estudio de citoquinas se desarrolló de forma anidada dentro del estudio original Picasso financiado enteramente por el NIH. El sub-estudio usó códigos únicos de identificación para cada participante y sus muestras biológicas sin incluir información personal que pueda identificarlo. El manejo y almacenamiento de las bases de datos se realizó en computadoras que cuentan con acceso restringido y al que solo personal autorizado del proyecto tuvo acceso; además se usaron claves de seguridad para acceder a las bases de datos con la finalidad de certificar la confidencialidad de la información. En tal sentido, los posibles riesgos para los sujetos de análisis relacionado a una brecha en la confidencialidad y a posibles lesiones causadas durante la colección de sangre fueron mínimos, y no son tan diferentes a los riesgos

presentes durante la atención de rutina en los centros de salud donde se llevó a cabo el estudio. El estudio PICASSO fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), con código de registro SIDISI de UPCH 103093. Durante la implementación del estudio se respetaron los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se siguieron estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

El estudio ImPrEP fue aprobado por el Comité Institucional de Ética de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH), con código de registro SIDISI de UPCH 101460, y usa códigos únicos aleatorios de identificación para cada participante sin incluir información personal. Los registros de investigación se mantuvieron confidenciales al nivel permitido por la ley. Todas las bases de datos locales están protegidas con sistemas de acceso por contraseña. Los formularios, listas, libros de registro, citas y cualquier otro listado que vincule los números de identificación del participante a otra información de identificación se almacenaron en un archivo separado y con cerradura en un área con acceso limitado. La base de datos utilizada para el análisis del segundo estudio, fueron datos de-identificados y solo contenían el código de participante y ningún otro identificador

## **VII.LIMITACIONES**

**Estudio 1. Evaluación de la asociación entre el estadio de la enfermedad y los niveles de citoquinas siete días después del tratamiento en pacientes con sífilis activa en Perú**

Existen ciertas limitaciones en nuestro estudio. Nuestro estudio incluyó sujetos con diferentes estadios de sífilis, la gran mayoría con estadios latentes, que generalmente no presentan síntomas, y puede que esta presentación clínica no haya permitido encontrar diferencias estadísticamente significativas en los niveles de citoquinas analizadas; también es posible que se necesite un mayor número de sujetos con sífilis para evidenciar las diferencias entre los estadios de la enfermedad, comparado con diferenciar casos de sífilis de aquellos que no son casos. En nuestro estudio se incluyeron 2 grupos de citoquinas que fueron utilizadas para diferenciar a casos de sífilis de aquellos que no eran casos, pero las muestras analizadas tuvieron intervalos de al menos 90 días entre visitas (52), y puede que las diferencias en los niveles de citoquinas no sean observables a los 7 días post-tratamiento. Pastuszczak et al. analizaron los niveles de citoquinas en pacientes con sífilis secundaria y encontraron diferencias en los niveles de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , e IL-6 a las 8 horas post-tratamiento en sujetos que curaron comparado con sujetos en estadio serofast (47), sin embargo en nuestro análisis casi todos los sujetos curaron dentro del periodo de seguimiento excepto 1, por lo que no pudo explorarse la utilidad de las citoquinas evaluadas para identificar casos serofast, pero si pudimos encontrar diferencias entre los niveles de Leptina para aquellos que curaron en los primeros 6 meses versus aquellos que curaron luego de los 6 meses.

**Estudio 2. Incidencia de sífilis y su asociación con la adherencia a la PrEP entre hombres que tienen sexo con hombres y mujeres transgénero que usan PrEP en Perú**

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones. Primero, la definición de caso de sífilis estuvo construido únicamente con los datos de laboratorio, usando el criterio de seroconversión en las pruebas treponémicas y RPR si el participante tuvo un resultado negativo al enrolamiento, o si el participante presenta un aumento de 2 títulos en el RPR respecto a su prueba basal, sin embargo existen casos de infección temprana en las que no se evidencian pruebas treponémicas reactivas o no se identifica el aumento de títulos en el RPR y puede que esto signifique la pérdida de algunos casos (123). Sin embargo, esta presentación de sífilis es infrecuente y no generaría un sub-registro de casos de sífilis. La adherencia a PrEP se midió usando el MPR, una medida indirecta ya que combina el ratio de días entre visita y el número de pastillas correspondiente a cada visita, sin incluir un marcador biológico de consumo del medicamento, sin embargo existen investigaciones previas que reportan una buena correlación entre el MPR y los niveles de fármaco en sangre (87). La declaratoria de cuarentena por la pandemia generó un escenario para el cual la sociedad y los sistemas de salud no estaban preparados, y debido a ello algunos participantes dejaron de asistir a sus visitas de seguimiento, sin embargo en la re-apertura de los establecimientos de salud, incluyendo las sedes del estudio ImPrEP en Perú, se adoptaron todas las medidas de bioseguridad propuestas por el gobierno para facilitar las visitas de seguimiento del estudio, pero el contexto social de la población transgénero durante la pandemia, sumado a las barreras sociales que experimentan dificultaron su acceso durante este periodo. A pesar de estas limitaciones, consideramos que los hallazgos de

nuestro estudio son relevantes para conocer la dinámica de la sífilis en escenarios de nuevas estrategias de prevención como la PrEP.

## **VIII.CONCLUSIONES GENERALES**

En el primer análisis no encontramos asociación entre el estadio de sífilis y los niveles de citoquinas a los 7 días post-tratamiento en usuarios de clínicas de ITS. Sin embargo, encontramos que el status de VIH se encuentra asociado los niveles de citoquinas al basal, y con la variación de los niveles de estas citoquinas; La Leptina está asociada a la cura antes de 6 meses, Estos resultados se encuentran alineados con los hallazgos de estudios previos respecto al uso de las citoquinas como marcadores inmunológicos de progresión de enfermedad o para diagnóstico, sin embargo se requieren estudios con muestras más grandes para explorar estas asociaciones.

En el segundo análisis, la incidencia de sífilis es mayor entre HSH y trans adherentes al régimen diario de PrEP en el estudio de implementación ImPrEP en Perú; Además, la incidencia de sífilis fue mayor entre quienes reportaron sexo anal sin protección y en la población trans. El contexto de la pandemia por COVID-19 expuso las necesidades reales de las poblaciones objetivo para la estrategia de prevención combinada de VIH en Perú, específicamente la población trans, la cual requiere una estrategia de implementación de PREP que satisfaga sus necesidades y elimine las disparidades de acceso a salud.

## **IX.RECOMENDACIONES GENERALES**

Actualmente a búsqueda de marcadores más precisos para la detección de casos de sífilis es una necesidad permanente, sin embargo deben considerarse tecnologías que tengan capacidad de ser escalables. La medición de citoquinas para detectar casos de sífilis parecen ser una herramienta prometedora, que reemplace a la medición de anticuerpos treponémicos y no treponémicos, los cuales tienen deficiencias en algunas situaciones; sin embargo se requieren análisis adicionales de citoquinas, incrementando la población de estudio, incluyendo controles negativos para evaluar los perfiles de citoquinas exclusivos en casos de sífilis, e incluyendo diferentes periodos de tiempo que permitan la detección de variaciones en las citoquinas, en tiempos menores a lo ofrecido por los anticuerpos no-treponémicos, y que no se vean afectados por otras condiciones biológicas, como la infección por VIH, o el antecedente de infecciones previas, ni los estadios de la enfermedad. Los próximos estudios pueden determinar la utilidad de las citoquinas como herramienta potencial para determinar el status de infección activa en personas con sífilis. Sobre el segundo estudio, se ha demostrado que existe una asociación entre la adherencia al PrEP y la incidencia de sífilis. Dada la evidencia presentada en nuestro análisis, y la literatura que refiere que la incidencia de ITS es mayor en los HSH y trans usuarios de PrEP, se requieren estrategias complementarias para prevenir la transmisión de ITS en la población de usuarios que incorporan PrEP como parte de su esquema de prevención del VIH; incluyendo el uso consistente de preservativo o la toma de Doxiciclina post-exposición (Doxi-PEP), además de identificar los factores que influyen en el aumento del riesgo

para ITS entre los usuarios de PrEP, lo cual resulta de importancia en nuestro país, dada la reciente publicación de la NTS N° 204 -MINSA/DGIESP-2023, “Norma Técnica de Salud “Prevención Combinada del Virus de la Inmunodeficiencia Humana para Poblaciones en Alto Riesgo” (133) que establece la distribución de PrEP para las poblaciones clave de nuestro país, lo cual tendrá un efecto importante en la reducción del VIH y en la dinámica de las ITS En Perú y podría considerar los hallazgos de la tesis.

## X.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Newman L, Rowley J, Vander Hoorn S, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS One*. 2015;10(12):e0143304.
2. Smolak A, Rowley J, Nagelkerke N, Kassebaum NJ, Chico RM, Korenromp EL, et al. Trends and Predictors of Syphilis Prevalence in the General Population: Global Pooled Analyses of 1103 Prevalence Measures Including 136 Million Syphilis Tests. *Clin Infect Dis*. 2018;66(8):1184-91.
3. Kenyon CR, Osbak K, Tsoumanis A. The Global Epidemiology of Syphilis in the Past Century - A Systematic Review Based on Antenatal Syphilis Prevalence. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(5):e0004711.
4. Fenton KA, Breban R, Vardavas R, Okano JT, Martin T, Aral S, et al. Infectious syphilis in high-income settings in the 21st century. *Lancet Infect Dis*. 2008;8(4):244-53.
5. Abara WE, Hess KL, Neblett Fanfair R, Bernstein KT, Paz-Bailey G. Syphilis Trends among Men Who Have Sex with Men in the United States and Western Europe: A Systematic Review of Trend Studies Published between 2004 and 2015. *PLoS One*. 2016;11(7):e0159309.
6. Report on global sexually transmitted infection surveillance, 2018. Geneva: World Health Organization; 2018. Contract No.: Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
7. Branger J, van der Meer JT, van Ketel RJ, Jurriaans S, Prins JM. High incidence of asymptomatic syphilis in HIV-infected MSM justifies routine screening. *Sex Transm Dis*. 2009;36(2):84-5.
8. Ahn JY, Boettiger D, Kiertiburanakul S, Merati TP, Huy BV, Wong WW, et al. Incidence of syphilis seroconversion among HIV-infected persons in Asia: results from the TREAT Asia HIV Observational Database. *J Int AIDS Soc*. 2016;19(1):20965.
9. Tsachouridou O, Skoura L, Christaki E, Kollaras P, Sidiropoulou E, Zebekakis P, et al. Syphilis on the rise: A prolonged syphilis outbreak among HIV-infected patients in Northern Greece. *Germs*. 2016;6(3):83-90.
10. Carcamo CP, Campos PE, Garcia PJ, Hughes JP, Garnett GP, Holmes KK. Prevalences of sexually transmitted infections in young adults and female sex workers in Peru: a national population-based survey. *Lancet Infect Dis*. 2012;12(10):765-73.
11. Celentano DD, Mayer KH, Pequegnat W, Abdala N, Green AM, Handsfield HH, et al. Prevalence of Sexually Transmitted Diseases and Risk Behaviors from the NIMH Collaborative HIV/STD Prevention Trial. *Int J Sex Health*. 2010;22(4):272-84.
12. Tabet S, Sanchez J, Lama J, Goicochea P, Campos P, Rouillon M, et al. HIV, syphilis and heterosexual bridging among Peruvian men who have sex with men. *AIDS*. 2002;16(9):1271-7.
13. Silva-Santisteban A, Konda KA, Leon S, Salazar X, Sandoval C, Clark J, et al. P4.122 Effectiveness of Comunidades Positivas: A Randomised Community-Level Combination HIV Prevention Intervention For Men Who Have



- Sex with Men in Peru. *Sexually Transmitted Infections*. 2013;89(Suppl 1):A325-A6.
14. Pizzicato LN, Vagenas P, Gonzales P, Lama JR, Pun M, Sanchez J, et al. Active syphilis and its association with HIV and sexual risk behaviours in a multicity sample of men who have sex with men and transgender women in Peru. *Sex Health*. 2017;14(4):304-12.
  15. Silva-Santisteban A, Raymond HF, Salazar X, Villayzan J, Leon S, McFarland W, et al. Understanding the HIV/AIDS epidemic in transgender women of Lima, Peru: results from a sero-epidemiologic study using respondent driven sampling. *AIDS Behav*. 2012;16(4):872-81.
  16. Clark JL, Konda KA, Segura ER, Salvatierra HJ, Leon SR, Hall ER, et al. Risk factors for the spread of HIV and other sexually transmitted infections among men who have sex with men infected with HIV in Lima, Peru. *Sex Transm Infect*. 2008;84(6):449-54.
  17. Souza EMD. Há 100 anos, a descoberta do *Treponema pallidum*. *Anais Brasileiros de Dermatologia*. 2005;80:547-8.
  18. Lafond RE, Lukehart SA. Biological basis for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 2006;19(1):29-49.
  19. Ho EL, Lukehart SA. Syphilis: using modern approaches to understand an old disease. *J Clin Invest*. 2011;121(12):4584-92.
  20. Rompalo AM, Joesoef MR, O'Donnell JA, Augenbraun M, Brady W, Radolf JD, et al. Clinical manifestations of early syphilis by HIV status and gender: results of the syphilis and HIV study. *Sex Transm Dis*. 2001;28(3):158-65.
  21. Forrest CE, Ward A. Clinical diagnosis of syphilis: a ten-year retrospective analysis in a South Australian urban sexual health clinic. *Int J STD AIDS*. 2016;27(14):1334-7.
  22. Watts PJ, Greenberg HL, Khachemoune A. Unusual primary syphilis: Presentation of a likely case with a review of the stages of acquired syphilis, its differential diagnoses, management, and current recommendations. *Int J Dermatol*. 2016;55(7):714-28.
  23. Binnicker MJ, Jespersen DJ, Rollins LO. *Treponema*-specific tests for serodiagnosis of syphilis: comparative evaluation of seven assays. *J Clin Microbiol*. 2011;49(4):1313-7.
  24. Larsen SA, Steiner BM, Rudolph AH. Laboratory diagnosis and interpretation of tests for syphilis. *Clin Microbiol Rev*. 1995;8(1):1-21.
  25. Song EY, Yang J-S, Chae S-L, Kim S, Choi YS, Cha Y-J. Current Status of External Quality Assessment of Syphilis Test in Korea. *kjlm*. 2008;28(3):207-13.
  26. Vargas S, Konda K, Quellon J, Vasquez F, Calvo G, Reyes M, et al. P237 Diagnostic agreement evaluation of treponemal test for syphilis testing. *Sexually Transmitted Infections*. 2021;97(Suppl 1):A122.
  27. (CDC) CfDCaP. Discordant results from reverse sequence syphilis screening--five laboratories, United States, 2006-2010. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2011;60(5):133-7.
  28. Ratnam S. The laboratory diagnosis of syphilis. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2005;16(1):45-51.

29. Dorigo-Zetsma JW, Belewu D, Meless H, Sanders E, Coutinho RA, Schaap A, et al. Performance of routine syphilis serology in the Ethiopian cohort on HIV/AIDS. *Sexually Transmitted Infections*. 2004;80(2):96-9.
30. Gupta SM, Bala M, Muralidhar S, Ray K. Evaluation of test results of microbiology laboratories of North India for standard tests for syphilis under an external quality assurance scheme. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(5):461-8.
31. Hamill MM, Mbazira KJ, Kiragga AN, Gaydos CA, Jett-Goheen M, Parkes-Ratanshi R, et al. Challenges of Rapid Plasma Reagin Interpretation in Syphilis Screening in Uganda: Variability in Nontreponemal Results Between Different Laboratories. *Sex Transm Dis*. 2018;45(12):829-33.
32. Rompalo AM, Cannon RO, Quinn TC, Hook EW, 3rd. Association of biologic false-positive reactions for syphilis with human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis*. 1992;165(6):1124-6.
33. Nishal PK, Kapoor A, Jain VK, Dayal S, Aggarwal K. Changing trends in acquired syphilis at a Tertiary Care Center of North India. *Indian J Sex Transm Dis AIDS*. 2015;36(2):149-53.
34. Workowski KA, Bolan GA, Centers for Disease C, Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2015. *MMWR Recomm Rep*. 2015;64(RR-03):1-137.
35. Ghanem KG, Erbelding EJ, Wiener ZS, Rompalo AM. Serological response to syphilis treatment in HIV-positive and HIV-negative patients attending sexually transmitted diseases clinics. *Sex Transm Infect*. 2007;83(2):97-101.
36. Pastuszczak M, Wojas-Pelc A. Current standards for diagnosis and treatment of syphilis: selection of some practical issues, based on the European (IUSTI) and U.S. (CDC) guidelines. *Postepy Dermatol Alergol*. 2013;30(4):203-10.
37. Seña AC, Wolff M, Behets F, Martin DH, Leone P, Langley C, et al. Rate of Decline in Nontreponemal Antibody Titers and Seroreversion After Treatment of Early Syphilis. *Sex Transm Dis*. 2017;44(1):6-10.
38. Knaute DF, Graf N, Lautenschlager S, Weber R, Bosshard PP. Serological response to treatment of syphilis according to disease stage and HIV status. *Clin Infect Dis*. 2012;55(12):1615-22.
39. Seña AC, Zhang XH, Li T, Zheng HP, Yang B, Yang LG, et al. A systematic review of syphilis serological treatment outcomes in HIV-infected and HIV-uninfected persons: rethinking the significance of serological non-responsiveness and the serofast state after therapy. *BMC Infect Dis*. 2015;15:479.
40. Marra CM, Ghanem KG. Centers for Disease Control and Prevention Syphilis Summit: Difficult Clinical and Patient Management Issues. *Sex Transm Dis*. 2018;45(9S Suppl 1):S10-s2.
41. Castro AR, Esfandiari J, Kumar S, Ashton M, Kikkert SE, Park MM, et al. Novel point-of-care test for simultaneous detection of nontreponemal and treponemal antibodies in patients with syphilis. *J Clin Microbiol*. 2010;48(12):4615-9.
42. Runina AV, Katunin GL, Filippova MA, Zatevalov AM, Kubanov AA, Deryabin DG. ImmunoChip for Syphilis Serodiagnostics with the Use of Extended

- Array of *Treponema pallidum* Recombinant Antigens. *Bull Exp Biol Med.* 2018;165(6):767-71.
43. Osbak KK, Van Raemdonck GA, Dom M, Cameron CE, Meehan CJ, Deforce D, et al. Candidate *Treponema pallidum* biomarkers uncovered in urine from individuals with syphilis using mass spectrometry. *Future Microbiol.* 2018;13:1497-510.
  44. Desem N, Jones SL. Development of a human gamma interferon enzyme immunoassay and comparison with tuberculin skin testing for detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Clin Diagn Lab Immunol.* 1998;5(4):531-6.
  45. Katial RK, Hershey J, Purohit-Seth T, Belisle JT, Brennan PJ, Spencer JS, et al. Cell-mediated immune response to tuberculosis antigens: comparison of skin testing and measurement of in vitro gamma interferon production in whole-blood culture. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2001;8(2):339-45.
  46. Fietta A, Meloni F, Cascina A, Morosini M, Marena C, Troupioti P, et al. Comparison of a whole-blood interferon-gamma assay and tuberculin skin testing in patients with active tuberculosis and individuals at high or low risk of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Am J Infect Control.* 2003;31(6):347-53.
  47. Pastuszczak M, Gozdzińska A, Jakiela B, Obtulowicz A, Jaskiewicz J, Wojas-Pelc A. Robust pro-inflammatory immune response is associated with serological cure in patients with syphilis: an observational study. *Sex Transm Infect.* 2017;93(1):11-4.
  48. Kenyon C, Osbak KK, Crucitti T, Kestens L. The immunological response to syphilis differs by HIV status; a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):111.
  49. Knudsen A, Benfield T, Kofoed K. Cytokine expression during syphilis infection in HIV-1-infected individuals. *Sex Transm Dis.* 2009;36(5):300-4.
  50. Kenyon C, Osbak KK, Crucitti T, Kestens L. Syphilis reinfection is associated with an attenuated immune profile in the same individual: a prospective observational cohort study. *BMC Infect Dis.* 2018;18(1):479.
  51. Kojima N, Bristow CC, Maecker H, Rosenberg-Hasson Y, Leon SR, Vargas SK, et al. Similarities in the Markers of Inflammation Between Men With Syphilis and Women With Increased Risk of HIV Acquisition. *Clin Infect Dis.* 2016;62(2):265-6.
  52. Kojima N, Siebert JC, Maecker H, Rosenberg-Hasson Y, Leon SR, Vargas SK, et al. Cytokine expression in *Treponema pallidum* infection. *J Transl Med.* 2019;17(1):196.
  53. Osias E, Hung P, Giacani L, Stafylis C, Konda KA, Vargas SK, et al. Investigation of syphilis immunology and *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* biology to improve clinical management and design a broadly protective vaccine: study protocol. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):444.
  54. Podwinska J, Lusiak M, Zaba R, Bowszyc J. The pattern and level of cytokines secreted by Th1 and Th2 lymphocytes of syphilitic patients correlate to the progression of the disease. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2000;28(1):1-14.
  55. Min F, Wang J, Pan J, Huang S, Zhang L, Zhang Y. Circulating cytokines, chemokines, and soluble CD molecules in mycobacterium tuberculosis-infected rhesus monkeys (*Macaca*

- mulatta), as determined by Luminex xMAP assays. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine (IJCEM, ISSN 1940-5901)*. 2019;12:10637-44.
56. Stojewska M, Wąsek-Buko M, Jakub B, Wiśniewska-Ulfig D, Goleniowska-Król A, Szymańska A, et al. Evaluation of serum chemokine RANTES concentration as a biomarker in the diagnosis of early-onset severe infections in neonates. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*. 2016;70:272-9.
57. John CC, Opika-Opoka R, Byarugaba J, Idro R, Boivin MJ. Low levels of RANTES are associated with mortality in children with cerebral malaria. *J Infect Dis*. 2006;194(6):837-45.
58. Benyoucef S, Hober D, De Groote D, Bocket L, De La Tribonnière X, Mouton Y, et al. RANTES production in HIV-1 antigen-stimulated whole blood culture: relationship with type 1 immune response and plasma viral load in individuals infected with HIV-1. *Scand J Immunol*. 1998;48(2):212-6.
59. Brightbill HD, Libraty DH, Krutzik SR, Yang RB, Belisle JT, Bleharski JR, et al. Host defense mechanisms triggered by microbial lipoproteins through toll-like receptors. *Science*. 1999;285(5428):732-6.
60. Thoma-Uszynski S, Stenger S, Takeuchi O, Ochoa MT, Engele M, Sieling PA, et al. Induction of direct antimicrobial activity through mammalian toll-like receptors. *Science*. 2001;291(5508):1544-7.
61. de-Oliveira-Pinto LM, Gandini M, Freitas LP, Siqueira MM, Marinho CF, Setúbal S, et al. Profile of circulating levels of IL-1Ra, CXCL10/IP-10, CCL4/MIP-1 $\beta$  and CCL2/MCP-1 in dengue fever and parvovirus. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2012;107(1):48-56.
62. Akashi S, Suzukawa M, Takeda K, Asari I, Kawashima M, Ohshima N, et al. IL-1RA in the supernatant of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and QuantiFERON-TB Gold Plus is useful for discriminating active tuberculosis from latent infection. *J Infect Chemother*. 2021;27(4):617-24.
63. Lamoury FM, Hajarizadeh B, Keoshkerian E, Feld JJ, Amin J, Teutsch S, et al. HIV infection is associated with higher levels of monocyte chemoattractant protein-1 and eotaxin among people with recent hepatitis C virus infection. *BMC Infect Dis*. 2016;16:241.
64. Olivier AJ, Masson L, Ronacher K, Walzl G, Coetzee D, Lewis DA, et al. Distinct cytokine patterns in semen influence local HIV shedding and HIV target cell activation. *J Infect Dis*. 2014;209(8):1174-84.
65. Mukura LR, Ghosh M, Fahey JV, Cu-Uvin S, Wira CR. Genital tract viral load in HIV Type 1-positive women correlates with specific cytokine levels in cervical-vaginal secretions but is not a determinant of infectious virus or anti-HIV activity. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2012;28(11):1533-9.
66. Roberts L, Passmore JA, Williamson C, Little F, Bebell LM, Mlisana K, et al. Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression. *AIDS*. 2010;24(6):819-31.
67. Barqasho B, Nowak P, Tjernlund A, Kinloch S, Goh LE, Lampe F, et al. Kinetics of plasma cytokines and chemokines during primary HIV-1 infection and after analytical treatment interruption. *HIV Med*. 2009;10(2):94-102.
68. Nosik M, Ryzhov K, Rymanova I, Sobkin A, Kravtchenko A, Kuimova U, et al. Dynamics of Plasmatic Levels of Pro- and Anti-Inflammatory Cytokines in HIV-Infected Individuals with. *Microorganisms*. 2021;9(11).

69. Rambaran S, Naidoo K, Lewis L, Hassan-Moosa R, Govender D, Samsunder N, et al. Effect of Inflammatory Cytokines/Chemokines on Pulmonary Tuberculosis Culture Conversion and Disease Severity in HIV-Infected and -Uninfected Individuals From South Africa. *Front Immunol.* 2021;12:641065.
70. Chevalier MF, Petitjean G, Dunyach-Rémy C, Didier C, Girard PM, Manea ME, et al. The Th17/Treg ratio, IL-1RA and sCD14 levels in primary HIV infection predict the T-cell activation set point in the absence of systemic microbial translocation. *PLoS Pathog.* 2013;9(6):e1003453.
71. Aboulnasr F, Paranjape G, Badley AD. The TRAIL: TRAILshort Axis in HIV Immunopathology. *Crit Rev Immunol.* 2018;38(6):491-503.
72. Buchacz K, Patel P, Taylor M, Kerndt PR, Byers RH, Holmberg SD, et al. Syphilis increases HIV viral load and decreases CD4 cell counts in HIV-infected patients with new syphilis infections. *AIDS.* 2004;18(15):2075-9.
73. Fan L, Yu A, Zhang D, Wang Z, Ma P. Consequences of HIV/Syphilis Co-Infection on HIV Viral Load and Immune Response to Antiretroviral Therapy. *Infect Drug Resist.* 2021;14:2851-62.
74. Rowley J, Vander Hoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.* 2019;97(8):548-62p.
75. 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;17(2):e84-92.
76. Perez-Brumer AG, Konda KA, Salvatierra HJ, Segura ER, Hall ER, Montano SM, et al. Prevalence of HIV, STIs, and risk behaviors in a cross-sectional community- and clinic-based sample of men who have sex with men (MSM) in Lima, Peru. *PLoS One.* 2013;8(4):e59072.
77. Allan-Blitz LT, Konda KA, Vargas SK, Wang X, Segura ER, Fazio BM, et al. The development of an online risk calculator for the prediction of future syphilis among a high-risk cohort of men who have sex with men and transgender women in Lima, Peru. *Sex Health.* 2018;15(3):261-8.
78. Kojima N, Park H, Konda KA, Joseph Davey DL, Bristow CC, Brown B, et al. The PICASSO Cohort: baseline characteristics of a cohort of men who have sex with men and male-to-female transgender women at high risk for syphilis infection in Lima, Peru. *BMC Infect Dis.* 2017;17(1):255.
79. Park H, Konda KA, Roberts CP, Maguiña JL, Leon SR, Clark JL, et al. Risk Factors Associated with Incident Syphilis in a Cohort of High-Risk Men in Peru. *PLoS One.* 2016;11(9):e0162156.
80. Snowden JM, Konda KA, Leon SR, Giron JM, Escobar G, Coates TJ, et al. Recent syphilis infection prevalence and risk factors among male low-income populations in coastal Peruvian cities. *Sex Transm Dis.* 2010;37(2):75-80.
81. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — Fact sheet. 2023.
82. Grant RM, Lama JR, Anderson PL, McMahan V, Liu AY, Vargas L, et al. Preexposure chemoprophylaxis for HIV prevention in men who have sex with men. *N Engl J Med.* 2010;363(27):2587-99.
83. Molina JM, Capitant C, Spire B, Pialoux G, Cotte L, Charreau I, et al. On-Demand Preexposure Prophylaxis in Men at High Risk for HIV-1 Infection. *N Engl J Med.* 2015;373(23):2237-46.

84. McCormack S, Dunn DT, Desai M, Dolling DI, Gafos M, Gilson R, et al. Pre-exposure prophylaxis to prevent the acquisition of HIV-1 infection (PROUD): effectiveness results from the pilot phase of a pragmatic open-label randomised trial. *Lancet*. 2016;387(10013):53-60.
85. Grant RM, Anderson PL, McMahan V, Liu A, Amico KR, Mehrotra M, et al. Uptake of pre-exposure prophylaxis, sexual practices, and HIV incidence in men and transgender women who have sex with men: a cohort study. *Lancet Infect Dis*. 2014;14(9):820-9.
86. Molina JM, Charreau I, Spire B, Cotte L, Chas J, Capitant C, et al. Efficacy, safety, and effect on sexual behaviour of on-demand pre-exposure prophylaxis for HIV in men who have sex with men: an observational cohort study. *Lancet HIV*. 2017;4(9):e402-e10.
87. Marins LMS, Torres TS, Leite IdC, Moreira RI, Luz PM, Hoagland B, et al. Performance of HIV pre-exposure prophylaxis indirect adherence measures among men who have sex with men and transgender women: Results from the PrEP Brasil Study. *PLOS ONE*. 2019;14(8):e0221281.
88. Marcus JL, Glidden DV, Mayer KH, Liu AY, Buchbinder SP, Amico KR, et al. No evidence of sexual risk compensation in the iPrEx trial of daily oral HIV preexposure prophylaxis. *PLoS One*. 2013;8(12):e81997.
89. Sagaon-Teyssier L, Suzan-Monti M, Demoulin B, Capitant C, Lorente N, Préau M, et al. Uptake of PrEP and condom and sexual risk behavior among MSM during the ANRS IPERGAY trial. *AIDS Care*. 2016;28 Suppl 1:48-55.
90. Nguyen VK, Greenwald ZR, Trottier H, Cadieux M, Goyette A, Beauchemin M, et al. Incidence of sexually transmitted infections before and after preexposure prophylaxis for HIV. *AIDS*. 2018;32(4):523-30.
91. Montañó MA, Dombrowski JC, Dasgupta S, Golden MR, Duerr A, Manhart LE, et al. Changes in Sexual Behavior and STI Diagnoses Among MSM Initiating PrEP in a Clinic Setting. *AIDS Behav*. 2018.
92. Lal L, Audsley J, Murphy DA, Fairley CK, Stooove M, Roth N, et al. Medication adherence, condom use and sexually transmitted infections in Australian preexposure prophylaxis users. *AIDS*. 2017;31(12):1709-14.
93. Gafos M, Horne R, Nutland W, Bell G, Rae C, Wayal S, et al. The Context of Sexual Risk Behaviour Among Men Who Have Sex with Men Seeking PrEP, and the Impact of PrEP on Sexual Behaviour. *AIDS Behav*. 2019;23(7):1708-20.
94. Veloso VG, Cáceres CF, Hoagland B, Moreira RI, Vega-Ramírez H, Konda KA, et al. Same-day initiation of oral pre-exposure prophylaxis among gay, bisexual, and other cisgender men who have sex with men and transgender women in Brazil, Mexico, and Peru (ImPrEP): a prospective, single-arm, open-label, multicentre implementation study. *The Lancet HIV*. 2023;10(2):e84-e96.
95. Perú MdSd. Norma Técnica de Salud para el Manejo de Infecciones de Transmisión Sexual en el Perú. In: DGSP, editor. Lima2009.
96. Anderson PL, Glidden DV, Liu A, Buchbinder S, Lama JR, Guanira JV, et al. Emtricitabine-tenofovir concentrations and pre-exposure prophylaxis efficacy in men who have sex with men. *Sci Transl Med*. 2012;4(151):151ra25.
97. Bristow CC, Hassan A, Moore DJ, Dubé MP, Corado K, Chow K, et al. Sexually transmitted infections among participants in an HIV PrEP adherence trial. *Int J STD AIDS*. 2022;33(4):397-403.

98. Gravett RM, Westfall AO, Overton ET, Kudroff K, Muzny CA, Eaton EF. Sexually transmitted infections and sexual behaviors of men who have sex with men in an American Deep South PrEP clinic. *Int J STD AIDS*. 2020;31(2):127-35.
99. Hoornenborg E, Coyer L, Achterbergh RCA, Matser A, Schim van der Loeff MF, Boyd A, et al. Sexual behaviour and incidence of HIV and sexually transmitted infections among men who have sex with men using daily and event-driven pre-exposure prophylaxis in AMPrEP: 2 year results from a demonstration study. *Lancet HIV*. 2019;6(7):e447-e55.
100. Jongen VW, Van Der Loeff MFS, Van Den Elshout M, Wijstma E, Coyer L, Davidovich U, et al. Bacterial sexually transmitted infections are concentrated in subpopulations of men who have sex with men using HIV pre-exposure prophylaxis. *Aids*. 2023;37(13):2059-68.
101. Solomon MM, Mayer KH, Glidden DV, Liu AY, McMahan VM, Guanira JV, et al. Syphilis predicts HIV incidence among men and transgender women who have sex with men in a preexposure prophylaxis trial. *Clin Infect Dis*. 2014;59(7):1020-6.
102. Traeger MW, Cornelisse VJ, Asselin J, Price B, Roth NJ, Willcox J, et al. Association of HIV Preexposure Prophylaxis With Incidence of Sexually Transmitted Infections Among Individuals at High Risk of HIV Infection. *Jama*. 2019;321(14):1380-90.
103. Montaña MA, Dombrowski JC, Dasgupta S, Golden MR, Manhart LE, Barbee LA, et al. Differences in sexually transmitted infection risk comparing preexposure prophylaxis users and propensity score matched historical controls in a clinic setting. *AIDS*. 2019;33(11):1773-80.
104. Zhou Q, Liu J, Li H, Han Y, Yin Y. Increased Risk of Sexually Transmitted Infections in Men Who Have Sex With Men Taking Preexposure Prophylaxis: A Meta-analysis. *Sex Transm Dis*. 2022;49(11):733-9.
105. Luetkemeyer AF, Donnell D, Dombrowski JC, Cohen S, Grabow C, Brown CE, et al. Postexposure Doxycycline to Prevent Bacterial Sexually Transmitted Infections. *N Engl J Med*. 2023;388(14):1296-306.
106. Woodward C, Lloyd KC, Bloch S, Saunders J, Estcourt C, Gibbs J. O12 The use of digital partner notification in sexually transmitted infections (STIs) including HIV: a scoping review. *Sexually Transmitted Infections*. 2022;98(Suppl 1):A6-A7.
107. Clark JL, Segura ER, Oldenburg CE, Rios J, Montano SM, Perez-Brumer A, et al. Expedited Partner Therapy (EPT) increases the frequency of partner notification among MSM in Lima, Peru: a pilot randomized controlled trial. *BMC Med*. 2017;15(1):94.
108. Coyer L, Prins M, Davidovich U, van Bilsen WPH, Schim van der Loeff MF, Hoornenborg E, et al. Trends in Sexual Behavior and Sexually Transmitted Infections After Initiating Human Immunodeficiency Virus Pre-Exposure Prophylaxis in Men Who Have Sex with Men from Amsterdam, the Netherlands: A Longitudinal Exposure-Matched Study. *AIDS Patient Care STDS*. 2022;36(6):208-18.
109. Clark J, Salvatierra J, Segura E, Salazar X, Konda K, Perez-Brumer A, et al. Moderno love: sexual role-based identities and HIV/STI prevention among men who have sex with men in Lima, Peru. *AIDS Behav*. 2013;17(4):1313-28.

110. Hung P, Osias E, Konda KA, Calvo GM, Reyes-Díaz EM, Vargas SK, et al. High Lifetime Prevalence of Syphilis in Men Who Have Sex With Men and Transgender Women Versus Low Lifetime Prevalence in Female Sex Workers in Lima, Peru. *Sex Transm Dis.* 2020;47(8):549-55.
111. Silva-Santisteban A, Eng S, de la Iglesia G, Falistocco C, Mazin R. HIV prevention among transgender women in Latin America: implementation, gaps and challenges. *J Int AIDS Soc.* 2016;19(3 Suppl 2):20799.
112. Ramos-Jaraba SM, Berbesí-Fernández DY, Bedoya-Mejía S, Molina-Estrada AP, Martínez-Rocha A, Segura-Cardona Á. Factors associated with the perception of HIV vulnerability among transgender women in three Colombian cities. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2021;38(2):232-9.
113. Berzkalns A, Thibault CS, Barbee LA, Golden MR, Khosropour C, Kerani RP. Decreases in Reported Sexually Transmitted Infections During the Time of COVID-19 in King County, WA: Decreased Transmission or Screening? *Sex Transm Dis.* 2021;48(8S):S44-S9.
114. Chow EPF, Hocking JS, Ong JJ, Phillips TR, Fairley CK. Sexually Transmitted Infection Diagnoses and Access to a Sexual Health Service Before and After the National Lockdown for COVID-19 in Melbourne, Australia. *Open Forum Infect Dis.* 2021;8(1):ofaa536.
115. Tao J, Napoleon SC, Maynard MA, Almonte A, Silva E, Toma E, et al. Impact of the COVID-19 Pandemic on Sexually Transmitted Infection Clinic Visits. *Sex Transm Dis.* 2021;48(1):e5-e7.
116. Jalil EM, Torres TS, Luz PM, Monteiro L, Moreira RI, de Castro CRV, et al. Low PrEP adherence despite high retention among transgender women in Brazil: the PrEPParadas study. *J Int AIDS Soc.* 2022;25(3):e25896.
117. Echeverría-Guevara A, Coelho LE, Veloso VG, Pimenta MC, Hoagland B, Moreira RI, et al. Travestis, transgender women and young MSM are at high risk for PrEP early loss to follow-up in Rio de Janeiro, Brazil. *Braz J Infect Dis.* 2023;27(1):102733.
118. Bass SB, Kelly PJ, Brajuha J, Gutierrez-Mock L, Koester K, D'Avanzo P, et al. Exploring barriers and facilitators to PrEP use among transgender women in two urban areas: implications for messaging and communication. *BMC Public Health.* 2022;22(1):17.
119. Wilson EC, Turner CM, Arayasirikul S, Lightfoot M, Scheer S, Raymond HF, et al. Disparities in the PrEP continuum for trans women compared to MSM in San Francisco, California: results from population-based cross-sectional behavioural surveillance studies. *J Int AIDS Soc.* 2020;23 Suppl 3:e25539.
120. Leyva-Moral JM, Castro Ávila J, Villar M, López B, Adell H, Meroño M, et al. Impact of the COVID-19 Health Crisis on Trans Women and Cis Men Sex Workers in Spain. *Arch Sex Behav.* 2022.
121. Koehler A, Motmans J, Alvarez LM, Azul D, Badalyan K, Basar K, et al. How the COVID-19 pandemic affects transgender health care in upper-middle-income and high-income countries – A worldwide, cross-sectional survey. *medRxiv.* 2020:2020.12.23.20248794.
122. Salazar X, Villayzán J. La Covid-19 y las Mujeres Trans en el Perú: Un diagnóstico rápido. Lima: RED TRANS PERÚ; 2021.



123. Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, et al. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep.* 2021;70(4):1-187.
124. Rastegar J, Hu A, Chung L, Stevens L, Dixon SW, Schwab P, et al. HIV preexposure prophylaxis treatment patterns in a national health plan population. *Journal of Managed Care & Specialty Pharmacy.* 2023;29(12):1267-74.
125. Goldwirt L, Bauer R, Liegeon G, Charreau I, Delaugerre C, Cotte L, et al. Estimated pill intake with on-demand PrEP with oral TDF/FTC using TFV-DP concentration in dried blood spots in the ANRS IPERGAY trial. *J Antimicrob Chemother.* 2021;76(10):2675-80.
126. Townes A, Pyra M, Smith DK, Babu AS, Williams T, Wiener J, et al. PrEP Use and Adherence among Transgender Persons in Chicago, IL (SHIPP Study, 2014-2018, USA). *AIDS Behav.* 2023;27(3):901-8.
127. Pyra M, Rusie L, Castro M, Keglovitz Baker K, McNulty M, Bohm N, et al. A taxonomy of pragmatic measures of HIV preexposure prophylaxis use. *Aids.* 2020;34(13):1951-7.
128. Luz PM, Torres TS, Almeida-Brasil CC, Marins LMS, Veloso VG, Grinsztejn B, et al. High-Risk Sexual Behavior, Binge Drinking and Use of Stimulants are Key Experiences on the Pathway to High Perceived HIV Risk Among Men Who Have Sex with Men in Brazil. *AIDS Behav.* 2021;25(3):748-57.
129. Poteat T, Scheim A, Xavier J, Reisner S, Baral S. Global Epidemiology of HIV Infection and Related Syndemics Affecting Transgender People. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2016;72 Suppl 3(Suppl 3):S210-9.
130. Konda KA, Torres TS, Mariño G, Ramos A, Moreira RI, Leite IC, et al. Factors associated with long-term HIV pre-exposure prophylaxis engagement and adherence among transgender women in Brazil, Mexico and Peru: results from the ImPrEP study. *J Int AIDS Soc.* 2022;25 Suppl 5(Suppl 5):e25974.
131. Cooney EE, Reisner SL, Saleem HT, Althoff KN, Beckham SW, Radix A, et al. Prevention-effective adherence trajectories among transgender women indicated for PrEP in the United States: a prospective cohort study. *Ann Epidemiol.* 2022;70:23-31.
132. Stamp BF, Powers KA, Horvath KJ, Soberano ZR, Hosek SG, Stocks JB, et al. Prediction of Sex and the Potential Use of On-Demand PrEP Among Young Men Who Have Sex With Men in the United States. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes.* 2023;93(4):292-9.
133. Salud Md. Norma Técnica de Salud “Prevención Combinada del Virus de la Inmunodeficiencia Humana para Poblaciones en Alto Riesgo. 2023.

## XII. ANEXOS

### 10.1 Anexo 1: Aprobaciones éticas de los estudios primarios



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

Dirección Universitaria de  
INVESTIGACIÓN, CIENCIA Y  
TECNOLOGÍA (DUICT)

#### CONSTANCIA R-0268-43-21

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el comité institucional de ética en investigación aprobó la **RENOVACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del proyecto : "Comprender las interacciones huésped-patógeno en pacientes con infección por sífilis"

Código de inscripción : 103093

Investigador(es) principal (es) : Cáceres Palacios, Carlos Fernando; Klausner, Jeffrey D.; Kelika A. Konda, MHS, PhD

Cualquier enmienda, desviaciones y/u otras eventualidades deberá ser reportada a este Comité de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada 6 meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste.

La presente **RENOVACIÓN** tiene vigencia desde el 23 de noviembre del 2021 hasta el 22 de noviembre del 2022.

Así mismo el Comité toma conocimiento del Informe Periódico de Avances del estudio de referencia. Documento recibido en fecha 12 de noviembre del 2021.

Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 23 de noviembre del 2021

  
  
Dr. Luis Arturo Pedro Saona Ugarte  
Presidente  
Comité Institucional de Ética en Investigación

*Ja.*



**CONSTANCIA R- E078 - 15 -20**

El Presidente del Comité Institucional de Ética en Investigación (CIEI) de la Universidad Peruana Cayetano Heredia hace constar que el comité institucional de ética en investigación aprobó la **RENOVACIÓN** del proyecto de investigación señalado a continuación.

Título del proyecto : "Implementación de la profilaxis previa a la exposición al VIH (PrEP) para HSH y personas transgénero: Un proyecto de demostración en el contexto de la prevención combinada en Brasil, México y Perú".

Código de inscripción : 100740

Investigador(es) principal (es) : Vega-Ramírez, Hamid  
Bautista Arredondo, Sergio Antonio

Cualquier emienda, desviaciones y/u otras eventualidades deberá ser reportada a este Comité de acuerdo a los plazos y normas establecidas. El investigador reportará cada 6 meses el progreso del estudio y alcanzará un informe al término de éste.

La presente **RENOVACIÓN** tiene vigencia desde el 16 de junio del 2020 hasta el 15 de junio del 2021.

Así mismo el Comité toma conocimiento del Informe Periódico de Avances del estudio de referencia. Documento recibido en fecha 08 de junio del 2020.

Los trámites para su renovación deberán iniciarse por lo menos 30 días previos a su vencimiento.

Lima, 16 de junio del 2020

Dra. Frine Samalvides Cuba  
Presidenta

Comité Institucional de Ética en Investigación

## 10.2 Anexo 2: Consentimiento informado, asentimiento informado y/u hoja informativa

### CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Investigador :	Silver K. Vargas Rivera
Institución :	Universidad Peruana Cayetano Heredia

#### “EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INMUNE A SÍFILIS, Y FACTORES ASOCIADOS A SU INCIDENCIA EN POBLACIONES CLAVE USUARIOS DE CLÍNICAS DE ITS DEL PERÚ”

#### PROPÓSITO DEL ESTUDIO:

Lo estamos invitando a participar en un estudio para entender cómo reacciona el cuerpo humano a la infección por sífilis y la compararemos entre las distintas fases de la infección. Esto servirá para identificar nuevos marcadores biológicos de la enfermedad que servirán para la creación de nuevas pruebas diagnósticas de laboratorio.

La sífilis es una enfermedad producida por una bacteria llamada *Treponema pallidum*. Este microorganismo se transmite únicamente entre las personas, mayormente por vía sexual, aunque también una mujer embarazada puede transmitirla al feto. En la etapa inicial puede encontrarse una lesión grande e indolora conocida como chancro, la que puede desaparecer sin tratamiento, pasando a diseminarse por todo el cuerpo y luego volviéndose asintomática por muchos años, si es que la persona no recibe el tratamiento oportuno. Como respuesta a las infecciones, el cuerpo humano genera unas sustancias llamadas citoquinas, que ayudan a combatir la enfermedad, pero existen diferentes tipos de citoquinas y puede que algunas muy específicas varíen su concentración luego de recibir el tratamiento. Debido a que las pruebas de laboratorio actuales presentan algunos problemas para identificar correctamente a todas las personas enfermas, y algunos pueden tener la sífilis sin presentar síntomas, se requieren de nuevas pruebas de laboratorio para poder detectarla correctamente.

Usted fue seleccionado como posible participante en este estudio porque tiene un diagnóstico de sífilis y se encuentra participando en el estudio Picasso. Su participación en este estudio de investigación es voluntaria.

#### PROCEDIMIENTOS:

Si decide participar en este estudio se realizará lo siguiente:

1. Permitir que el equipo de investigación acceda a la información recolectada en el estudio Picasso tales como sus antecedentes de sífilis, su edad, sexo, antecedentes de otras ITS y VIH, entre otros.
2. Le pediremos que regrese a la clínica una vez más, a los 7 días contando desde su visita inicial en el estudio Picasso.
3. Permitir que un miembro entrenado del equipo colecte hasta 12 ml de su sangre (aproximadamente 2 cucharitas de té) para las pruebas de laboratorio. Con esta sangre, haremos pruebas de laboratorio para estudiar la respuesta inmune de su cuerpo a la sífilis (Prueba de reagentes o RPR, medición de citoquinas y medición de células CD4).
4. Le pediremos realizar la autocolectación de hisopado anal, muestras de orina o hisopado vaginal según corresponda, para la detección de infección por clamidia y gonorrea.
5. Le daremos los resultados de las pruebas de clamidia y gonorrea. Los otros exámenes de laboratorio que se realicen en este estudio (RPR, análisis de citoquinas y medición de células CD4) no cambiarán sus cuidados médicos, además estos resultados no estarán disponibles para usted o el personal del centro de salud.



APROBADO

07/04/20

Vargas, Silver K.

---

## CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

<i>Investigador :</i>	Silver K. Vargas Rivera
<i>Institución :</i>	Universidad Peruana Cayetano Heredia

6. Si los resultados de sus pruebas son positivos para clamidia y/o gonorrea se le brindará el tratamiento correspondiente.

### DURACIÓN DEL ESTUDIO

Para este estudio, la participación será por una semana. Le pediremos que regrese a la clínica una vez más; a los 7 días después de su primera visita para la colección de las muestras de sangre e hisopados y/o orina. Luego continuará con el cronograma de visitas del estudio Picasso en el que también se encuentra participando.

### RIESGOS:

Los riesgos y las molestias potenciales son mínimos y pueden incluir dolor leve y temporal en el brazo, causado por la aguja usada para la extracción de sangre. Un personal de salud entrenado obtendrá la sangre para minimizar cualquier molestia o dolor posible. Existe un riesgo mínimo de infección o moretón en el área de toma de muestra. La cantidad de sangre extraída es mínima y no causará ninguna alteración en su salud, el cuerpo rápidamente la reemplazará. Si tiene alguna complicación luego de la toma de muestra (dolor, moretón, hinchazón, calor), puede acercarse al personal del estudio en el centro en donde fue atendido para que puedan evaluarlo y brindarle la atención necesaria.

### BENEFICIOS:

Usted se beneficiará con los resultados de la detección de clamidia y gonorrea, que podrían ser de ayuda para sus cuidados médicos. Además, la investigación para nuevos marcadores de la sífilis podría ayudar al desarrollo de nuevas pruebas de diagnóstico que servirían para un mejor manejo de la enfermedad.

### COSTOS Y COMPENSACIÓN

Los costos de todos los exámenes serán cubiertos por el estudio y no le ocasionaran gasto alguno. No deberá pagar nada por participar en el estudio. Igualmente, no recibirá ningún incentivo económico ni de otra índole, solo una compensación por gastos de transporte (20 soles) por el tiempo invertido en la visita a los 7 días después del enrolamiento.

### CONFIDENCIALIDAD:

Nosotros guardaremos su información con códigos y no con nombres. La confidencialidad se mantendrá mediante el etiquetado de las muestras biológicas colectadas usando un código numérico. Sólo los investigadores tendrán acceso a las bases de datos. Si los resultados de este seguimiento son publicados, no se mostrara ninguna información que permita la identificación de las personas que participaron en este estudio.



APROBADO

FECHA DE APROBACION 07/04/20

## CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Investigador :	Silver K. Vargas Rivera
Institución :	Universidad Peruana Cayetano Heredia

### USO FUTURO DE INFORMACIÓN

Deseamos almacenar los datos recaudados en esta investigación por 10 años. Estos datos podrán ser usados para investigaciones futuras relacionadas a evaluar la inmunología de la sífilis, y la epidemiología de otras infecciones de transmisión sexual.

Estos datos almacenados no tendrán nombres ni otro dato personal, sólo serán identificables con códigos. Si no desea que los datos recaudados en esta investigación permanezcan almacenados ni utilizados posteriormente, aún puede seguir participando del estudio. En ese caso, terminada la investigación sus datos serán eliminados. Previamente al uso de sus datos en un futuro proyecto de investigación, ese proyecto contará con el permiso de un Comité Institucional de Ética en Investigación.

Autorizo a tener mis datos almacenados por 10 años para un uso futuro en otras investigaciones. (Después de este periodo de tiempo se eliminarán).

SI (  ) NO (  )

### USO FUTURO DE MUESTRAS

Deseamos conservar sus muestras (sangre, hisopados anales, orina o hisopos vaginales) almacenándolas por 10 años. Estas muestras serán usadas para investigaciones futuras como en la evaluación de nuevas pruebas diagnósticas de sífilis y otras infecciones de transmisión sexual.

Estas muestras almacenadas no tendrán nombres ni otro dato personal, sólo serán identificables con códigos.

Si no desea que sus muestras permanezcan almacenadas ni utilizadas posteriormente, aún puede seguir participando del estudio. En ese caso, terminada la investigación sus muestras serán eliminadas.

Previamente al uso de sus muestras en un futuro proyecto de investigación, ese proyecto contará con el permiso de un Comité Institucional de Ética en Investigación. Asimismo se aclara que ninguna de sus muestras será usada para estudios genéticos.

Autorizo a tener mis muestras de sangre almacenadas por 10 años para un uso futuro en otras investigaciones. (Después de este periodo de tiempo se eliminarán).

SI (  ) NO (  )

Autorizo a tener mis muestras de orina almacenadas por 10 años para un uso futuro en otras investigaciones. (Después de este periodo de tiempo se eliminarán).

SI (  ) NO (  ) No aplica (  )

Autorizo a tener mis muestras de hisopado anal almacenadas por 10 años para un uso futuro en otras investigaciones. (Después de este periodo de tiempo se eliminarán).

SI (  ) NO (  )

Autorizo a tener mis muestras de hisopado vaginal almacenadas por 10 años para un uso futuro en otras investigaciones. (Después de este periodo de tiempo se eliminarán).

SI (  ) NO (  ) No aplica (  )



APROBADO

FECHA: 07/04/20

---

**CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN**

<b>Investigador :</b>	Silver K. Vargas Rivera
<b>Institución :</b>	Universidad Peruana Cayetano Heredia

**DERECHOS DEL PARTICIPANTE:**

Si decide participar en el estudio, puede retirarse de éste en cualquier momento, o no participar en una parte del estudio sin daño alguno. Si tiene alguna duda adicional, por favor pregunte al personal del estudio o llame a Silver Keith Vargas Rivera, al teléfono 319-0000 anexo 233267 o al [REDACTED].

Si tiene preguntas sobre los aspectos éticos del estudio, o cree que ha sido tratado injustamente puede contactar a la Dra. Frine Samalvides Cuba, presidenta del Comité Institucional de Ética en Investigación de la Universidad Peruana Cayetano Heredia al teléfono 01-3190000 anexo 201355 o al correo electrónico: [duict.cieth@oficinas-upch.pe](mailto:duict.cieth@oficinas-upch.pe)

Una copia de este consentimiento informado le será entregada.

**DECLARACIÓN Y/O CONSENTIMIENTO**

Acepto voluntariamente participar en este estudio, comprendo de las actividades en las que participaré si decido ingresar al estudio, también entiendo que puedo decidir no participar y que puedo retirarme del estudio en cualquier momento.

<b>Nombres y Apellidos Participante</b>	<b>Fecha y Hora</b>
<b>Nombres y Apellidos Testigo (si el participante es analfabeto)</b>	<b>Fecha y Hora</b>
<b>Nombres y Apellidos Investigador</b>	<b>Fecha y Hora</b>

**APROBADO**

F. APROBACIÓN 07/04/20