

Uso de técnicas moleculares de última generación para la detección de *Treponema pallidum* en sífilis gestacional y congénita: una contribución para la salud materno-infantil

Autores:

Narda María Olarte Escobar,
Ana M Bossa-Castro,
Zayda Lorena Corredor-Rozo,
Ismael Alberto Valderrama Márquez,
Deisy Abril, Luis Fuentes,
Ruth Liliana López Cruz,
Sharon Hassbleidy Ochoa Ramírez,
José Alejandro Mojica Madera,
Pedro José Ramos Cabrera,
Jorge Eliecer Castellanos Corredor,
Nidia Aydee Garay Bernal,
Javier Escobar-Perez.

1. Introducción, hipótesis y objetivo

La sífilis, una enfermedad infecciosa de gran relevancia en salud pública, es causada por la bacteria *Treponema pallidum* subespecie *pallidum* [1]. La sífilis gestacional (SG) corresponde a la infección por esta bacteria durante el embarazo, mientras que la sífilis congénita (SC) se refiere a la transmisión vertical de la madre al feto o neonato, ya sea durante la gestación o el parto. A pesar de su importancia, el diagnóstico de la sífilis sigue siendo complejo al basarse principalmente en técnicas serológicas indirectas que -aunque útiles- a menudo presentan un alto grado de incertidumbre para la toma de decisiones terapéuticas, principalmente en el neonato [2], lo cual representa actualmente un desafío, especialmente en el escenario de incremento en la incidencia de SC en varios países, incluido Colombia [1, 3]. En este contexto las técnicas moleculares de última generación, como la PCR digital (dPCR) y la secuenciación masiva, emergen como herramientas prometedoras dado que permiten la detección directa del ADN bacteriano, incluso en

concentraciones extremadamente bajas, lo que las hace particularmente valiosas para diagnosticar enfermedades causadas por patógenos de difícil cultivo *in vitro*, como es el caso de *T. pallidum* [4, 5]. Su alta sensibilidad ofrece un potencial inexplorado para optimizar el diagnóstico de SG y SC.

En este estudio se plantea como hipótesis que el uso de dPCR y la secuenciación masiva para la detección directa de *T. pallidum* en binomios madre-neonato es más sensible que los métodos serológicos actuales, lo que permite la identificación de casos de sífilis congénita o de compromiso orgánico que no son detectados por las pruebas estándar, optimizando el diagnóstico neonatal. Como objetivos se consideraron: 1. Comparar el desempeño dPCR y la secuenciación masiva con las pruebas serológicas, y 2. Correlacionar características clínicas de los neonatos con SC con los resultados de las pruebas moleculares.

2. Metodología

Se realizó un estudio observacional, prospectivo, transversal, en el cual se enrolaron 18 binomios madre-neonato diagnosticados con SG y SC, basándose en pruebas serológicas (treponémica rápida y VDRL) y los criterios establecidos por el Instituto Nacional de Salud colombiano [6]. El periodo de enrolamiento fue de julio de 2024 a abril de 2025. Todos los participantes fueron atendidos en la SubRed Sur en Bogotá. Previo consentimiento informado de la madre se tomaron muestras clínicas que incluyeron: sangre (materna y neonato), fragmento del cotiledón central de la placenta (obtenida con técnica estéril) y líquido cefalorraquídeo (LCR) del neonato. Se extrajo ADN total de todas las muestras obtenidas y se evaluó la presencia de *T. pallidum* mediante amplificación del gen *Tpp47* por medio de una dPCR [7]. El gen *Tpp47* fue seleccionado como diana por su alta conservación en la especie. Adicionalmente, se realizaron las respectivas librerías y proceso de secuenciación de las muestras con la plataforma Oxford Nanopore Technologies (ONT) utilizando *primers* específicos para *T. pallidum*.

3. Resultados

De las 18 gestantes enroladas, 17 (94 %) recibieron diagnóstico de SG en el tercer trimestre de gestación, y 10 (56 %) presentaron parto pretérmino. Se identificaron dos casos de óbito (sin lograr obtener sangre fetal) y una muerte neonatal temprana. La dPCR permitió detectar y cuantificar *T. pallidum* en las muestras clínicas, incluso a muy bajas concentraciones, obteniendo los siguientes rangos: 1,8-385,9 copias/μl en sangre materna, 1-20,3 copias/μl en sangre neonatal, 2,4-192,7 copias/μl en placenta y 1,4-42,8 copias/μl en LCR de neonato. En los tres casos de muerte perinatal, se presentó un rango de 6,7-35,9 copias/μl en sangre materna al momento del parto.

No se encontró correlación aparente entre el número de diluciones del VDRL y el número de copias/μl detectadas por dPCR. Se detectó *T. pallidum* en sangre de neonatos con VDRL no reactivos, algunos con hasta 19,7 copias/μl, sugiriendo la presencia de la bacteria en dichas muestras. Se analizaron 14 muestras de LCR de neonatos, de las cuales 13 tenían VDRL no reactivo: en siete LCR se identificó una alta concentración de *T. pallidum* (5,8-42,8 copias/μl); en uno de los binomios, se detectó un bajo número de copias en sangre materna (2,7 copias/μl) al momento del diagnóstico de SG y, por el contrario, se detectaron altas concentraciones en sangre (7,3 copias/μl) y LCR (20,5 copias/μl) del neonato a pesar de la aplicación de una dosis de penicilina benzatínica en la madre 34 días antes del nacimiento.

Por otro lado, la secuenciación masiva permitió confirmar la presencia de ADN bacteriano en las muestras con diferentes rangos de concentración, incluso en muestras con bajo número de copias por dPCR. No se realizaron réplicas experimentales de las muestras de LCR de neonatos dado el bajo volumen de muestra que se puede obtener de los pacientes. En nuestros resultados se identificaron casos con elevado número de copias de *T. pallidum* en las muestras clínicas, sin embargo, aún no se cuenta con puntos de corte estandarizados, lo que representa una limitante en el momento para la interpretación clínica.

4. Conclusiones

Los resultados muestran que la dPCR y la secuenciación masiva ONT tienen la capacidad de detectar y cuantificar *T. pallidum* en muestras clínicas de binomios madre-neonato al evidenciar la presencia de ADN bacteriano en sangre y LCR neonatales, incluso en pacientes con pruebas serológicas no reactivas. La detección de *T. pallidum* en LCR muestra el potencial de estas plataformas para el diagnóstico de neurosífilis congénita, una condición difícil de identificar con los métodos serológicos actuales.

Los hallazgos de esta investigación sientan las bases para el uso de la dPCR y la secuenciación masiva como herramientas complementarias a las pruebas serológicas para optimizar el diagnóstico de sífilis gestacional y congénita en Colombia.

Además, sugieren que estas técnicas podrían considerarse como alternativa para evaluar la efectividad de la penicilina benzatínica en la prevención de SC. Se espera que la información generada sea útil para la actualización nacional y regional de las guías de manejo para SG y SC.

Referencias bibliográficas

1. Gilmour LS, Walls T. Congenital syphilis: a review of global epidemiology. Clin Microbiol Rev. 2023;36(2):e0012622. doi: 10.1128/cmr.00126-22.
2. Ministerio de Salud y Protección Social, Fondo de Población de las Naciones Unidas, Instituto de Evaluación Tecnológica en Salud. Guía de práctica clínica (GPC) basada en la evidencia para la atención integral de la sífilis gestacional y congénita. Ministerio de Salud y Protección Social. Agosto de 2014. Disponible en: https://www.acin.org/images/guias/GPC_GuiaComple_SIFILIS_impresion_n.pdf
3. Instituto Nacional de Salud. Boletín Epidemiológico Semanal: Sífilis gestacional y congénita, comportamiento en Colombia - semanas epidemiológicas 01 a 38 de 2019 a 2024. Instituto Nacional de Salud. 2024;19(40). Disponible en: <https://doi.org/10.33610/23576189.2024.39>

4. Mirabile A, Sangiorgio G, Bonacci PG, Bivona D, Nicitra E, Bonomo C, Bongiorno D, Stefani S, Musso N. Advancing pathogen identification: the role of digital PCR in enhancing diagnostic power in different settings. *Diagnostics*. 2024;14(15): 1598. Disponible en: doi.org/10.3390/diagnostics14151598
5. Han D, Yu F, Zhang D, Hu J, Zhang X, Xiang D, Lou B, Chen Y, Zheng S. Molecular rapid diagnostic testing for bloodstream infections: Nanopore targeted sequencing with pathogen-specific primers. *J Infect*. Junio de 2024;88(6):106166. Doi: 10.1016/j.jinf.2024.106166
6. Instituto Nacional de Salud. Protocolo de vigilancia en salud pública: Sífilis gestacional y Sífilis congénita. Versión 07 [Internet]. 25 de marzo de 2024. Disponible en: <https://doi.org/10.33610/CWUE8188>
7. Li M, Lv Y, Cui D, Xu Y, Lin M, Zhang X, Wang Y, Shen C, Xie J. Development and clinical validation of a one-step pentaplex real-time reverse transcription PCR assay for detection of hepatitis virus B, C, E, *Treponema pallidum*, and a human housekeeping gene. *BMC Infect Dis*. 25 de mayo de 2023;23(1):358. Doi: 10.1186/s12879-023-08240-w.