



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

JÚLIA FERREIRA PÓVOA BRAULE

**REVISÃO INTEGRATIVA SOBRE O USO DE PCR PARA DIAGNÓSTICO DE
SÍFILIS EM GESTANTES E RECÉM-NASCIDOS**

BRASÍLIA, 2022



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA - FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

JÚLIA FERREIRA PÓVOA BRAULE

**REVISÃO INTEGRATIVA SOBRE O USO DE PCR PARA DIAGNÓSTICO DE
SÍFILIS EM GESTANTES E RECÉM-NASCIDOS**

Monografia de Conclusão de Curso
apresentada como requisito parcial
para obtenção do grau de
Farmacêutico, na Universidade de
Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientadora: Profa. Dra. Carine Royer

Coorientadora: Profa. Dra. Izabel Cristina Rodrigues da Silva

BRASÍLIA, 2022

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Fr Ferreira Póvoa Braule, Júlia
Revisão integrativa sobre o uso de PCR para diagnóstico
de sífilis em gestantes e recém-nascidos / Júlia Ferreira
Póvoa Braule; orientador Carine Royer; co-orientador Izabel
Cristina Rodrigues da Silva. -- Brasília, 2022.
41 p.

Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2022.

1. Sífilis congênita. 2. PCR. 3. Diagnóstico molecular. I.
Royer, Carine, orient. II. Cristina Rodrigues da Silva,
Izabel, co-orient. III. Título.

BRASÍLIA, 2022

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço aos meus pais, Rogério e Adriana, por me acompanharem e apoiarem não somente nesta fase universitária, mas durante toda esta confusa, porém, apaixonante aventura que é viver e se encontrar no mundo. Sou grata pelos momentos de alegria e carinho que comemoramos, mas, também, lembro dos dias com sintomas de angústia e tristeza, em que seus abraços foram o melhor remédio. Agradeço aos membros peludos de minha pequena família: Cookie, Luna e Bella, meus companheiros durante as inúmeras madrugadas de estudo. Nunca me senti sozinha graças às suas ronronadas e os seus latidos.

Aos meus amigos de infância (tantos que não caberiam neste parágrafo de agradecimento), que apesar da distância e da diferença de rotinas, mantiveram nossa amizade de 13 anos acesa. Vocês são a minha segunda família, onde falta parentesco por sangue, vocês compensam com carinho e amor.

Agradeço, também, à professora Carine que, mesmo depois de presenciar o quão ansiosa as três letrinhas “TCC” me deixavam, decidiu encarar esse desafio de frente comigo. Durante esse processo, não só presenciei sua extrema dedicação aos alunos, mas, também, seu lado doce e carinhoso, revelando ser uma verdadeira “professora-mãe”. Sempre disponível para atender nossas dúvidas e problemas com o trabalho, mas, principalmente, manteve seu coração aberto para ouvir nossas angústias e medos. Obrigada, professora Carine, nossos momentos foram breves, porém, especiais para mim.

Por fim, agradeço à UnB – Campus FCE, por tudo o que me proporcionou. Não só pela experiência acadêmica em si, mas, também, pela oportunidade de conhecer novos amigos e construir lembranças. No final desta jornada sei que carregarei esse campus e seus professores em meu coração.

EPIGRAFE

“Eu não tenho nenhum vestido além do que uso todo dia. Se você for gentil o suficiente para me presentear um, só peço que seja prático e escuro para que eu possa vesti-lo logo em seguida para ir para o laboratório.”

Marie Curie

LISTA DE TABELAS

FLUXOGRAMA 1: Fluxograma PRISMA	27
QUADRO 1: Informações bases dos textos	29
QUADRO 2: Informações sobre amostras e métodos	32
QUADRO 3: Resumo dos resultados dos artigos selecionados	34
GRÁFICO 1: Países de publicação dos artigos finais	28
GRÁFICO 2: Sintomas da sífilis congênita discutidas em texto	31

LISTA DE ABREVIATURAS

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

ELISA – Ensaio Imunoenzimático

FTA-abs – *Fluorescent Treponemal Antibody Absorption*

HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana

IST – Infecção sexualmente transmissível

PCR – Reação em cadeia da polimerase (do inglês: *Polymerase-chain Reaction*)

qPCR – PCR em tempo real

RPR - Reagina plasmática rápida (do inglês: *Rapid Plasma Reagin*)

SC – Sífilis congênita

TPPA – *Treponema pallidum Particle Agglutination*

VDRL – *Venereal Disease Research Laboratory*

RESUMO

A sífilis é uma infecção bacteriana sexualmente transmissível que preocupa a saúde pública. Seu agente etiológico, *Treponema pallidum*, possui extremo potencial para realizar infecção vertical. A rotina de diagnóstico atual é a realização de testes treponêmicos e não treponêmicos nas visitas pré-natais, porém, esses apresentam alta possibilidade de reações cruzadas e interferências provenientes do sistema imune do paciente, tornando a pesquisa por novos métodos mais sensível e específico atrativa. Com a premissa da pesquisa direta do agente etiológico em amostras, a técnica PCR apresenta boas expectativas no uso desse diagnóstico. **Objetivo:** realizar uma revisão integrativa que discuta sobre as informações e possíveis vantagens da utilização da técnica de Reação em cadeia da polimerase (PCR) na população de gestantes e recém-nascidos expostos à sífilis. **Método:** foi realizada uma pesquisa nos bancos de dados LILACS, BVS e ScienceDirect, buscando artigos primários que discutissem o uso da técnica PCR na população específica de gestantes e recém-nascidos. **Resultados:** a busca resultou em cinco artigos que concordavam com os pré-requisitos estabelecidos. Desses, dois (40%) discutiram sobre o diagnóstico molecular e o perfil epidemiológico da população, outros dois (40%), a pesquisa dos genes mais adequados para PCR, com um (20%), também incluindo os possíveis usos das variações do método PCR. Um (10%) artigo relatou o caso do uso do líquido amniótico para a detecção do gene 16S RNAr em uma criança. Por fim, dois (20%) realizaram comparação da técnica com as metodologias já disponíveis e utilizadas atualmente. Os artigos apresentaram diferentes amostras, métodos de PCR e perfis epidemiológicos da população, mas sempre discutindo os dois pontos de pesquisa dessa revisão integrativa. **Conclusão:** mesmo com seu potencial para a detecção do DNA treponêmico, principalmente em infantes, a técnica necessita de maiores estudos sobre a padronização de um bloco genético alvo e ajustes para a população alvo em maior risco de infecção.

Palavras-chave: Sífilis. Diagnóstico. PCR. Congênita.

ABSTRACT

Syphilis is a sexually transmitted infection of public health concern. Its etiologic agent, *Treponema pallidum*, has extreme potential to cause vertical infection between infected mothers and fetuses. The current diagnostic routine is to perform treponemal and non-treponemal tests in prenatal visits, but these have a high possibility of cross-reactions and interference from the patient's immune system, making the search for new more sensitive and specific methods attractive. With the premise of direct investigation of the etiologic agent in samples, the PCR technique presents good expectations in the use of this diagnosis. **Objective:** to carry out an integrative review that discusses the information and possible advantages of using the PCR technique in the population of pregnant women and newborns exposed to syphilis. **Method:** a search was carried out in the LILACS, VHL and ScienceDirect databases, seeking primary articles that discussed the use of the PCR technique in the specific population of pregnant women and newborns. **Results:** the search resulted in five articles that agreed with the established prerequisites. Of these, two (40%) discussed molecular diagnosis and the epidemiological profile of the population, another two (40%) researched the most suitable genes for PCR, with one (20%) also including the possible use of variations of the PCR method. One (10%) article reported the case of the use of amniotic fluid for the detection of the 16S rRNA gene in a child. Finally, two (20%) compared the technique with the methodologies already available and currently used. The articles presented different samples, PCR methods and epidemiological profiles of the population, but always discussing the two research points of this integrative review. **Conclusion:** Even with its potential for detecting treponemal DNA, especially in infants, the technique needs further studies on the standardization of a target genetic block and adjustments for the target population at higher risk of infection.

Keywords: Syphilis. Diagnosis. PCR. Congenital.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	11
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	16
2.1 Sífilis	16
2.2 Sífilis congênita.....	17
2.3 Diagnóstico direto.....	18
2.4 Testes não treponêmicos	18
2.5 Testes treponêmicos.....	19
2.6 Testes moleculares	21
2.7 PCR	21
2.8 PCR em tempo real (qPCR).....	22
2.9 PCR aninhada.....	22
3. JUSTIFICATIVA.....	23
4. OBJETIVO	24
5. METODOLOGIA	24
5.1 Tipo de estudo.....	24
5.2 Pergunta norteadora	24
5.3 Estratégia de busca	25
5.4 Critérios de inclusão e de exclusão	25
5.5 Pesquisa nos bancos de dados	26
6. RESULTADOS.....	26
7. DISCUSSÃO	35
8. DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

1. INTRODUÇÃO

Causada pela bactéria em formato de espiroqueta *Treponema pallidum*, evidências da infecção sífilis em humanos foram encontradas em ossadas datadas de períodos pré-colombianos (SILVA et al., 2020). Ela foi primeiramente nomeada e registrada em 1530, pelo médico italiano Girolamo Fracastoro, em seu poema “Syphilis sive morbus gallicus” (Sífilis ou Mal Francês), no qual é descrita a história de um pastor chamado Syphilus que foi amaldiçoado com a doença após desrespeitar o deus do Sol (NETO et al., 2009).

Várias teorias sobre as origens da doença são discutidas, uma delas é de que era uma doença endêmica nas Américas e as grandes navegações possibilitaram a sua expansão para os países colonos, contaminando variadas populações, culturas e protagonizando uma das maiores epidemias do século XV no continente europeu (SILVA et al., 2020).

A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível (IST) que apresentou um total de 650.258 indivíduos infectados em 2016 e um potencial de infecção com cerca de 72,8 indivíduos a cada 100.000 habitantes em 2019 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a) e um total de 650.258 casos de sífilis adquirida em 2016 (DOMINGUES et al., 2021). O *T.pallidum* possui capacidade de atravessar a barreira placentária, viabilizando uma infecção vertical, isto é, de mãe para filho. Estima-se que em 2019, a cada 1.000 nascidos vivos, 8,2 crianças apresentaram sífilis congênita e 20,8 gestantes apresentaram teste positivo para a sífilis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a). O aumento dos números de diagnósticos pode ter relação com a popularização de testes rápidos, assim como com o aumento da prática sexual sem camisinha e com a falta de disponibilidade do tratamento adequado em postos de saúde (DOMINGUES et al., 2021).

A maioria dos casos de sífilis são assintomáticos ou de leve sintomatologia, porém, ainda necessitam de tratamento devido à possibilidade de transmissão e a evolução para um quadro mais grave da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b). Quando adquirida sexualmente, é descrita como uma doença de sintomas sistêmicos e crônica, com diferentes estágios ao longo da vida do paciente não tratado adequadamente (SATYAPUTRA et

al., 2021).

Seu tratamento é relativamente fácil e barato, utilizando o fármaco benzilpenicilina benzatina para a maioria dos casos, variando de aplicações únicas de 2,4 milhões UI intramuscular em sífilis recentes, ao uso de 2,4 milhões de UI uma vez por semana por um período de 3 semanas, totalizando 7,2 milhões de UI para os pacientes em quadro tardio da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b). Em casos de alergia à penicilina, o tratamento alternativo é o uso de doxicilina por via oral, 100 mg de 15 a 30 dias, não é tão eficaz quanto o tratamento por penicilina, porém, é o recomendado para as exceções (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

A sífilis primária é caracterizada pela formação do cancro duro ou lesão primária de 3 a 4 semanas após o contato sexual. Ela é causada pela inflamação da mucosa no local da inoculação e é responsável pela secreção das espiroquetas infectantes (WILSON, 2016, p.271). O cancro é um sinal indolor que evolui para uma cura espontânea, levando à falsa sensação de cura ao paciente. Quando não tratada nesse período, a sífilis passa a ser secundária, com a disseminação da bactéria em diferentes sítios do organismo (LEVISON, 2016, p. 197). O paciente passa a apresentar erupções cutâneas chamadas pápulas ou exantemas, um sinal clínico clássico dessa segunda etapa da sífilis (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020a).

Caso o paciente ainda continue sem tratamento, ou ele tenha sido realizado de forma incorreta, o quadro irá evoluir para um estado de latência, chamado sífilis latente, que pode durar entre alguns anos ou, até mesmo, décadas. Por fim, a evolução da sífilis não tratada resulta em seu quadro terciário, em que órgãos afetados pelo treponema podem sofrer fibrose ou necrose, apresentando granulomas em pele, ossos e outros tecidos (LEVISON, 2016, p. 197).

A bactéria também é capaz de realizar sérios danos ao tecido do sistema nervoso central desde sua etapa secundária, gerando um quadro chamado neurosífilis (PATRICIA GARCÍA et al., 2011). Os sintomas abrangem desde quadros totalmente assintomáticos até vasculite, demência e meningite (BOOG et al., 2021). Quanto mais cedo o paciente for tratado para a sífilis, menores serão as chances de evoluir para um caso de neurosífilis (BOOG et

al., 2021).

Apesar de ambos os tipos de transmissão (sexual e vertical) serem preocupantes para a saúde pública, a sífilis congênita merece maior atenção em razão de sua gravidade ao feto (SILVA et al., 2020). O quadro congênito é devido à infecção que ocorre de forma vertical graças à facilidade da bactéria de atravessar a barreira placentária (AVELLEIRA; BOTTINO, 2006). Diferentemente da sífilis adquirida por via sexual, dividir a sífilis congênita em etapas é mais complexo em virtude de seu caráter hematogênico (WILSON, 2016, p.275). Estima-se que dois terços dos casos são assintomáticos (GAREL et al., 2019), mas em função da resposta inflamatória intensa, ela pode acometer ossos, fígado, intestino, cérebro, entre outros (AVELLEIRA; BOTTINO, 2006). Em situações mais extremas, principalmente na falta do tratamento durante a gestação, a sífilis congênita pode levar ao aborto, partos prematuros e natimortos (GOMEZ et al., 2013).

O risco de transmissão ao feto varia de acordo com o estágio da doença em que a gestante se encontra, sendo maior na primária e mais branda na sífilis latente. O cenário ideal é que a mãe portadora da doença seja diagnosticada e tratada o mais eficientemente possível, com benzilpenicilina benzatina, medicamento capaz de atravessar a barreira placentária (DOMINGUES et al., 2021). Em alguns casos, a criança pode manifestar os sintomas logo nas primeiras semanas de vida ou mais tardiamente, apresentando um quadro primeiramente assintomático, evoluindo para sintomas mais agravantes (WILSON, 2016, p.275). Graças a essa variedade de manifestações, um diagnóstico preciso e antecipado de crianças e gestantes, em conjunto com o rastreamento e tratamento adequado das mulheres acometidas pela doença é a melhor alternativa para evitar as consequências do quadro congênito (SALOOJEE et al., 2004). O tratamento medicamentoso para os diagnosticados é realizado com penicilina G cristalina ou penicilina G procaína (BRASIL, 2010).

Outra população vulnerável são os infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Existe uma prevalência maior de sífilis em pessoas HIV positivas em comparação às negativas, e maior preocupação em relação às consequências neurológicas e oculares, necessitando de

acompanhamento especializado caso apresentem sinais (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b).

Considerando todo o exposto, é de extrema importância realizar a precoce detecção da presença do *T. pallidum*. Com isso, várias técnicas podem ser utilizadas para o diagnóstico da sífilis, variando entre pesquisas diretas, testes imunológicos e moleculares. As chamadas técnicas de visualização direta são baseadas na visualização do treponema, seja em campo escuro ou utilizando anticorpos monoclonais no teste de anticorpos fluorescentes direto (AFD-TP). Esses são fundamentalmente utilizados durante o quadro da sífilis primária, para a sua realização é necessário que a amostra seja coletada diretamente da secreção de lesões suspeitas, impossibilitando o seu uso em outras etapas da doença que não apresentem esse sintoma. (TORTORA, 2017, p.760).

Por causa da demora na formação da resposta imune no início da infecção, testes como esse são de extrema importância para a triagem de casos recentes suspeitos por apresentarem melhor sensibilidade e especificidade nessa etapa em comparação aos testes sorológicos. (TORTORA, 2017, p.760). Além disso, ainda não é possível cultivar o *T. pallidum* em laboratórios, impossibilitando a sua detecção por meio de formação de cultura (TROVATO et al., 2021).

Os mais utilizados em casos não recentes de sífilis, ou seja, nas etapas secundárias, latente e terciária são os chamados testes imunológicos, sendo esses divididos em treponêmicos e não-treponêmicos. Para a triagem de pacientes, os métodos não treponêmicos são os mais utilizados no Brasil, mais especificamente o VDRL (*Veneral Disease Research Laboratory*), técnica que utiliza a interação entre o antígeno cardiolopina e anticorpos em diferentes títulos para definir a presença e o título da doença. Confirmado o resultado positivo, são realizados os testes treponêmicos, que utilizam a própria bactéria *T. pallidum*: *Treponema pallidum Hemagglutination* (TPHA), *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e *Fluorescent Treponemal Antibody-Absorption* (FTA-Abs). Os métodos são apenas qualitativos, possibilitando somente a detecção dos anticorpos antitreponêmicos (BRASIL, 2010).

Para um diagnóstico completo da sífilis, é necessário não apenas

considerar os resultados dos testes sorológicos, mas, também, o histórico, manifestações clínicas e investigação de possível exposição (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b). Ademais, o Ministério da Saúde recomenda que a seguinte rotina de exames imunológicos seja concluída em pacientes suspeitos da doença: deve-se realizar um teste de caráter treponêmico e outro não treponêmico, caso ambos resultem em positivo, o indivíduo está com o diagnóstico de sífilis confirmado (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b). Uma das dificuldades no diagnóstico da sífilis é a sua “cicatriz sorológica”, na qual o paciente tratado com êxito ainda apresenta reatividade em testes treponêmicos (BRASIL, 2010). Além do mais, devido à transferência dos anticorpos de mãe para bebê, os testes por VLDR em neonatos verdadeiramente positivos devem apresentar um título mais elevado em comparação ao da mãe. Esse fator pode acarretar resultados falso-positivos, necessitando do constante acompanhamento e testagem até que o título decresça (LEVISON, 2016, p.198).

Uma alternativa para o diagnóstico de sífilis, apesar de menos utilizados, são os chamados testes moleculares. Em geral, a identificação de agentes infecciosos é realizada pela cultura, possibilitando o estudo de suas morfologias e produtos metabólicos, porém, é um processo demorado e que carece de diversos recursos, além de infraestrutura adequada (COURA, 2013, p. 224). O treponema *T. pallidum* não é cultivável em laboratório, tornando essa metodologia de diagnóstico impossível.

Os testes de caráter molecular possibilitam identificar e isolar ácido desoxirribonucleico (DNA) ou ácido ribonucleico (RNA) característico de microrganismos em amostras clínicas, por meio de ampliação do material genético, poupando tempo e recursos que seriam utilizados na pesquisa para a produção do meio de cultura que possibilite seu crescimento. É uma técnica que possui alta sensibilidade, especificidade e reprodutibilidade em comparação aos métodos convencionais, além de estar apresentando cada vez mais potencial de uso com a evolução de novas tecnologias (COURA, 2013, p. 224).

Para a sífilis, a técnica de PCR (Polymerase Chain Reaction) é a mais utilizada, contudo, não de forma rotineira em virtude de sua complexibilidade

e custo em comparação aos métodos treponêmicos e não treponêmicos (BRASIL, 2010). Porém, graças aos avanços nos últimos anos, a técnica tem se tornado cada vez mais simples e barata, além da padronização dos processos de isolamento do material genético tornar o seu uso mais fácil para os usuários (COURA, 2013, p. 224).

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sífilis

A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível causada pela bactéria em formato de espiroqueta *Treponema pallidum*. Tal agente etiológico possui habilidade de atravessar a pele ou mucosa íntegra, infectando, inicialmente, o órgão genital do próximo hospedeiro (MADIGAN, 2016, p. 874). É uma doença com potencial de se tornar crônica caso não seja devidamente tratada, possuindo quatro estágios: sífilis recente, secundária, latente e terciária (WILSON, 2016, p.275).

Um sinal clássico de sífilis recente é o chamado cancro, uma lesão indolor causada pela entrada do treponema no tecido. Nessa lesão, é secretado um líquido altamente infeccioso e carregado de treponemas, mas após um período de 3 a 6 semanas a ulceração desaparece (TROVATO et al., 2021). O desaparecimento induz a falsa sensação de cura por parte do paciente, o que leva a não procurar atendimento médico, ocasionando o desenvolvimento da fase secundária da doença (WILSON, 2016, p.275).

A sífilis secundária apresenta sintomas mais aparentes e alarmantes ao paciente por meio da disseminação da bactéria pelo corpo. Algumas erupções cutâneas aparecem em outras regiões, como, por exemplo, face e mãos, deixando de apresentar apenas no local da infecção (MADIGAN, 2016, p. 874). Outros sintomas incluem mialgia, febre e dores de cabeça, entretanto, também são auto resolutivos (TROVATO et al., 2021).

Caso o paciente continue sem tratamento ou tenha sido inefetivo, ele entrará na etapa de sífilis latente, a qual não apresenta sinais clínicos, mas os exames laboratoriais ainda apresentam reatividade (DOMINGUES et al., 2021). Por fim, o paciente pode entrar no estágio terciário após muitos anos dessa fase de latência, apresentando os sintomas mais severos da doença: danos cardiovasculares, sintomas neurológicos aparentes e apresentação de

gomas em tecidos profundos e órgãos (NYATSANZA; TIPPLE, 2016).

2.2 Sífilis congênita

A sífilis congênita (SC) é a condição em que a gestante adquiriu ou já estava infectada com sífilis durante a gravidez e, devido ao alto potencial de infecção vertical, infecta também o feto. O estágio em que a mãe se encontra é diretamente relacionado com as chances de transmissão à criança, com casos de sífilis recente durante a gestação, apresentando maiores riscos em comparação com uma mãe em fase latente (DOMINGUES et al., 2021). Esse fato é explicado pela presença do treponema na corrente sanguínea materna, que decai com a evolução cronológica de doença. (DOMINGUES et al., 2021). Além disso, quanto mais cedo na gestação a mãe adquirir a doença, mais graves serão as consequências para o feto, podendo ocorrer abortos ou natimortos nos casos mais graves (TSIMIS; SHEFFIELD, 2017).

Caso o nascimento seja bem-sucedido, a criança pode se apresentar assintomática ou quanto com sinais imediatos da sífilis (DOMINGUES et al., 2021) e, se os sintomas se manifestarem dentro dos primeiros dois anos de vida, ser diagnosticada com um quadro de SC precoce (HERREMANS; KORTBEEK; NOTERMANS, 2010). Ela poderá apresentar manifestações que variam de lesões em mucosas, hepatite, hepatomegalia, linfadenopatia e anormalidades ósseas. Esses sintomas são identificados, geralmente, no período compreendido entre o nascimento até os três meses de vida (WILSON, 2016, p.275).

Em razão da alta taxa de casos assintomáticos, muitas crianças acabam evoluindo para quadros de SC tardia, em que após passar o limite de dois anos, (HERREMANS; KORTBEEK; NOTERMANS, 2010) ela começa a desenvolver os sintomas pela falta de tratamento com penicilina nos primeiros meses depois do nascimento (BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020b). Nesse estágio, os principais órgãos afetados são ossos, sistema nervoso central e olhos, apresentando sintomas como atrofia de nervos, cicatriz córnea, comprometimento intelectual, dentes de Hutchinson, “lâmina em sabre” (Sinal de Higoumenakis), entre outros (TROVATO et al., 2021).

O diagnóstico completo da SC é realizada por uma análise total dos sintomas clínicos, histórico de infecções, resultados de testes e investigação

sobre o perfil epidemiológico da população (DOMINGUES et al., 2021). Recém-nascidos de gestantes que apresentam suspeita ou confirmação de infecção por sífilis durante a gravidez, e a própria paciente, devem receber o mesmo teste sorológico após o nascimento, na qual será avaliada a confirmação de infecção vertical pela presença de títulos com pelo menos duas diluições maiores que a da mãe (DOMINGUES et al., 2021).

2.3 Diagnóstico direto

O diagnóstico da sífilis recente e secundária é relativamente simples, necessitando de uma amostra do líquido infectante, produzido nas lesões cutâneas, que possibilite a observação direta do treponema (AVELLEIRA; BOTTINO, 2006). A técnica mais utilizada é a do campo escuro, em que, com o auxílio de um microscópio do tipo campo escuro, é possível realizar a visualização direta da espiroqueta na amostra. Devido ao caráter frágil do *T. pallidum*, que sofre rápida deterioração após sua coleta, é um teste que deve ser realizado em um curto intervalo de tempo, quase de imediato depois da coleta (WILSON, 2016, p.280).

Apesar disso, um teste de campo escuro negativo não deve ser considerado como resposta final, e o teste pode sofrer de resultados falso-positivos, em virtude da existência de espiroquetas não patológicas, podendo gerar confusão no leitor responsável pela microscopia (WILSON, 2016, p.280). O teste também pode sofrer de falso-positivos devido à visualização de treponemas não patológicos, com características visuais parecidas com o *T. pallidum* (WILSON, 2016, p.275). Esse teste possui uma sensibilidade de 74-86% e uma alta especificidade de 97% (LOPES; FARIA, 2017).

2.4 Testes não treponêmicos

Além da visualização direta, também é possível utilizar testes sorológicos, sendo esses divididos de acordo com o tipo de antígeno utilizado para a detecção dos anticorpos (MORAES, 2013, p.236). Eles são classificados em testes treponêmicos e não treponêmicos, necessitando que o paciente já esteja há algum tempo infectado para que exista a resposta imune à doença, e esteja presente o suficiente para ser detectado nos testes

(SATYAPUTRA et al., 2021).

Os testes não treponêmicos se baseiam na detecção dos anticorpos contra o antígeno cardiolipina, componente presente em membranas celulares de diversos mamíferos, porém, também é constituinte dos lipídios do treponema *T. pallidum* (WILSON, 2016, p.280). Podem ser de caráter qualitativo e quantitativo, tendo em vista que algumas técnicas são utilizadas tanto para confirmação da infecção quanto para quantificar o título dos anticorpos (BRASIL, 2010). Os mais utilizados atualmente são o de reagente plasmático rápido (RPR) e o teste *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL). Ambos fazem uso da reação de floculação entre os anticorpos não específicos e o antígeno para determinar a diluição ou título que o paciente infectado apresenta (BRASIL, 2010). Os testes de VDRL e RDR possuem uma sensibilidade para a sífilis primária de, em média, 78% e 86%, respectivamente (LOPES; FARIAS, 2017).

Os testes não treponêmicos ajudam no acompanhamento da evolução do paciente, com os títulos tendendo a diminuir quando o tratamento está sendo eficiente ou aumentar em falhas terapêuticas (WILSON, 2016, p.281). Devido ao fenômeno de prozona, os testes podem sofrer de resultados falso-negativos, necessitando que amostras muito concentradas com anticorpos sejam diluídas (LEVINSON, 2016, 198). Além disso, por utilizar anticorpos não específicos, apresentam reações cruzadas com outras condições clínicas, como, por exemplo, lúpus, hepatite, hanseníase e malária (BRASIL, 2010).

2.5 Testes treponêmicos

Diferentemente dos testes não treponêmicos, os treponêmicos utilizam o próprio *T. pallidum* retirado do tecido de coelhos infectados ou antígenos particulares à bactéria (MORAES, 2013, p.236). O objetivo é identificar a doença de forma qualitativa, por meio da detecção de anticorpos IgM e IgG específicos contra a sífilis, porém, não podem ser utilizados para a avaliação da evolução terapêutica por permanecerem positivos mesmo após o tratamento, inclusive, por toda a vida do paciente (LOPES; FARIAS, 2017). Alguns exemplos de testes treponêmicos utilizados para o diagnóstico de sífilis no Brasil são o *Fluorescent treponemal antibody absorption* (FTA-abs), Micro-

hemaglutinação para *Treponema pallidum* (MHA-TP), imunoenzimáticos, ou mais conhecido como ELISA, e testes de quimioluminescência (BRASIL, 2010).

O teste treponêmico considerado padrão ouro é o FTA-abs, um método que utiliza da imunofluorescência indireta no qual os conjugados fluorescentes irão se ligar aos anticorpos da amostra do pacientes que reagirem ao antígeno treponêmico (BRASIL, 2010), emitindo a luz que possibilitará sua identificação. É um teste relativamente caro, que necessita de um microscópio de fluorescência, mas é eficiente em diagnósticos de sífilis tardia (WILSON, 2016, p.282). O FTA-abs apresenta uma sensibilidade de 72%, com uma especificidade de 87% (TROVATO et al., 2021).

Na reação de hemaglutinação indireta, o método de diagnóstico MHA-TP é efetuado usando hemácias contendo em sua superfície antígenos do *T. pallidum*, que ao entrar em contato com uma amostra positiva com anticorpos resultaram na hemaglutinação (BRASIL, 2010). É um teste relativamente simples e sua interpretação é realizada subjetivamente a olho nu, além de ser barato e apresentar uma boa sensibilidade de 86% e especificidade de 99%(TROVATO et al., 2021).

A utilização do teste treponêmico imunoenzimático ou ELISA para a sífilis é realizado com antígenos fixados em uma placa, na qual em cada cavidade serão introduzidas diferentes diluições com a amostra suspeita de conter os anticorpos anti-*T.pallidum*. Após essa etapa, é adicionada uma mistura cromógena, que ao interagir com o complexo antígeno-anticorpo emitirá uma coloração com absorvância legível pelo uso de um espectrofotômetro (MORAES; FERREIRA, 2013 p. 237). Os testes imunoenzimáticos possuem uma sensibilidade mínima de 77% em sífilis primária, 85% nos casos secundários e diminuindo para 64% no estágio latente (LOPES; FARIAS, 2017).

A última metodologia utilizada para a detecção da sífilis é a quimioluminescência, que possui uma metodologia muito semelhante aos testes imunoenzimáticos, em que o antígeno do treponema ligado a partículas formará complexos com os anticorpos presentes na amostra adquirida. Com a ligação formada, são introduzidos anticorpos anti-complexo com marcadores

que emitem um sinal quimioluminescente ao entrar em contato com o alvo (LOPES; FARIAS, 2017). Apresenta uma excelente sensibilidade nas sífilis secundária, latente e terciária, chegando em 100% (LOPES; FARIAS, 2017).

2.6 Testes moleculares

Graças às grandes descobertas moleculares, como, por exemplo, o projeto genoma humano, a compreensão da natureza do DNA proporcionou infinitas possibilidades para o seu uso, desde experimentos com clonagem até diagnóstico de doenças genéticas (BURTIS; BURTIS, 2016, p.901). A identificação de genes e marcadores biológicos como forma de diagnóstico para doenças infecciosas vem recebendo atenção nos últimos anos. Seu grande potencial em identificar ácidos nucleicos específicos dos antígenos podem aumentar as chances de resultados verdadeiramente positivos em razão da elevada especificidade (COURA, 2013, p. 224). É uma técnica que quebra a rotina inicial de cultura, identificação morfológica em conjunto com os metabólicos (COURA, 2013, p. 224), sendo uma alternativa perfeita para doenças em que o cultivo *in vitro* em meio laboratorial é limitada ou impossível, como no caso da sífilis.

Os diagnósticos moleculares, em geral, se baseiam na seleção, seguida de multiplicação ou amplificação dos ácidos nucleicos desejados, possibilitando, assim, o uso de técnicas que tornaram sua visualização, identificação e quantificação possível (BURTIS; BURTIS, 2016, p.901). Sua interpretação é mais complicada ao ser comparada aos outros métodos de diagnóstico convencionais, necessitando de profissionais mais treinados, além de poder sofrer de contaminação entre diferentes amostras positivas e negativas durante a ampliação caso o equipamento não seja propriamente manuseado, resultando em falso-positivos (COURA, 2013, p. 224).

2.7 PCR

A reação em cadeia da polimerase (PCR – do inglês *polymerase chain reaction*) é uma das técnicas de amplificação do DNA utilizada para o diagnóstico de diversas doenças. Ela faz uso dos fundamentos de replicação

naturais do material genético, adicionando DNA polimerases e primers específicos para indicar qual sequência deve ser ampliada (COURAS, 2013, p. 227).

Essa técnica possui três fases: desnaturação do DNA, alinhamento dos primers nas sequências a serem ampliadas e, por último, a DNA polimerase irá realizar a síntese da nova fita e multiplicação dos ácidos nucleicos escolhidos. Após uma média de 30 a 40 ciclos repetindo essas etapas, é possível efetuar técnicas de identificação das sequências de DNA, como, por exemplo, o uso de eletroforese em gel de agarose para a visualização (COURAS, 2013, p. 227).

2.8 PCR em tempo real (qPCR)

A chamada PCR em tempo real é uma variação quantitativa da técnica tradicional, na qual é possível acompanhar a amplificação do DNA simultaneamente a sua progressão (TSIMIS; SHEFFIELD, 2017). Isso é possível graças ao uso de sondas fluorescentes, responsáveis pela hidrólise de alvos na sequência genética, com a produção de luz sendo registrada e interpretada constantemente pelo aparelho utilizado (TSIMIS; SHEFFIELD, 2017). É uma alternativa que necessita de equipamentos mais complexos devido ao uso de fluorescência, porém, é capaz de realizar a amplificação de DNA e RNA na mesma amostra (TSIMIS; SHEFFIELD, 2017).

2.9 PCR aninhada

A PCR aninhada possui como principal característica o uso de dois pares de primers que possuem como alvo o mesmo locus genético. O primeiro par utiliza o processo tradicional da PCR, já o segundo é responsável pela amplificação dentro dessa sequência menor de DNA resultante da etapa anterior (MARMIROLI; MAESTRI, 2007). É uma técnica que busca diminuir reações de amplificações inespecíficas, resultando em maior sensibilidade e especificidade em comparação com o método tradicional da PCR (MARMIROLI; MAESTRI, 2007).

3. JUSTIFICATIVA

Um diagnóstico correto e rápido é a melhor ferramenta contra a SC, diminuindo as chances de que a mãe transmita a doença para a criança. Além disso, o *T.pallidum* pode infectar o feto muito antes que ele consiga desenvolver seus anticorpos fetais (AVELLEIRA; BOTTINO, 2006). Logo, a utilização de uma técnica com boa sensibilidade e especificidade, como a PCR, é o mais desejado para essa população. Alguns estudos demonstram uma sensibilidade maior que 80% e especificidade de 95% de PCR em sífilis primária com material das úlceras (GAREL et al., 2019).

O cenário atual para diagnóstico de sífilis segue a rotina de utilizar, primeiramente, um teste não treponêmico para a identificação e um treponêmico para a confirmação da infecção (ZANTO, 2010). Apesar de realizarem um trabalho satisfatório, os testes podem resultar em negativo nos casos de sífilis primária recente, e anticorpos de pacientes com histórico da doença podem persistir por muito tempo após a cura (SHUKALEK et al., 2021). Por isso, uma técnica com as características do PCR pode ser interessante para o diagnóstico.

Seu uso em diferentes estágios da doença ainda necessita de maiores estudos, porém, existe um grande potencial para a técnica devido a sua flexibilidade para amostras, como líquido amniótico e material placentário. Outro fator inerente à doença é a transmissão passiva de anticorpos maternos ao feto, que pode causar resultados falso-positivos em testes sorológicos realizados em recém-nascidos logo após o parto (SILVA, 2020), tornando a identificação da presença direta do agente extremamente atrativa. Além disso, a própria gravidez pode interferir no diagnóstico em ambos os testes treponêmicos e não-treponêmicos, resultando em falso-positivos (MORSLED; SINGHB, 2015).

Comparada com as técnicas de rotina, o PCR necessita de uma maior infraestrutura e poder monetário, mas em virtude da alta demanda da técnica durante a pandemia da COVID-19, existe a possibilidade de que se torne um método mais acessível, beneficiando o diagnóstico de outras doenças, como a sífilis. Com isso, uma investigação mais profunda sobre a utilização da

técnica em recém-nascidos e gestantes pode ser vantajosa.

4. OBJETIVO

O objetivo principal é realizar uma revisão integrativa sobre o diagnóstico da sífilis em gestantes e recém-nascidos utilizando a técnica PCR, buscando agrupar as vantagens e informações conhecidas sobre o uso desse método na população alvo deste estudo.

Em relação aos objetivos específicos:

- Identificar a sensibilidade e especificidade do teste PCR para os antígenos da sífilis na população alvo;
- Definir vantagens da técnica de PCR para o diagnóstico da população com suspeita de SC;
- Instigar um uso mais amplo da técnica PCR em casos de infecção vertical e quais blocos genéticos podem ser considerados para a rotina de diagnóstico da SC.

5. METODOLOGIA

5.1 Tipo de estudo

Como metodologia, o estudo seguiu o padrão de uma revisão integrativa. É um método considerado vantajoso para pesquisas na área da saúde por permitir a inclusão de diversos delineamentos de estudos, resultando em sínteses que poderão auxiliar na escolha da prática clínica e incentivar pesquisas mais profundas sobre o assunto (MENDES; SILVEIRA; GALVÃO, 2008).

5.2 Pergunta norteadora

O primeiro passo de toda revisão é a formulação da pergunta norteadora, uma ferramenta que auxiliará na determinação dos estudos a serem incluídos e excluídos da análise final. Para o presente trabalho, a pergunta formulada foi: “O uso do método de diagnóstico molecular PCR para sífilis é vantajoso para a população de gestantes e recém-nascidos?”.

5.3 Estratégia de busca

Com a ajuda da ferramenta *Medical Subjects Headings* (MeSH), os descritores e operadores booleanos escolhidos foram “*congenital*” AND *syphilis*” AND “*diagnosis*” AND “*pcr*”, limitando os estudos que discutiam a utilização da técnica para o diagnóstico da sífilis à população pré-determinada e método de diagnóstico escolhido. O próximo passo foi a escolha das bases de dados, sendo optadas pelas bases *ScienceDirect*, BVS e LILACS. Apenas o uso dos descritores específicos nas pesquisas não é o suficiente para encontrar uma resposta satisfatória à pergunta norteadora, deve-se, também, determinar os critérios de inclusão e exclusão dos artigos.

Utilizando a pergunta norteadora, foi possível realizar a triagem inicial dos textos providos pelos bancos de dados e a escolha dos critérios de inclusão ou exclusão. O primeiro passo foi a leitura dos títulos e resumos dos artigos, realizando uma triagem no qual artigos que apresentavam qualquer menção ao tema PCR e sífilis eram separados dos demais. Essa seleção, inicialmente ampla, possibilitou a escolha dos critérios de inclusão e de exclusão.

5.4 Critérios de inclusão e de exclusão

Para os critérios de inclusão, alguns detalhes foram determinados como essenciais para que ocorra sua inclusão na análise final: o artigo deve ter tido sua publicação dentro do período de 2010 a 2022; discutir sobre a população alvo e PCR, sendo aceita variação da técnica; disponível de forma íntegra, sem necessidade de compra; é um estudo de caráter primário; escrito em português, inglês ou espanhol e apresentar o tema de pesquisa condizente com a pergunta norteadora.

Já os critérios de exclusão de artigos, os seguintes limitadores foram escolhidos: não se apresenta no período de publicação determinado; não discute sobre a população alvo; escrito em uma língua não determinada nos critérios de inclusão; artigos de revisão bibliográfica ou que não sejam primários; não incluem o método PCR em sua discussão; não disponíveis para livre leitura; resumos de congressos ou apresentações, anexos de outros artigos; capítulos de livros e, por último, caso seja um texto repetido nas outras

bases de dados. Esses critérios não só ajudaram a filtrar o número de artigos a serem analisados, mas, também, a manter a discussão dentro do objetivo definido.

5.5 Pesquisa nos bancos de dados

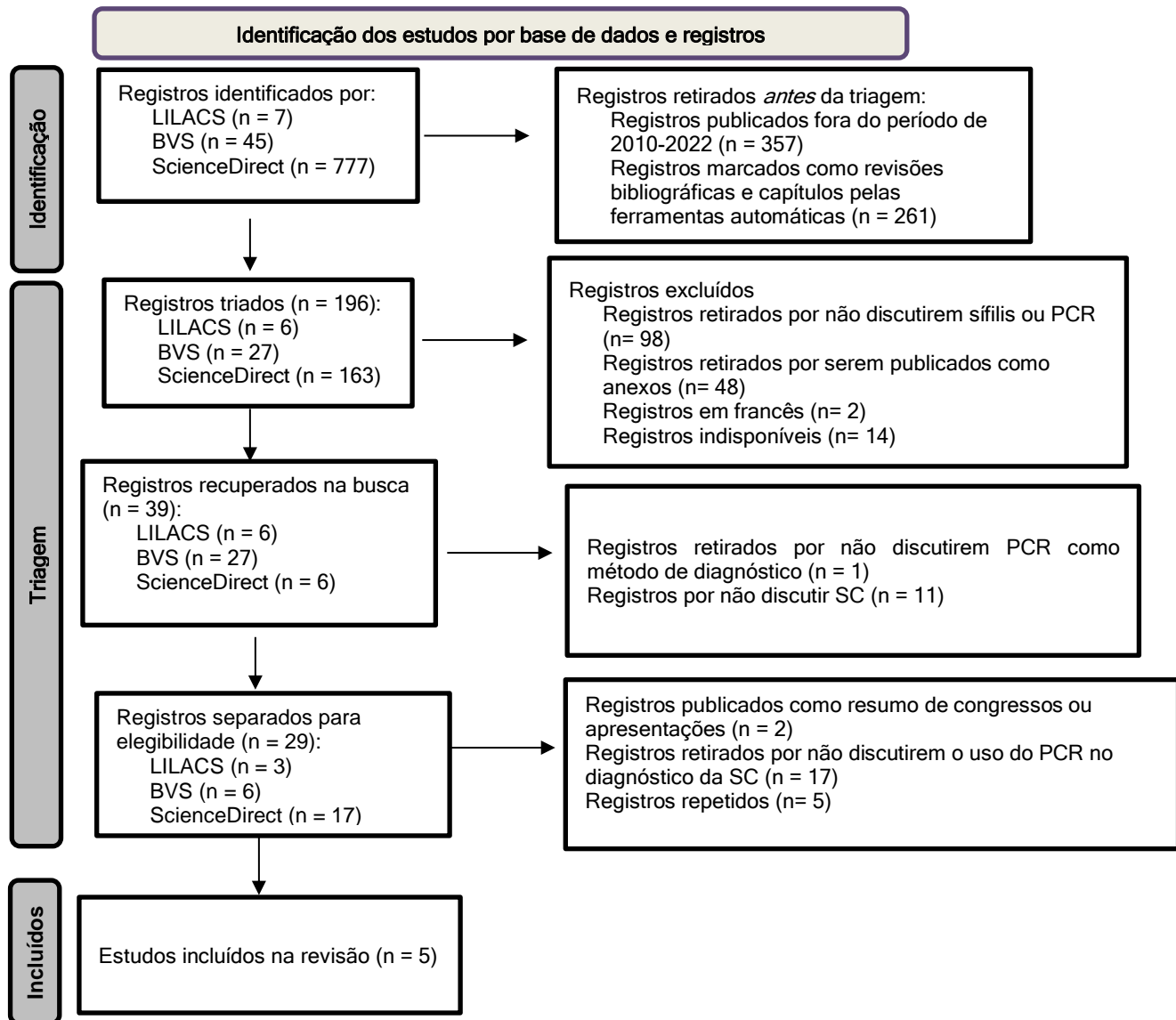
A utilização dos termos de inclusão e de exclusão diminuiu o número de artigos a serem analisados de forma significativa, porém, muitos resultados discutiam a técnica em cenários de pesquisa ou como uma ferramenta para obter material genético base para outras técnicas de diagnóstico. Para manter a discussão coesa com o objetivo, apenas artigos que explicitamente utilizaram a técnica molecular como método de diagnóstico foram adicionados à análise final. Textos que discutiam PCR para sífilis, mas que não discutiam para a população de recém-nascidos ou gestantes, foram analisados a fim de complementação teórica, contudo, não incluídos na escolha final.

6. RESULTADOS

A ferramenta escolhida para guiar este passo foi o *Preferred Reporting Items for Systematic Review and Meta-Analyses* ou PRISMA, uma lista de itens mínimos a serem seguidos que auxiliarão na avaliação dos artigos que realizam análise dos efeitos ligados à intervenção,

oferecendo também um fluxograma modelo para sumarizar o processo de triagem dos textos para revisões bibliográficas ou outros tipos de pesquisas (PRISMA, 2021). Nesse estudo, o fluxograma do processo pode ser observado abaixo.

Fluxograma 1: Fluxograma resumo do processo de triagem



Fonte: Elaborado pela autora (2022)

No início, havia o total de 829 artigos, desses, 618 foram retirados por ferramentas de filtro oferecidas diretamente pelos sites, excluindo artigos de revisão e capítulos de livros. Pela leitura dos títulos, dos 196 restantes, 98 artigos não discutiam sífilis ou PCR, 48 foram publicados como anexos complementares de outros artigos ou capítulos de livros, dois registros publicados em francês e 14 estavam indisponíveis para leitura gratuita ou com acesso restrito.

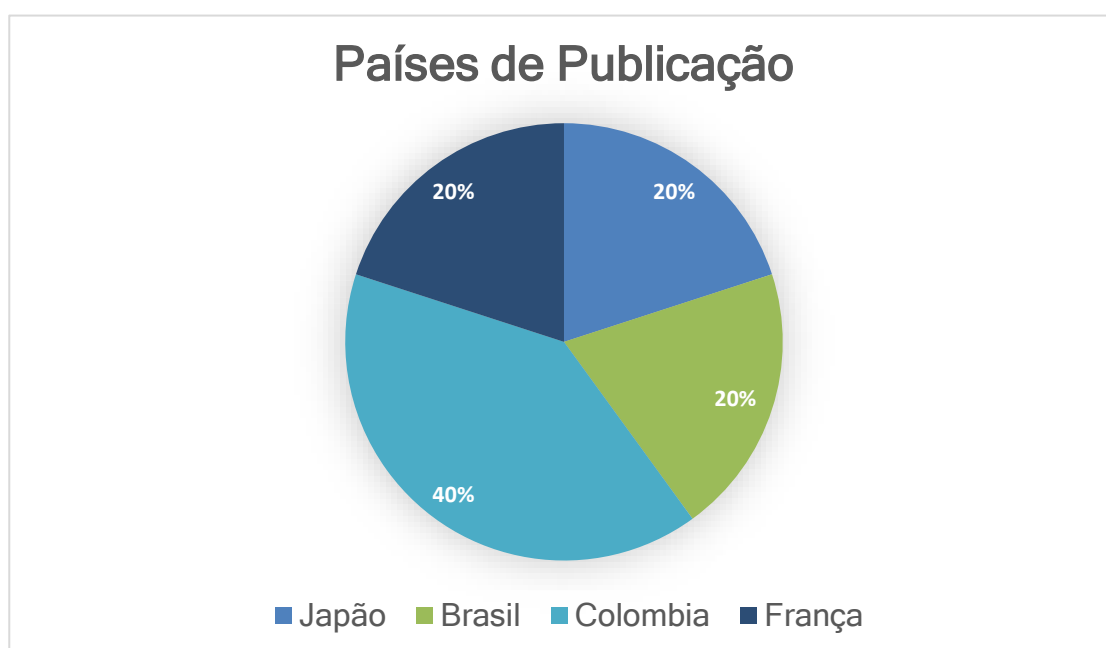
Em seguida, a leitura dos resumos possibilitou uma divisão mais

específica para o uso da sífilis na população de gestantes e recém-nascidos. Um texto foi excluído por discutir a técnica como objeto de pesquisa, sem população foco determinada. Outras 11 publicações não realizavam referência à população foco da revisão.

Na última etapa de triagem, os 29 textos resultantes foram lidos de forma completa, com o objetivo de aplicar os fatores de inclusão e de exclusão previamente estabelecidos. Assim, 17 textos que discutiam a sífilis e PCR, porém, em diferentes populações ou contextos de pesquisa, não incluindo seu impacto em gestantes ou recém-nascidos foram excluídos. 2 publicações se apresentaram inicialmente aptas à inclusão, mas foram descartadas por serem publicações resumo de conferências. Por último, outros cinco textos finais se encontravam em duplicidade entre os bancos de dados.

O resultado final da escolha dos artigos resultou em cinco artigos, publicados entre os anos de 2011 a 2022. Em relação ao país em que foram realizados, ocorreu uma diversidade de cenários econômicos, variando entre Japão, Colômbia, Brasil e França. Dois (40%) são de origem colombiana, com um grupo de pesquisadores semelhantes entre si (Figura 1).

Figura 1: Países de publicação dos artigos finais



Fonte: Elaborada pela autora (2022)

Os tipos de estudos também se diferenciam entre si, com a sua maioria

(40%) sendo publicações de artigos primários, adicionando fontes originais à discussão final sobre o método na população alvo. A escolha prévia de não incluir revisões sistemáticas gerou um impacto significativo nos tipos de estudos finais. Mais informações iniciais sobre os textos são encontradas no Quadro 1.

Quadro 1: Informações bases dos textos

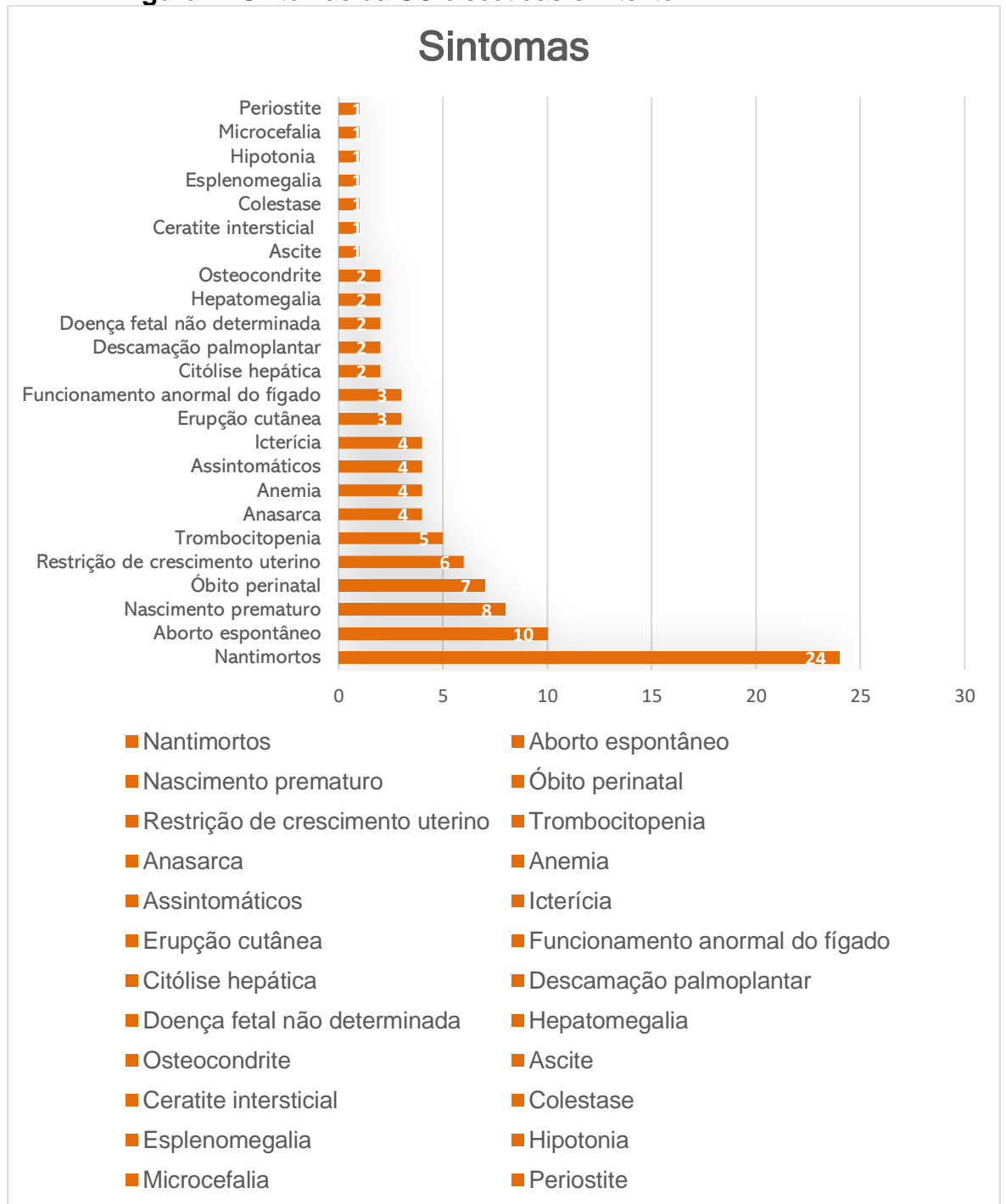
Autores	Título	País e ano	Tipo de estudo
Casal et al.	Molecular detection of <i>Treponema pallidum</i> sp. <i>pallidum</i> in blood samples of VDRL-seroreactive woman with lethal pregnancy outcomes: A restrospective observational study in Northern Brazil.	Brasil, 2011.	Artigo retrospectivo observacional
Pinilla B. et al.	Determinación de los genes, 16S DNAr, <i>polA</i> , y <i>TpN47</i> , en la detección de <i>Treponema pallidum</i> subsp. <i>pallidum</i> para el diagnóstico de sífilis congénita.	Colombia, 2015.	Estudo primário
Garel et al.	Congenital syphilis: A prospective study of 22 cases diagnosed by PCR	França, 2019.	Artigo prospectivo
Ono et al.	The first case of congenital syphilis diagnosed by 16S ribosome-RNA gene sequence analysis	Japão, 2022	Relato de Caso
Pinilla B. et al.	Detección de <i>Treponema pallidum</i> subespecie <i>pallidum</i> para el diagnóstico de sífilis congénita mediante reacción en cadena de la polimerasa anidada	Colombia, 2018	Estudo primário

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Em relação a recém-nascidos, apenas um (20%) dos artigos especificou a idade populacional, acompanhando o paciente desde o seu nascimento até um acompanhamento final após um mês para a construção do relato (ONO et al., 2022). Para a população de gestantes afetadas, dois (40%) artigos apresentaram uma média de 26,5 e 21,8 anos (GAREL et al., 2019; CASAL et al., 2011) entre as participantes. Devido ao caráter do tipo de artigo, o relato de caso (20%) apresentou uma única paciente diagnosticada com sífilis em seus 31 anos de idade (ONO et al., 2022).

A manifestação da doença ou suas consequências entre a população também foi destacada em alguns textos. Casal e colaboradores (2011) realizaram sua pesquisa em apenas gestações com resultados fatais, incluindo natimortos, abortos espontâneos e óbitos perinatais. Já Ono e colaboradores. (2022) e Garel e colaboradores. (2019) descreveram outros sintomas, entre eles trombopenia e microcefalia. A versão resumida de todos os sintomas ou consequências da SC abordados nos textos é encontrada na figura 2 abaixo, em que o eixo X descreve o número de recém-nascidos e o eixo Y o sintoma ou consequência da SC, com uma população total de 58 crianças.

Figura 2: Sintomas da SC discutidas em texto



Fonte:Elaborada pela autora (2022)

O caráter das amostras para a pesquisa da presença do *T.pallidum* foram variantes em cada artigo, com a utilização do sangue total em quatro (80%) (CASAL et al., 2011; GAREL et al., 2019; PINILLA et al., 2018) e líquido amniótico em um (20%) (ONO et al., 2022). Três (80%) estudos utilizaram amostras clínicas de pacientes com suspeita ou diagnóstico confirmado de sífilis

(CASAL et al., 2011; GAREL et al., 2019; PINILLA et al., 2018), enquanto um dos artigos (20%) optou por infectar amostras de sangue de cordão umbilical com cepas controles de *Nichol* de *T. pallidum* previamente cultivadas em testículos de carneiro, utilizando essas como amostras positivas e as não infectadas, confirmadas previamente ao estudo, em laboratório como negativas (PINILLA B. et al., 2015).

Quadro 2: Informações sobre amostras e método

Artigo	População e amostras	Método
Casal et al.	População: 36 mulheres sororeativas com resultados letais na gestação.	Estudo retrospectivo em mulheres com sororeação positiva em VLDR, utilizando amostras de sangue obtidas durante a triagem para a realização de PCR. Também foram realizados os testes de ELISA IgG e FTA-Abs IgM para comparação.
	Amostras: Soro e sangue total	
Pinilla B. et al. (2015)	População: 10 amostras de sangue provenientes de cordão umbilical.	Utilizou-se técnicas moleculares em amostras de cordão umbilical. Técnicas como PCR convencional, PCR aninhada e PCR em tempo real (qPCR) foram utilizadas para a determinação do melhor bloco genético para diagnóstico.
	Amostra: Sangue de cordão umbilical, infectado com cepa <i>Nichol</i> de <i>T. pallidum</i> .	

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Quadro 2 (Continuação): Informações sobre amostras e método

Artigo	População e amostras	Método
Ono et al.	População: Mulher de 31 anos diagnosticada com sífilis e recém-nascida com quadro de SC	O estudo realizou técnicas de amplificação genética da sequência genética 16S RNAr para diagnóstico da SC em líquido amniótico.
	Amostra: Líquido amniótico	
Garel et al.	População: 22 mães diagnosticadas com sífilis em conjunto com seus infantes.	Estudo prospectivo utilizando amostras proveniente de crianças com mães suspeitas de diagnóstico da sífilis que realizaram PCR como um dos testes. Os dados foram obtidos por ribossomal 16S treponêmico, utilizando a técnica PCR em amostra de líquido amniótico.
	Amostras: Placenta, fluido amniótico, cordão umbilical, sangue intracardíaco, sangue total, swabs oculares, swabs nasais e líquido cefalorraquidiano.	
Pinilla B. et al. (2018)	População: 23 amostras clínicas provenientes de crianças e mães com suspeita de sífilis.	Utilizando PCR convencional e aninhada, foram amplificados os genes polA, 16S DNAr e TpN47, confirmando a multiplicação dos genes TpN47 e polA por sequenciamento. Como forma de comparação, também foram realizadas as provas sorológicas de VDRL, RPR e TPPA.
	Amostra: 15 amostras de soro, sete de líquido cefalorraquidiano e um de sangue de cordão umbilical.	

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Cada texto buscou investigar um aspecto diferente da técnica sobre a SC, assim como o perfil da população vulnerável. Dois (40%) discutem sobre a

melhor escolha de alvo genético para a amplificação, demonstrando bons resultados principalmente para o gene protéico TpN47, o gene responsável pela produção de proteínas da membrana bacteriana e considerado o principal antígeno (PINILLA B. et al., 2015; PINILLA et al., 2018). Métodos não-treponêmicos e treponêmicos foram utilizados como ferramenta de comparação e para a determinação da sensibilidade e especificidade da técnica PCR (CASAL et al., 2011; PINILLA et al., 2018). Em relação à sensibilidade, Casal e colaboradores determinaram que o resultado para PCR na população de mães foi menor em comparação com os testes sorológicos ELISA, enquanto Pinilla e colaboradores encontraram uma concordância de 70% entre PCR, os testes sorológicos VDRL, RPR e TPPA. Porém, a especificidade encontrada foi de 100% em ambas as populações (CASAL et al., 2011; PINILLA B. et al., 2015).

O perfil da população que poderia se beneficiar da técnica foi registrado por dois (40%) artigos, com dados como idade e país de origem. Um ponto em comum foi a investigação por testes para investigação de ISTs durante a gestação e/ou antes do parto (CASAL et al., 2011; GAREL et al., 2019). Também foram documentadas as consequências da SC, considerando nascimento de nantimortos, presença de sintomas clínicos ou casos de crianças assintomáticas, porém, devidamente diagnosticadas a tempo de prevenir maiores sequelas (CASAL et al., 2011; GAREL et al., 2019).

Quadro 3: Resumo dos resultados dos artigos selecionados.

Artigo	Resultados
Casal et al.	O estudo resultou em positividade de 72,7% (24/33) do gene <i>poIA</i> na população de mulheres. Em relação a comparação com sorodiagnósticos, PCR e FTA-Abs apresentaram concordância em resultados de sífilis materna ativa.
Pinilla B. et al. (2015)	Foi possível realizar a amplificação dos três genes com todos os testes PCR, com as variações aninhadas e qPCR resultando em maior sensibilidade com o gene TpN47 quando comparado com os outros. Sugere-se o uso do gene TpN47 como bloco genético padrão.

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

Quadro 3 (Continuação): Resumo dos resultados dos artigos selecionados.

Artigo	Resultados
Garel et al.	Sete mães (31,8%) nascidas no exterior, 15 (68,2%) apresentaram problemas psicológicos e/ou sociais, oito (36,4%) não foram testadas para sífilis anteriormente ao parto, e 11 (50%) eram de originárias de territórios ou províncias francesas, ou de Paris. Seis infantes (27,3%) eram nantimortos e seis nasceram prematuramente, enquanto 15 crianças (68,2%) apresentaram sintomas clínicos condizentes com a SC.
Ono et al.	Sequenciamento com sucesso do RNA ribossomal 16S treponêmico, utilizando a técnica PCR em amostra de líquido amniótico para diagnóstico correto de SC.
Pinilla B. et al. (2018)	A sensibilidade para a PCR convencional foi de 52 pg e, para a PCR aninhada, de 0,52 pg. A especificidade com os iniciadores Tpn47 e polA foi de 100%; os resultados do sequenciamento mostraram uma identificação de 97% com o <i>T. pallidum</i> . Em 70% das amostras, os resultados das provas sorológicas e PCR aninhada concordaram.

Fonte: Elaborado pela autora (2022)

7. DISCUSSÃO

O objetivo principal desta revisão integrativa é agrupar informações e discutir as vantagens do diagnóstico molecular da sífilis em gestantes e recém-nascidos. Os textos escolhidos para análise apresentam tipos de estudos e focos de investigação diferentes, porém, buscam esclarecer como a técnica PCR pode ser uma boa opção para o diagnóstico de uma doença que apresenta grandes possibilidades de reações cruzadas em testes não-treponêmicos e não reatividade devido à baixa concentração de anticorpos em infecções recentes (SHUKALEK et al., 2021). Todos os artigos finais selecionados partem da premissa de que PCR apresenta características que, à priori, são interessantes para a população escolhida. Pinilla B. e companinha (2018) e Garel e companinha (2019) descrevem a técnica como altamente específica e sensível, características necessárias para evitar o tratamento desnecessário em casos falso-positivos e rápida detecção em casos verdadeiros.

Em relação a escolha da técnica PCR a ser utilizada, Pinilla e colaboradores

(2015) e Pinilla e colaboradores (2018) colocaram em teste as diferenças em sensibilidade e especificidade em comparação com a técnica considerada tradicional. As variações de PCR aninhada e qPCR se demonstraram mais sensíveis que a técnica molecular tradicional (PINILLA B. et al., 2015; PINILLA et al., 2018). Outro estudo demonstrou que, em comparação, a diferença de performance entre PCR aninhada e qPCR para o diagnóstico de sífilis é diminuta, apresentando sensibilidade e especificidade semelhantes em diferentes amostras (GHANSAH, 2012).

PCR é uma técnica, principalmente, limitada a fatores e escolhas pré-analíticas e analíticas, como, por exemplo, a determinação do gene treponêmico alvo a ser ampliado e a metodologia escolhida para a amplificação (PINILLA B. et al., 2015). Essas considerações de preparo também é concordante em outros estudos, em que foi encontrado um aumento significativo do número da amplificação do DNA por PCR aninhada em amostras de sangue centrifugado e urina de adultos com sífilis primária (WANG et al., 2022).

A escolha da amostra analisada é variável nos estudos, utilizando sangue de cordão umbilical, fluído amniótico, swabs nasais, líquido cefalorraquidiano e placenta, porém, apresentando boa amplificação com amostras de sangue total (CASAL et al., 2011; GAREL et al., 2019; ONO et al., 2022; PINILLA B. et al., 2015; PINILLA et al., 2018). Excreções, líquidos e amostra de tecidos em geral são uma fonte satisfatória de treponemas para amplificação, mas estudos demonstram que amostras provenientes de áreas das úlceras e cancros consequentes da sífilis apresentam um maior número de bactérias, facilitando sua extração (GAYET-AGERON et al., 2015; PINTO et al., 2017).

A ampla escolha de amostras pode ser considerada uma vantagem para o uso do PCR, flexibilizando as opções de coleta para se adaptar à situação da mãe e da criança. Ainda pode-se realizar o aprimoramento das etapas de preparo pré-analíticas de amostras sanguíneas, como, por exemplo, a realização de centrifugação e lise das hemácias demonstraram uma melhora na obtenção do DNA treponêmico (ZHU et al., 2018).

Além da escolha do melhor material para a pesquisa, também deve-se determinar qual faixa genética alvo é mais apropriada para a amplificação e identificação plena do DNA bacteriano. Quanto aos genes a serem amplificados para a detecção do patógeno, foram considerados os blocos *TpN47*, *16S DNAr* e *poIA* e os

resultados da pesquisa de Pinilla e companinha (2015) definiu o primeiro bloco genético como mais vantajoso, porém, o último apresenta baixa sensibilidade em comparação com os outros (PINILLA B. et al., 2015). Os resultados encontrados para o bloco *polA* são concordantes com outros estudos que também pesquisaram sua sensibilidade para sífilis (MARFIN et al., 2001; WANG et al., 2022). Marfin e colaboradores (2001) amplificou o gene em 13 de 32 amostras de sangue total provenientes de pacientes com sífilis, apresentando uma porcentagem de detecção na população do estudo de 41%. Os resultados nas provas de sensibilidade obtiveram resultados menores em comparação à especificidade (PINILLA B. et al., 2015). Apesar disso, estudos demonstram que a técnica possui bons parâmetros para a sensibilidade, em especial com o uso de qPCR, podendo chegar a resultados próximos de 80% (KOEK et al., 2006; LESLIE et al., 2007).

Para comprovar a possível utilidade do PCR para a rotina de diagnóstico no cenário clínico, a técnica foi comparada com os testes sorológicos disponíveis e mais utilizados, buscando uma comparação entre a sensibilidade dos métodos (CASAL et al., 2011; PINILLA et al., 2018). Os estudos demonstraram uma semelhança entre o PCR e FTA-Abs, porém, o método ELISA apresentou maior capacidade de detecção (CASAL et al., 2011).

Para Pinilla e colaboradores (2018), foram encontrados uma porcentagem de concordância de 70% entre os testes VRDL, RPR e TPPA com a técnica PCR aninhada, com uma amostra positiva para sorologia, mas negativa para PCR e cinco apresentando negatividade nos testes moleculares, entretanto, positividade em sorológicos. Cenários nos quais pacientes apresentam discordância em testes sorológicos negativos e PCR positivos podem ser explicados por casos de infecção recente, em que a resposta imune do indivíduo ainda não é o suficiente para positivar os testes sorológicos (PINTO et al., 2017).

Deve-se, também, levar em consideração o fenômeno de persistência dos anticorpos em até um ano ou mais após a cura, resultando em testes positivos para sorologia, porém, PCR negativo pela falta do treponema (HERREMANS; KORTBEEK; NOTERMANS, 2010).

Discordâncias entre resultados da comparação de sensibilidade entre os testes sorológicos e moleculares também é encontrado em outras análises, apresentando porcentagens semelhantes às encontradas nos textos. Shukalek e

colaboradores (2021) alcançou uma sensibilidade de 80,4% ao comparar a técnica PCR com diversos testes sorológicos, como, por exemplo, o VLDR, em sua revisão bibliográfica.

O perfil epidemiológico das gestantes e recém-nascidos também foi investigado para determinar quais populações seriam beneficiadas por uma rotina que incluísse o diagnóstico molecular da doença (CASAL et al., 2011). Garel e colaboradores (2019) apresentou uma população em que 2/3 das mulheres não tiveram acesso a um pleno acompanhamento médico durante a gravidez, com 1/3 possuindo origem de países em desenvolvimento. Para melhores chances de detecção da doença, estudos demonstraram que é essencial o acesso de gestantes à testagem durante o período pré-natal e antes do parto, logo, populações em situação de vulnerabilidade econômica e social são mais propensas a apresentarem SC como motivo de complicações na gravidez (RAC; REVELL; EPPES, 2017; TAVARES et al., 2022).

De acordo com os resultados, a França possui uma menor prevalência da doença na população geral em comparação com os outros territórios investigados, fortalecendo o fator socioeconômico da doença (GAREL et al., 2019). Estudos em populações com situações de vulnerabilidade econômica e social, onde há falta de acesso a serviços em saúde de forma efetiva, se demonstraram estatisticamente mais suscetíveis à prevalência de sífilis (RODRÍGUEZ-CERDEIRA; SILAMI-LOPES, 2012). Em relação a SC, as chances de transmissão vertical são maiores em gestantes de países em desenvolvimento e que não receberam acesso a consultas pré-natais rotineiras, resultando na ausência ou pouca frequência de testagens contra a sífilis (RAC; REVELL; EPPES, 2017; SALOOJEE et al., 2004). Característica também encontradas nos resultados epidemiológicos em textos dessa revisão.

O diagnóstico correto, mas em que há a falha terapêutica, também é outro fator para o aumento da taxa de infecção vertical, definindo, novamente, a importância do cuidado pré-natal no controle da doença (CASAL et al., 2011). O tratamento e o diagnóstico da mãe devem ocorrer cedo e de forma eficaz, pois estudos demonstraram que uma ação rápida contra a doença diminui as chances de maiores danos ao feto (LEAL et al., 2011; RAC; REVELL; EPPES, 2017; UKU et al., 2021). A PCR se apresentou como uma possível ferramenta de acompanhamento epidemiológico da doença em países em desenvolvimento, principalmente em situações de elevada

prevalência da doença na população de gestantes (CASAL et al., 2011).

Por fim, a pesquisa apresentou limitações: ao escolher apenas copilar informações, nenhuma ferramenta de análise da qualidade da evidência científica adquirida nos textos foi utilizado. Além disso, a retirada deliberada de estudos não primários, como meta-análises e revisões, também influenciou nas informações adquiridas sobre a técnica e população.

8. DISCUSSÃO

Nos últimos anos, o mundo presenciou uma pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, ou o novo Coronavírus, que trouxe a discussão sobre o diagnóstico por PCR para fora do cenário de pesquisas em saúde e prática clínica. Não é uma técnica atual, sua aprimoração e pesquisa vem sendo realizada há décadas antes da sua recente popularização pelo cenário contemporâneo. A técnica possui diversas características que, em teoria, poderiam levar a uma revolução no diagnóstico de diferentes enfermidades.

A SC é a condição em que a gestante adquiriu ou já estava infectada com sífilis durante a gravidez e, devido ao alto potencial de infecção vertical, infecta também o feto. Quanto mais cedo na gestação isso ocorrer, mais graves serão as consequências para o feto, podendo ocorrer abortos ou natimortos nos casos mais graves

Para a SC, a técnica PCR apresenta bons resultados de especificidade e sensibilidade, porém, são necessárias mais pesquisas para a definição de sequências genéticas padronizadas para o *T. pallidum*. Sua flexibilidade em relação à escolha da amostra utilizada pode ser considerada uma vantagem, tendo em mente que quanto menos invasiva for a coleta, melhor para a mãe e para a criança.

A SC necessita de um rápido e correto diagnóstico devido a urgência de tratamento em casos positivos. Quanto mais cedo na gestação a identificação ocorrer, menos chances de desenvolver sequelas o feto possui. As características presentes na técnica PCR podem sanar a necessidade do diagnóstico correto e quase imediato.

Em relação ao bloco genético, o gene *poIA* se apresentou como um bom candidato ao alvo de amplificação, sendo encontrados resultados promissores nos textos dessa revisão integrativa e outros não incluídos na pesquisa, porém, a

sequência TpN47 merece atenção em investigações futuras devido ao seu bom desempenho nos textos apresentados. É uma técnica que está diretamente ligada com a presença do treponema na amostra, logo, sua confiabilidade também dependerá de qual etapa de sífilis o paciente se encontra, podendo ser uma técnica mais favorável para o diagnóstico da criança recém-infectada verticalmente em comparação com a gestante, que pode se apresentar em estágio latente, com poucas espiroquetas em suas amostras.

Apesar da evolução do método, a necessidade de equipamentos mais específicos e insumos pode se tornar um fator limitante em seu uso de rotina, tendo em mente que as populações de risco se apresentam em situações econômicas e sociais precárias.

Por fim, é possível concluir que o uso da técnica PCR para o diagnóstico da infecção vertical é promissora, a maior presença do agente na amostra dos infantes e suas altas porcentagens de sensibilidade e especificidade são características atrativas para o uso do método na detecção de SC. Porém, ainda é um teste utilizado de forma complementar aos de sorodiagnóstico de rotina, que em comparação com os usados ultimamente, necessita de maiores adaptações para que seja plenamente aplicado no cenário clínico das populações em risco.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVELLEIRA, João Carlos Regazzi; BOTTINO, Giuliana. Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, [S. l.], v. 81, n. 2, p. 111–126, 2006. DOI: 10.1590/s0365-05962006000200002.

BOOG, Gustavo Henrique Pereira; LOPES, João Vitor Ziroldo; MAHLER, João Vitor; SOLTI, Marina; KAWAHARA, Lucas Tokio; TENG, Andre Kakinoki; MUNHOZ, João Victor Taba; LEVIN, Anna S. Diagnostic tools for neurosyphilis: a systematic review. **BMC Infectious Diseases**, [S. l.], v. 21, n. 1, p. 1–12, 2021. ISSN: 14712334. DOI: 10.1186/s12879-021-06264-8.

CASAL, Charliana Aragão Damasceno; SILVA, Mayra Oliveira Da; COSTA, Igor Brasil; ARAÚJO, Eliete da Cunha; CORVELO, Tereza Cristina de Oliveira. Molecular detection of *Treponema pallidum* sp. *pallidum* in blood samples of VDRL-seroreactive women with lethal pregnancy outcomes: a retrospective observational study in northern Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, [S. l.], v. 44, n. 4, p. 451–456, 2011. ISSN: 0037-8682. DOI: 10.1590/s0037-86822011005000047.

COURA, José R. Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias, 2ª edição. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2013. E-book. ISBN 978-85-277-2275-9. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/978-85-277-2275-9/>. Acesso em: 23 set. 2022.

DOMINGUES, Carmen Silvia Bruniera; DUARTE, Geraldo; PASSOS, Mauro Romero Leal; SZTAJNBOK, Denise Cardoso das Neves; MENEZES, Maria Luiza Bezerra. Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020: sífilis congênita e criança exposta à sífilis. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, [S. l.], v. 30, n. spe1, p. 1–15, 2021. ISSN: 1679-4974. ISBN: 1679497420210. DOI: 10.1590/s1679-4974202100005.esp1.

GAREL, B. et al. Congenital syphilis: A prospective study of 22 cases diagnosed by PCR. **Annales de Dermatologie et de Venerologie**, [S. l.], v. 146, n. 11, p. 696–703, 2019. ISSN: 01519638. DOI: 10.1016/j.annder.2019.08.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.annder.2019.08.007>.

GAYET-AGERON, Angèle; COMBESCURE, Christophe; LAUTENSCHLAGER, Stephan; NINET, Béatrice; PERNEGER, Thomas V. Comparison of diagnostic accuracy of PCR targeting the 47-kilodalton protein membrane gene of *treponema pallidum* and PCR targeting the DNA polymerase i gene: Systematic review and meta-analysis. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 53, n. 11, p. 3522–3529, 2015. ISSN: 1098660X. DOI: 10.1128/JCM.01619-15.

GHANSAH, Tomar. A novel strategy for modulation of MDSC to enhance cancer immunotherapy. **Oncolmmunology**, [S. l.], v. 1, n. 6, p. 984–985, 2012. ISSN: 21624011. DOI: 10.4161/onci.20201.

GOMEZ, Gabriela B.; KAMB, Mary L.; NEWMAN, Lori M.; MARK, Jennifer; BROUTET,

Nathalie; HAWKES, Sarah J. La sífilis materna no tratada y los resultados adversos en el embarazo: Revisión sistemática y metanálisis. **Bulletin of the World Health Organization**, [S. l.], v. 91, n. 3, p. 217–226, 2013. ISSN: 00429686. DOI: 10.2471/BLT.12.107623.

HERREMANS, T.; KORTBEEK, L.; NOTERMANS, D. W. A review of diagnostic tests for congenital syphilis in newborns. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, [S. l.], v. 29, n. 5, p. 495–501, 2010. ISSN: 09349723. ISBN: 1009601009008. DOI: 10.1007/s10096-010-0900-8.

KOEK, A. G.; BRUISTEN, S. M.; DIERDORP, M.; VAN DAM, A. P.; TEMPLETON, K. Specific and sensitive diagnosis of syphilis using a real-time PCR for *Treponema pallidum*. **Clinical Microbiology and Infection**, [S. l.], v. 12, n. 12, p. 1233–1236, 2006. ISSN: 14690691. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2006.01566.x. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01566.x>.

LEAL, E.; CAMPOS, S.; PARDO, I.; VÁZQUEZ-RODRÍGUEZ, M.; GARCÍA-JIMÉNEZ, E.; MORAL, E. Syphilis and pregnancy. **Clinica e Investigacion en Ginecologia y Obstetricia**, [S. l.], v. 38, n. 3, p. 114–117, 2011. ISSN: 15789349. DOI: 10.1016/j.gine.2009.10.006.

LESLIE, David E.; AZZATO, Franca; KARAPANAGIOTIDIS, Theo; LEYDON, Jennie; FYFE, Janet. Development of a real-time PCR assay to detect *Treponema pallidum* in clinical specimens and assessment of the assay's performance by comparison with serological testing. **Journal of Clinical Microbiology**, [S. l.], v. 45, n. 1, p. 93–96, 2007. ISSN: 00951137. DOI: 10.1128/JCM.01578-06.

MARFIN, Anthony A.; LIU, Hsi; SUTTON, Madeline Y.; STEINER, Bret; PILLAY, Allan; MARKOWITZ, Lauri E. Amplification of the DNA polymerase I gene of *Treponema pallidum* from whole blood of persons with syphilis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 163–166, 2001. ISSN: 07328893. DOI: 10.1016/S0732-8893(01)00275-9.

MARMIROLI, Nelson; MAESTRI, Elena. **Polymerase Chain Reaction (PCR)**. [s.l.] : Woodhead Publishing Limited, 2007. ISBN: 9780080468013. DOI: 10.1016/B978-044452843-8/50007-9. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-044452843-8/50007-9>.

MORSLED, Muhammad G.; SINGHB, Ameeta E. Recent trends in the serologic diagnosis of syphilis. **Clinical and Vaccine Immunology**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 137–143, 2015. ISSN: 1556679X. DOI: 10.1128/CVI.00681-14.

NYATSANZA, Farai; TIPPLE, Craig. Syphilis: Presentations in general medicine. **Clinical Medicine, Journal of the Royal College of Physicians of London**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 184–188, 2016. ISSN: 14734893. DOI: 10.7861/clinmedicine.16-2-184.

ONO, Yosuke; OKUMURA, Ryo; HATANAKA, Kanako C.; SATO, Yuichiro; OTA, Hajime; FUKUSHI, Yoshiyuki; WADA, Shinichiro; YAMADA, Hideto. The first case of congenital syphilis diagnosed by 16S ribosome-RNA gene sequence analysis. **Journal of Infection and Chemotherapy**, [S. l.], v. 28, n. 2, p. 295–298, 2022. ISSN:

14377780. DOI: 10.1016/j.jiac.2021.10.016. Disponible em:
<https://doi.org/10.1016/j.jiac.2021.10.016>.

PATRICIA GARCÍA, C. et al. Diagnóstico de la infección por *Treponema pallidum* en pacientes con sífilis temprana y neurosífilis mediante reacción de la polimerasa en cadena. **Revista Chilena de Infectología**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 310–315, 2011. ISSN: 07161018. DOI: 10.4067/S0716-10182011000500002.

PINILLA B., Gladys; CHAVARRO P, Bibiana; MORENO A., Natalia; NAVARRETE O., Jeannette; MUÑOZ M., Liliana. Determinación de los genes, 16S ADNr, *poIA*, y *TpN47*, en la detección de *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita. **Nova**, [S. l.], v. 13, n. 24, p. 17, 2015. ISSN: 1794-2470. DOI: 10.22490/24629448.1713.

PINILLA, Gladys; CAMPOS, Lesly; DURÁN, Andrea; NAVARRETE, Jeannette; MUÑOZ, Liliana. Detección de *Treponema pallidum* subespecie *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita mediante reacción en cadena de la polimerasa anidada. **Biomedica**, [S. l.], v. 38, n. 1, p. 128–35, 2018. ISSN: 01204157. DOI: 10.7705/biomedica.v38i0.3740.

PINTO, Miguel; ANTELO, Minia; FERREIRA, Rita; AZEVEDO, Jacinta; SANTO, Irene; BORREGO, Maria José; GOMES, João Paulo. A retrospective cross-sectional quantitative molecular approach in biological samples from patients with syphilis. **Microbial Pathogenesis**, [S. l.], v. 104, p. 296–302, 2017. ISSN: 10961208. DOI: 10.1016/j.micpath.2017.01.059.

RAC, Martha W. F.; REVELL, Paula A.; EPPES, Catherine S. Syphilis during pregnancy: a preventable threat to maternal-fetal health. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**, [S. l.], v. 216, n. 4, p. 352–363, 2017. ISSN: 10976868. DOI: 10.1016/j.ajog.2016.11.1052. Disponible em:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajog.2016.11.1052>.

RODRÍGUEZ-CERDEIRA, C.; SILAMI-LOPES, V. G. Congenital syphilis in the 21st century. **Actas Dermo-Sifiliográficas**, [S. l.], v. 103, n. 8, p. 679–693, 2012. ISSN: 15782190. DOI: 10.1016/j.adengl.2012.09.003. Disponible em:
<http://dx.doi.org/10.1016/j.adengl.2012.09.003>.

SALOOJEE, Haroon; VELAPHI, Sithembiso; GOGA, Yasmin; AFADAPA, Nike; STEEN, Richard; LINCETTO, Ornella. The prevention and management of congenital syphilis: An overview and recommendations. **Bulletin of the World Health Organization**, [S. l.], v. 82, n. 6, p. 424–430, 2004. ISSN: 00429686. DOI: 10.1590/S0042-96862004000600007.

SATYAPUTRA, Ferris; HENDRY, Stephanie; BRADDICK, Maxwell; SIVABALAN, Pirathaban; NORTON, Robert. The Laboratory Diagnosis of Syphilis. **Journal of clinical microbiology**, [S. l.], v. 59, n. 10, p. e0010021, 2021. ISSN: 1098660X. DOI: 10.1128/JCM.00100-21.

SHUKALEK, Caley Bryce; LEE, Bonita; FATHIMA, Sumana; CHU, Angel; FONSECA, Kevin; SOMAYAJI, Ranjani. Comparative Analysis of Molecular and Serologic Testing

for Primary Syphilis: A Population-Based Cohort Study. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [S. l.], v. 11, n. April, p. 1–7, 2021. ISSN: 22352988. DOI: 10.3389/fcimb.2021.579660.

SILVA, Regina Alexandre; ESTÉCIO, Tania Cristina Higino; BINHARDI, Mirella Fontana Batista; ASSIS, Jaqueline Calça; SANTOS, Cecília Cristina Marques Dos. Breve histórico da sífilis e evolução do diagnóstico laboratorial no período de 2005 a 2016. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, [S. l.], v. 79, p. 1–18, 2020. Disponível em: <https://periodicos.saude.sp.gov.br/index.php/RIAL/article/view/36028/34332>.

TAVARES, Carolina Santos Souza; GOMES DOS SANTOS OLIVEIRA, Sheila Jaqueline; DE GOIS-SANTOS, Vanessa Tavares; VAEZ, Andreia Centenaro; DE MENEZES, Max Oliveira; SANTOS, Hudson P.; SANTOS, Victor Santana; MARTINS-FILHO, Paulo Ricardo. Quality of life, depressive symptoms, anxiety, and sexual function in mothers of neonates with congenital syphilis in the Northeast Brazil: A cohort study. **The Lancet Regional Health - Americas**, [S. l.], v. 7, p. 100127, 2022. ISSN: 2667193X. DOI: 10.1016/j.lana.2021.100127. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lana.2021.100127>.

TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. Microbiologia. São Paulo: Grupo A, 2017. E-book. ISBN 9788582713549. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788582713549/>. Acesso em: 23 set. 2022.

TROVATO, Emanuele; TOGNETTI, Linda; CAMPOLI, Marco; CINOTTI, Elisa; RUBEGNI, Pietro. Syphilis Diagnosis and Treatment: State of The Art. **European Medical Journal**, [S. l.], n. March, 2021. DOI: 10.33590/emj/20-00221.

TSIMIS, Michael E.; SHEFFIELD, Jeanne S. Update on syphilis and pregnancy. **Birth Defects Research**, [S. l.], v. 109, n. 5, p. 347–352, 2017. ISSN: 24721727. DOI: 10.1002/bdra.23562.

UKU, Alison; ALBUJASIM, Zahraa; DWIVEDI, Tina; LADIPO, Zana; KONJE, Justin C. Syphilis in pregnancy: The impact of “the Great Imitator”. **European Journal of Obstetrics and Gynecology and Reproductive Biology**, [S. l.], v. 259, p. 207–210, 2021. ISSN: 18727654. DOI: 10.1016/j.ejogrb.2021.01.010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejogrb.2021.01.010>.

WANG, Cuini; ZHENG, Xin; GUAN, Zhifang; ZOU, Danyang; GU, Xin; LU, Haikong; SHI, Mei. Quantitative Detection of *Treponema pallidum* DNA by PCR. [S. l.], v. 10, n. 2, p. 1–8, 2022.

WILSON, Christopher B. Remington e Klein Doenças Infecciosas do Feto e do Recém-nascido. Rio de Janeiro: Grupo GEN, 2016. E-book. ISBN 9788595156739. Disponível em: <https://integrada.minhabiblioteca.com.br/#/books/9788595156739/>. Acesso em: 23 set. 2022.

ZANTO, Susanne Norris. Changing Algorithms in Syphilis Laboratory Diagnosis. **Clinical Microbiology Newsletter**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 59–64, 2010. ISSN: 01964399. DOI: 10.1016/j.clinmicnews.2010.03.006. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2010.03.006>.

ZHU, Xiao Zhen et al. Assessing effects of different processing procedures on the yield of *Treponema pallidum* DNA from blood. **Analytical Biochemistry**, [S. l.], v. 557, n. July, p. 91–96, 2018. ISSN: 10960309. DOI: 10.1016/j.ab.2018.07.019.