

Detección molecular de *Treponema pallidum* mediante PCR del gen *tpn47* en sangre periférica de voluntarios atendidos en laboratorios clínicos de Culiacán

Molecular detection of *Treponema pallidum* by PCR of the *tpn47* gene in peripheral blood of volunteers treated in clinical laboratories of Culiacan

Navarro-Arias M.J.¹ , Sicairos-Félix J.² , Durán-Pérez S.A.¹ , Parra-Unda J. R.³ , Vázquez-Vega S.⁴  y Rendón-Maldonado J.G.^{1*} 

¹Laboratorio de Microscopía, Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

²Laboratorio de análisis clínicos de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

³Unidad de investigación en salud pública "Dra. Kaethe Wilms", Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Universidad Autónoma de Sinaloa, Av. Las Américas S/N, Ciudad Universitaria, Culiacán, Sinaloa, México, CP. 80030

⁴Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS, Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, Alcaldía Cuauhtémoc, C.P. 06720, Ciudad de México

RESUMEN

La sífilis, causada por *Treponema pallidum*, es una infección de transmisión sexual reemergente en México cuyo diagnóstico convencional basado en pruebas serológicas presenta limitaciones de sensibilidad en ciertas etapas clínicas, especialmente en sangre periférica debido a la baja y transitoria carga bacteriana. El objetivo de este estudio fue detectar ADN de *T. pallidum* mediante PCR convencional dirigida al gen *tpn47* en 74 muestras de sangre periférica de individuos de Sinaloa, en un estudio transversal con muestreo no probabilístico por conveniencia, cuyas muestras fueron obtenidas entre mayo y diciembre de 2023. Los participantes voluntarios fueron atendidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la FCQB-UAS y laboratorios privados de Culiacán. La extracción de ADN se realizó mediante el método DTAB-CTAB y se amplificó un fragmento de 210 pb del gen diana, utilizando el gen β -actina como control interno para confirmar la ausencia de inhibidores de PCR. Se detectó ADN de *T. pallidum* en 8 de 74 muestras (10.8 %; IC95 %: 4.8-20.5 %), con una positividad de 11.9 % (5/42) en hombres y 9.4 % (3/32) en mujeres; el 87.5 % de los casos positivos (7/8) se concentró en el grupo de 16 a 23 años, con una edad promedio de 21 años (DE ± 3.2), mientras que solo se identificó un caso en el grupo de 24 a 45 años. Se concluye que la PCR dirigida al gen *tpn47* es útil para la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica, y que la frecuencia observada en adultos jóvenes resalta la importancia de incorporar técnicas moleculares como complemento diagnóstico y herramienta de vigilancia epidemiológica de la sífilis en Sinaloa.

Palabras clave: Sífilis, *Treponema pallidum*, PCR, *tpn47*, diagnóstico molecular.

ABSTRACT

Syphilis, caused by *T. pallidum*, is a re-emerging sexually transmitted infection in Mexico, where conventional diagnosis based on serological tests presents sensitivity limitations in certain clinical stages, particularly in peripheral blood due to low and transient bacterial load. This study aimed to detect *T. pallidum* DNA by endpoint PCR targeting the *tpn47* gene in 74 peripheral blood samples from individuals in Sinaloa, in a cross-sectional study with non-probabilistic convenience sampling. Samples were obtained between May and December 2023 from volunteers attending the Clinical Analysis Laboratory of FCQB-UAS and private laboratories in Culiacán. DNA extraction was performed using the DTAB-CTAB method, and a 210 bp fragment of the target gene was amplified. β -actin was used as an internal control to confirm the absence of PCR inhibitors. *T. pallidum* DNA was detected in 8 of 74 samples (10.8 %; 95 % CI: 4.8-20.5 %), with positivity rates of 11.9 % (5/42) in men and 9.4 % (3/32) in women. Most positive cases (87.5 %, 7/8) were concentrated in the 16-23-year age group, with a mean age of 21 years (SD ± 3.2), while only one case was detected in the 24-45-year group. It is concluded that PCR targeting the *tpn47* gene is useful for detecting *T. pallidum* DNA in peripheral blood, and the observed frequency in young adults highlights the importance of incorporating molecular techniques as a diagnostic complement and epidemiological surveillance tool for syphilis in Sinaloa.

Keywords: Syphilis, *Treponema pallidum*, PCR, *tpn47*, molecular diagnosis.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) representan un importante problema de salud pública global debido a sus repercusiones sanitarias y socioeconómicas (Organización Mundial de la Salud, 2023). Cada año se estiman aproximadamente 374 millones de nuevos casos de ITS curables en el mundo, de los cuales cerca de 7.1 millones corresponden a sífilis, enfermedad causada por la espiroqueta *T. pallidum* subsp. *pallidum* (Organización Mundial de la Salud, 2023). La sífilis presenta una evolución clínica compleja y progresiva, que puede avanzar desde una fase primaria caracterizada por lesiones locales hasta etapas tardías asociadas con complicaciones sistémicas graves, como neurosífilis, sífilis cardiovascular y sífilis congénita, en ausencia de tratamiento oportuno (Peeling et al., 2023). Se ha descrito que la persistencia de la sífilis a nivel mundial está influenciada por factores sociales, conductuales y limitaciones en el acceso a los servicios de salud, lo que dificulta su control efectivo en poblaciones vulnerables (Hook & Peeling, 2004; Rowley et al., 2019).

T. pallidum es una espiroqueta de metabolismo anaerobio cuya membrana externa contiene diversas lipoproteínas inmunogénicas. Entre ellas destaca la proteína de 47 kDa codificada por el gen *tpn47*, ampliamente estudiada por su conservación entre cepas patógenas y su relevancia en la interacción bacteria-hospedero (Lee et al., 2000). Esta proteína se ha asociado con procesos de persistencia bacteriana y de respuesta inmunológica durante la infección (Norgard et al., 1986; Radolf et al., 1988). Por estas características, el gen se ha utilizado como blanco molecular relevante en estudios diagnósticos y epidemiológicos. Houston et al. (2022) también propusieron que la proteína *TpN47* podría participar en mecanismos vinculados a la persistencia bacteriana en el torrente sanguíneo durante las fases iniciales de la infección, lo que respalda su uso como blanco molecular en muestras de sangre periférica total.

El diagnóstico de la sífilis se basa tradicionalmente en pruebas serológicas clasificadas en no treponémicas, como VDRL (*Venereal Disease Research Laboratory*) y RPR (*Rapid Plasma Reagin*), así como en pruebas treponémicas, entre las que destacan FTA-ABS (Fluorescent Treponemal Antibody Absorption) y TPPA (*Treponema pallidum Particle Agglutination*) (Satyaputra et al., 2021). Estas pruebas presentan limitaciones importantes, ya que las pruebas no treponémicas pueden mostrar una sensibilidad variable dependiendo del estadio clínico de la infección y generar resultados falsos positivos en condiciones como el embarazo, enfermedades autoinmunes e infecciones virales (Gayet-Ageron et al., 2015; Soreng et al., 2014). Aunque las pruebas treponémicas presentan alta especificidad, no

permiten diferenciar entre una infección activa y una infección previa, debido a que los anticuerpos antitreponémicos pueden persistir durante toda la vida (Chen et al., 2022). La interpretación serológica puede complicarse en casos de coinfección con otras infecciones de transmisión sexual (ITS), lo que evidencia la necesidad de métodos diagnósticos complementarios con mayor precisión diagnóstica (Clement et al., 2014).

En México, la Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA2-2014, "Para la prevención y control de las infecciones de transmisión sexual" (Secretaría de Salud, 2015), regula el diagnóstico y la vigilancia epidemiológica de la sífilis. Esta norma indica que el diagnóstico debe realizarse combinando pruebas serológicas no treponémicas (VDRL o RPR) y treponémicas (FTA-ABS o TPPA), utilizando el algoritmo tradicional, que inicia con pruebas no treponémicas seguidas de la confirmación con pruebas treponémicas, o el algoritmo reverso, según la disponibilidad de recursos diagnósticos.

La NOM también establece el tamizaje obligatorio en mujeres embarazadas y la notificación inmediata de los casos identificados. Sin embargo, no incluye el uso rutinario de técnicas moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), como método confirmatorio, pese a su utilidad en etapas tempranas de la infección o ante resultados serológicos discordantes. La incorporación de métodos moleculares podría complementar las estrategias diagnósticas actuales y contribuir a una detección más oportuna, especialmente en poblaciones vulnerables o cuando la respuesta serológica es limitada. Diversos lineamientos internacionales han destacado el valor de las técnicas moleculares como apoyo al diagnóstico y a la vigilancia epidemiológica de la sífilis (Unemo et al., 2017).

Las técnicas moleculares permiten detectar directamente el material genético de *T. pallidum* en muestras biológicas. Entre ellas, la PCR se ha utilizado ampliamente para identificar el ADN del microorganismo en diversos tipos de muestras clínicas. En sangre periférica total, esta técnica ha sido empleada para identificar ADN bacteriano asociado con la diseminación hematológica del patógeno, incluso durante etapas tempranas de la infección o fases de latencia, cuando las pruebas serológicas pueden resultar indeterminadas o negativas (Grange et al., 2012; Shields et al., 2012).

Los genes 16S ARNr, *poIA* y *tpn47* de *T. pallidum* han sido evaluados como blancos moleculares; *tpn47* ha mostrado una adecuada especificidad diagnóstica debido a su conservación genética y baja homología con treponemas no patógenos, reduciendo la posibilidad de amplificación

inespecífica (Gayet-Ageron et al., 2015; Salazar et al., 2024). La PCR convencional dirigida a este gen ha sido utilizada en estudios epidemiológicos y de frecuencia poblacional debido a su reproducibilidad y accesibilidad metodológica (Mikhail et al., 2009; Orle et al., 1996; Palmer et al., 2003). En comparación con técnicas moleculares más complejas, presenta menores requerimientos de infraestructura y costos operativos, favoreciendo su implementación en regiones con recursos limitados (Gayet-Ageron et al., 2009; Palmer et al., 2003).

En México, la información epidemiológica sobre la infección por *T. pallidum* es limitada. Un estudio nacional de seroprevalencia reportó una prevalencia de anticuerpos antitreponémicos de 3.1% en adultos (Salazar et al., 2024). Aunque los registros oficiales documentan miles de casos nuevos de sífilis cada año, es probable que estas cifras subestimen la magnitud de la infección debido al subdiagnóstico y a las limitaciones asociadas con las pruebas serológicas rutinarias (Ibáñez-Cervantes et al., 2020). En la última década se ha reportado un aumento de casos de sífilis, especialmente en hombres y mujeres en edad reproductiva (Ibáñez-Cervantes et al., 2020; Rochel-Perez et al., 2024). Esta tendencia destaca la importancia de incorporar herramientas diagnósticas complementarias, incluidas técnicas moleculares en muestras de sangre periférica.

En el estado de Sinaloa, la información epidemiológica sobre la infección por *T. pallidum* es limitada, lo que dificulta determinar su magnitud y comportamiento en la población. Además, se carece de evidencia sobre el uso de métodos moleculares para su detección, especialmente en muestras de sangre periférica. Dada la importancia de la sífilis como problema de salud pública y la falta de datos en la región, este estudio evaluó la detección de ADN de *T. pallidum* mediante PCR convencional dirigida al gen *tpr47* en muestras de sangre periférica de voluntarios atendidos en laboratorios clínicos de Culiacán, Sinaloa.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DEL ESTUDIO Y POBLACIÓN

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, que incluyó 74 muestras de sangre periférica recolectadas en tubos con anticoagulante EDTA procedentes de participantes voluntarios de cualquier grupo etario. Los pacientes fueron atendidos en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa y en laboratorios privados de diagnóstico clínico de Culiacán,

Sinaloa, durante el periodo de mayo a diciembre de 2023. Para menores de edad, se obtuvo el consentimiento de los tutores y el asentimiento del participante. Se excluyeron muestras con volumen insuficiente o con condiciones inadecuadas para el análisis molecular. Debido al carácter anonimizado del estudio, no se contó con información sobre el historial médico, sospecha clínica, tratamiento previo o diagnóstico previo de sífilis. El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital de la Mujer, Culiacán, Sinaloa (Dictamen 20230213), y el manejo de los datos se realizó conforme a los principios de la Declaración de Helsinki.

Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó a partir de 3 mL de sangre periférica utilizando la metodología descrita por Gustincich et al., (1991), con modificaciones menores. Las muestras se sometieron a lisis eritrocitaria con buffer BLE (*Red Blood Cell Lysis Buffer*), seguida de centrifugación para recuperar la pastilla celular. Posteriormente, las células se lisaron con buffer DTAB al 8% (bromuro de dodeciltrimetilamonio) y el ADN se purificó mediante extracción con cloroformo y precipitación con CTAB (bromuro de cetiltrimetilamonio) y etanol absoluto. El ADN obtenido se lavó con etanol al 70%, se resuspendió en agua desionizada estéril y se almacenó a -20°C hasta su uso.

La concentración y pureza del ADN se determinaron mediante espectrofotometría en un NanoDrop™ 2000 *Spectrophotometer* (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, USA). La integridad del ADN se verificó mediante la metodología descrita por Kim et al. (2020), con la amplificación de un fragmento de ~600 pb del gen β -actina como control interno, utilizando los primers 5'-GCA CCA CAC CTT CTA CAA TG-3' y 5'-TGC TTG CTG ATC CAC ATC TG-3'.

PCR para *tpr47*

La amplificación del gen *tpr47* de *T. pallidum* subsp. *pallidum* se realizó siguiendo el protocolo establecido por Pinilla et al., (2015). Se emplearon un par de primers dirigidos al gen, cuya especificidad se confirmó previamente mediante análisis bioinformático utilizando la herramienta *Primer-BLAST* del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), empleando la secuencia (CP148145.1) del gen *tpr47* como referencia. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 20 μL , utilizando MgCl_2 3 mM, dNTPs 200 μM , 0.25 μM de cada oligonucleótido iniciador (*tpr47*-1sifF: 5'-GCATTGCTTAAGGCCGTTG-3' y *tpr47*-1sifR: 5'-AAGCAGTCGAGGGTGCAGTA-3'), 0.5 U de Taq ADN polimerasa (Promega®, Madison, WI, USA) y 100 ng de ADN

molde. La reacción se llevó a cabo en un termociclador Bio-Rad T100 *Thermal Cycler* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) con un programa de desnaturalización inicial a 94 °C por 5 min, seguido de 35 ciclos de 94 °C por 30 s, alineamiento a 62 °C por 30 s y extensión a 72 °C 30s, 72 °C 5 min, con un producto de amplificación esperado de 210 pb (Pinilla et al., 2015). Los productos de PCR se visualizaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 2 % teñido con GelRed® (Biotium, Fremont, CA, USA). En cada experimento se incluyó un control positivo, ADN previamente confirmado como positivo para *T. pallidum* mediante técnicas serológicas (TPPA/FTA-ABS, pruebas de referencia para el diagnóstico de sífilis), así como un control negativo con agua libre de nucleasas para descartar contaminación y amplificación inespecífica.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando *GraphPad Prism* versión 9. Las variables cuantitativas se presentaron como media ± desviación estándar (DE) y rango. La frecuencia de positividad molecular se estimó mediante intervalos de confianza del 95 % (IC95 %). Para las comparaciones entre grupos se utilizó la prueba exacta de Fisher, y las razones de prevalencia (RP) se calcularon con sus respectivos IC95%. Se consideró un valor de $p < 0.05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La integridad del ADN genómico extraído de las 74 muestras de sangre periférica se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa al 1%. Todas las muestras presentaron bandas íntegras y definidas, lo que indica una adecuada conservación del material genético. La cuantificación espectrofotométrica mediante NanoDrop mostró una concentración promedio de ADN de 310.66 ng/μL (DE: ±45.2 ng/μL) y una relación A260/280 de 1.87. Este valor se encuentra dentro del intervalo esperado para ADN de buena pureza (1.8-2.0), lo que sugiere baja contaminación proteica y calidad adecuada del material genético.

La integridad y capacidad de amplificación del ADN se verificó mediante la amplificación de un fragmento del gen constitutivo β-actina, lográndose amplificación en el 100% de las muestras analizadas (Figura 1A). Estos resultados sugieren la ausencia de inhibidores que puedan afectar la PCR y confirman la calidad del ADN utilizado. El incluir de controles internos en los ensayos moleculares nos permitió evaluar la calidad del ADN y reducir la posibilidad de resultados falsamente negativos asociados con fallas técnicas o inhibición de la reacción. En este estudio, la amplificación del

gen β-actina en todas las muestras fue consistente con una adecuada integridad del material genético. Dado que las muestras se recolectaron en tubos con EDTA, la posibilidad de interferencia asociada con anticoagulantes como la heparina fue minimizada, ya que se ha reportado que esta puede afectar la actividad de la ADN polimerasa y disminuir la eficiencia de amplificación (Yokota et al., 1999).

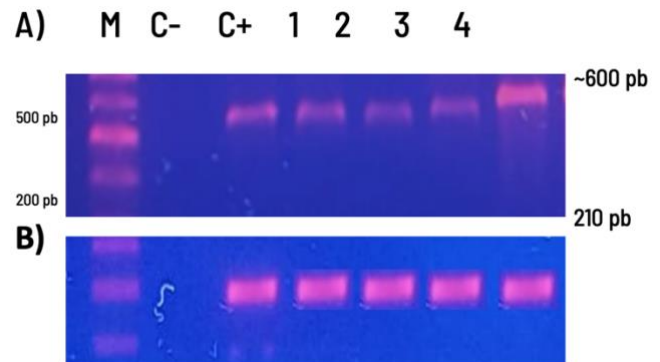


Figura 1. Identificación molecular de *T. pallidum*. A) Amplificación del gen β-actina (~600 pb). B) Amplificación del gen *tpn47* (210 pb) en muestras de sangre periférica. M: marcador 100 pb; C-: control negativo (ausencia de ADN) C+: Control positivo (ADN de *T. pallidum*); carriles 1-4: muestras positivas representativas de participantes voluntarios que acudieron a laboratorios de análisis clínicos. Electroforesis en gel de agarosa al 2 %, 120 V.

Los oligonucleótidos empleados para la amplificación del gen *tpn47* de *T. pallidum* fueron evaluados mediante análisis bioinformático utilizando la herramienta PCR in Silico *Simulation of Molecular Biology Experiments*, con la secuencia de referencia *T. pallidum* strain SS14-GFP (CP148145.1) disponible en *GenBank*. El análisis confirmó la alineación específica de los primers sobre la región blanco y la generación teórica de un fragmento de aproximadamente 210 pb en cepas patógenas. La especificidad de los oligonucleótidos se corroboró mediante BLASTn, sin identificarse alineamientos con secuencias humanas ni con otros microorganismos no relacionados, lo que respalda la especificidad teórica de la PCR utilizada (datos no mostrados).

La selección del gen *tpn47* como blanco molecular se fundamentó en la evidencia disponible en comparación con otros genes empleados para la detección de *T. pallidum*, como *poIA* (ADN polimerasa I) y *flaA* (flagelina). Diversos estudios han señalado que *tpn47* constituye una diana adecuada debido a su naturaleza de copia única y a la presencia de regiones conservadas que favorecen una hibridación eficiente de los primers.

Aunque *poIA* ha mostrado un buen desempeño diagnóstico en varios estudios (Liu et al., 2001), análisis de epidemiología molecular han descrito variabilidad genética entre cepas de *T. pallidum* que podría afectar el rendimiento analítico de algunos ensayos de amplificación (Čejková et al., 2015; Giacani & Lukehart, 2014). Además, *tpn47* presenta especificidad para *T. pallidum* subsp. *pallidum* y no amplifica fragmentos de treponemas no patógenos, lo que representa una ventaja frente a *flaA*, debido a la homología descrita entre este último y otras especies treponémicas (Centurion-Lara et al., 1997). La proteína *TpN47* codificada por este gen es inmunogénica y se expresa durante el curso de la infección, por lo que constituye un blanco molecular útil incluso en etapas tempranas de bacteriemia (Pillay et al., 1998). Adicionalmente, estudios previos han reportado sensibilidades elevadas para *tpn47* en muestras de lesiones primarias y un desempeño diagnóstico variable pero consistente en sangre periférica, superando en algunos estudios el rendimiento observado con otros marcadores moleculares (Gayet-Ageron et al., 2015; Marks et al., 2018). Esta robustez analítica es particularmente importante en el contexto de la sífilis, donde la carga bacteriana en sangre es típicamente baja y transitoria.

En el presente estudio se logró detectar la presencia de ADN de *T. pallidum* en 8 de las 74 muestras evaluadas, frecuencia de detección del 10.8 % (IC95 %: 4.8–20.5 %). Las muestras positivas presentaron el amplicón esperado de 210 pb (Figura 1B), consistente con la especificidad esperada del ensayo. Esta frecuencia es superior a la seroprevalencia reportada en donadores de sangre en México (0.64 %) (Mejía-Aguirre et al., 2025), y se encuentra dentro del rango descrito en otros estudios moleculares en sangre periférica, donde las tasas de detección varían entre el 2 % y el 15 % (Costa-Silva et al., 2018; Grange et al., 2012). La detección del 10.8 % sugiere la presencia de ADN treponémico circulante en la población estudiada. Dicha frecuencia fue superior a algunas seroprevalencias previamente reportadas en poblaciones mexicanas específicas, lo cual tiene implicaciones importantes para las estrategias de prevención y control. Esta discrepancia entre la detección molecular y la seroprevalencia reportada podría explicarse por diferencias metodológicas entre la detección molecular y serológica, así como por las características poblacionales incluidas en cada estudio. Algunos individuos podrían haber eliminado la infección espontáneamente o posterior al tratamiento sin desarrollar anticuerpos persistentes. Además, la población de donadores de sangre suele estar sometida a criterios de exclusión asociados con factores de riesgo, mientras que en el presente estudio se incluyó población general joven sin dicho filtro. Estos hallazgos

sugieren la utilidad potencial de la PCR como herramienta para la detección directa del microorganismo, particularmente en muestras de sangre periférica, donde la bacteriemia suele caracterizarse por baja carga bacteriana y presencia transitoria del patógeno en circulación (Grange et al., 2012). Sin embargo, debido a que el estudio se basó exclusivamente en detección molecular y no incluyó evaluación clínica ni pruebas serológicas, los resultados deben interpretarse como evidencia de ADN treponémico circulante y no como confirmación definitiva de infección activa.

En Latinoamérica, la detección molecular de *T. pallidum* ha sido reportada en varios países con frecuencias variables. En Brasil, estudios en la región amazónica han documentado la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica mediante técnicas de PCR, con frecuencias cercanas al 5–7 % en poblaciones comunitarias, utilizando principalmente genes diana como *poIA* (Avelino et al., 2023; Ferreira et al., 2014). En poblaciones de mayor vulnerabilidad como en el norte de Brasil se han reportado prevalencias de infección o exposición que pueden superar el 10 % mediante enfoques serológicos y moleculares combinados (Avelino et al., 2023). En Chile y otros países de la región, estudios en poblaciones clave han descrito frecuencias de infección o exposición treponémica superiores al 10 % en grupos de alto riesgo, lo cual es consistente con lo observado en nuestro estudio (Avelino et al., 2023). En Perú, investigaciones han utilizado PCR múltiple con genes como *tpn47* y *poIA*, evidenciando una mayor sensibilidad diagnóstica del primero para la detección de ADN de *T. pallidum* en sangre periférica (Pinilla et al., 2015). Estos hallazgos sugieren que el gen *tpn47* representa una diana molecular con buen desempeño para la detección de la bacteria en sangre periférica en distintos contextos latinoamericanos. En México, los estudios moleculares son limitados y se concentran principalmente en poblaciones de donadores de sangre, donde se ha reportado detección baja de ADN treponémico mediante *poIA* (Ferreira et al., 2014). Estas diferencias pueden atribuirse tanto al tipo de población estudiada como a la sensibilidad de los blancos moleculares utilizados. Estos resultados aportan evidencia sobre la detección molecular de *T. pallidum* en sangre periférica en el noroeste de México y amplían el conocimiento sobre la circulación del patógeno en la población joven de la región.

La incorporación de herramientas moleculares para detectar *T. pallidum* puede complementar los métodos diagnósticos actuales, especialmente en fases tempranas de la infección. En estas etapas, las pruebas serológicas pueden presentar sensibilidad limitada debido a títulos bajos o a la ausencia de anticuerpos detectables (Heymans et al., 2010; Peeling et al., 2023). Se ha

reportado que la PCR permite detectar ADN treponémico en sangre periférica incluso antes de la seroconversión en sífilis primaria (Flipse et al., 2023), lo que sugiere su utilidad para el diagnóstico temprano y la identificación de infecciones recientes en individuos asintomáticos. La detección directa del microorganismo, sin depender de la respuesta inmune del huésped, puede resultar útil en poblaciones inmunocomprometidas, en las que la producción de anticuerpos puede estar alterada o retrasada. La PCR dirigida al gen *tpn47* podría contribuir a la detección temprana y complementar los algoritmos diagnósticos convencionales.

En relación con las características sociodemográficas, la población de estudio estuvo conformada por 42 hombres (56.8 %) y 32 mujeres (43.2 %), con edades entre 16 y 45 años. La positividad para *T. pallidum* fue de 11.9 % en hombres y 9.4 % en mujeres, sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos (RP: 1.27; IC95 %: 0.33-4.92; p = 0.727, prueba exacta de Fisher) (Tabla 1). El intervalo de confianza amplio indica una baja precisión en la estimación de la razón de prevalencias. Esto puede relacionarse con el tamaño muestral limitado y el reducido número de casos positivos. Nuestros hallazgos son consistentes con la mayor incidencia de sífilis reportada en varones a nivel mundial (Centers for Disease Control and Prevention, 2022; Newman et al., 2015). En México, los sistemas de vigilancia epidemiológica han reportado consistentemente una razón hombre:mujer que varía entre 2:1 y 4:1 en los últimos años, lo cual respalda la dirección de la tendencia observada en nuestro estudio (Secretaría de Salud, 2015). Diversos factores biológicos, conductuales y sociales, incluyendo diferencias en las redes de transmisión sexual, prácticas sexuales de riesgo (particularmente sexo sin protección entre hombres que tienen sexo con hombres), menor acceso a servicios de salud preventiva y estigmatización, podrían contribuir a este patrón epidemiológico (Refugio & Klausner, 2018; Stoltey & Cohen, 2015; Tsuboi et al., 2021). Adicionalmente, se han reportado que podrían existir diferencias en la respuesta inmune entre sexos que influyan en la duración y magnitud de la espiroquetemia, aunque se requieren más investigaciones para confirmar esta hipótesis (Peeling et al., 2023).

La edad promedio de los individuos positivos fue de 21 años (DE: 3.2). La distribución por grupo etario mostró frecuencias de positividad del 11.8 % (4/34) en el grupo de 19-23 años, 11.1 % (3/27) en el grupo de 16-18 años y 7.7 % (1/13) en el grupo de 24-45 años (Tabla 2). Los grupos de 24-30 años y 31-45 años fueron fusionados debido al reducido tamaño muestral y a la ausencia de casos positivos en el grupo de mayor edad, lo que resultó en un

grupo combinado de 24-45 años con 13 participantes y un caso positivo. Los adolescentes y adultos jóvenes de 16 a 23 años representaron la mayor concentración de casos positivos con el 87.5% (7/8), lo que coincide con las tendencias epidemiológicas reportadas. Este patrón coincide con las tendencias epidemiológicas globales que muestran una mayor frecuencia de infecciones de transmisión sexual en adolescentes y adultos jóvenes (Centers for Disease Control and Prevention, 2022; Newman et al., 2015). El hecho de que solo se detectara un caso en el grupo de 24-45 años, aunque en parte explicable por el reducido tamaño muestral (n=13), también podría reflejar diferencias en las conductas de riesgo entre grupos etarios o una mayor conciencia sobre prácticas sexuales seguras en adultos de mayor edad. Factores como el inicio temprano de la actividad sexual, la multiplicidad de parejas y el uso inconsistente de preservativos han sido asociados previamente con una mayor incidencia de sífilis en poblaciones jóvenes (Dehne & Riedner, 2001; Organización Mundial de la Salud, 2023).

Tabla 1. Positividad para ADN de *T. pallidum* según sexo

Sexo	n	Positivos n (%)	RP (IC95%)	Valor p*
Hombres	42	5 (11.9)	1.27 (0.33-4.92)	0.727
Mujeres	32	3 (9.4)	Referencia	
Total	74	8 (10.8)		

*Prueba exacta de Fisher.

RP: Razón de Prevalencias (Prevalence Ratio).

IC95 %: Intervalo de confianza del 95 %.

Al comparar estos resultados con investigaciones previas, se observa variabilidad en las tasas de detección molecular de *T. pallidum*, atribuible principalmente a diferencias metodológicas y al tipo de muestra analizada. Los estudios realizados en lesiones sífilíticas han reportado sensibilidades superiores al 70-80 % (Costa-Silva et al., 2018; Koek et al., 2006). En contraste, la detección en sangre periférica es menor, lo cual probablemente se debe a la naturaleza transitoria de la bacteriemia (Grange et al., 2012). Específicamente, para el gen *tpn47*, Koek et al. (2006) reportaron una sensibilidad del 78% en muestras de lesiones primarias, mientras que en sangre periférica la detección fue inferior al 15%. Nuestro hallazgo de un 10.8% de positividad en sangre periférica se sitúa dentro de ese rango esperable. La frecuencia observada parece superior a la seroprevalencia reportada en donadores de sangre en México (0.64 %)

(Mejía-Aguirre et al., 2025) y también superior al 4.2 % encontrado en población general de Brasil (Costa-Silva et al., 2018). Estas diferencias pueden explicarse por las particularidades metodológicas entre estudios (PCR detecta ADN bacteriano circulante, mientras que las pruebas serológicas detectan respuesta inmunológica), así como por diferencias en la epidemiología local de sífilis, en los criterios de inclusión de participantes y en la sensibilidad de los ensayos moleculares empleados. Una revisión sistemática y metaanálisis publicada en 2011 evidenció que la detección del ADN bacteriano de *T. pallidum* en muestras de sangre es significativamente menos sensible que en lesiones cutáneas, con una variabilidad considerable según la técnica de PCR empleada y la población estudiada (Peng et al., 2011). Estudios más recientes, como la revisión de la literatura entre 1964 y 2017, confirman que las pruebas moleculares directas en sangre periférica presentan rendimientos heterogéneos, y que la elección de la diana genética (por ejemplo, genes como *tpn47* o *poIA*) influye en la sensibilidad, aunque no se reporta una frecuencia global de detección consolidada (Theel et al., 2020). Una revisión sistemática sobre biomarcadores en sífilis ha señalado que la PCR en sangre es una herramienta prometedora, aunque aún presenta limitaciones en su estandarización, lo que contribuye a la variabilidad en los porcentajes de detección reportados entre los estudios (Lorenz et al., 2023).

Las pruebas serológicas convencionales también presentan limitaciones, como falsos positivos en pruebas no treponémicas y dificultad para diferenciar entre infección activa y pasada en pruebas treponémicas (Satyaputra et al., 2021). En comparación, la PCR detecta directamente el material genético del microorganismo y aporta información complementaria en ciertos contextos clínicos. La persistencia del ADN treponémico en sangre puede disminuir tras el tratamiento, mientras que las pruebas serológicas pueden permanecer reactivas durante meses o años. En algunos estudios longitudinales, la negativización de la PCR se observó entre 2 y 4 semanas posteriores al tratamiento con penicilina, sugiriendo su utilidad como indicador temprano de respuesta terapéutica (Flipse et al., 2023). La combinación de métodos moleculares y serológicos podría mejorar la interpretación diagnóstica y apoyar la vigilancia epidemiológica de la sífilis (Treger et al., 2025).

Si bien este estudio se centró en la detección del gen *tpn47*, los resultados positivos permiten considerar análisis complementarios, como la secuenciación o genotipificación de cepas circulantes, así como la evaluación de mutaciones asociadas a resistencia antimicrobiana,

especialmente en el gen 23S rRNA relacionado con resistencia a macrólidos (Lukehart et al., 2004; Stamm, 2010). Estas estrategias podrían fortalecer la vigilancia molecular de la sífilis en México.

Tabla 2. Distribución de la positividad para ADN de *T. pallidum* por grupo etario

Grupo etario (años)	Muestras analizadas n (%)	Positivos n/N (%)	Positividad (%)
16-18	27 (36.5)	3/27	11.1
19-23	34 (45.9)	4/34	11.8
24-45*	13 (17.6)	1/13	7.7
Total	74 (100)	8/74	10.8

*Los grupos de 24-30 y 31-45 se fusionaron por reducido tamaño muestral y ausencia de positivos en el grupo de mayor edad. Prueba exacta de Fisher: $p > 0.05$ (sin diferencias estadísticamente significativas entre los grupos etarios).

Entre las limitaciones del estudio se encuentran el tamaño muestral reducido y no probabilístico, lo que limita la generalización de los resultados. La ausencia de información clínica y serológica impide distinguir entre infección activa, infección latente o bacteriemia transitoria. El diseño transversal no permite evaluar la evolución de los casos. Además, no se analizaron mutaciones asociadas a resistencia, lo que representa una línea futura de investigación. A pesar de estas limitaciones, el estudio aporta evidencia preliminar sobre la detección de ADN de *T. pallidum* en la población analizada y sugiere la utilidad de integrar herramientas moleculares y serológicas en futuros estudios con diseños longitudinales y muestras más representativas.

CONCLUSIONES

Se detectó ADN de *T. pallidum* en muestras de sangre periférica mediante PCR convencional dirigida al gen *tpn47*, con una positividad del 10.8% en la población analizada. Los resultados respaldan la utilidad potencial de este gen como blanco molecular para la detección directa del microorganismo en sangre periférica y representan una aproximación preliminar al diagnóstico molecular de sífilis en el estado de Sinaloa. No obstante, se requieren estudios con mayor número de muestras, integración de pruebas serológicas y evaluación clínica para validar estos hallazgos y definir el papel de las herramientas moleculares en la vigilancia epidemiológica y el diagnóstico complementario de la sífilis en México.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a los voluntarios que participaron en este estudio mediante la donación de muestras, así como a los laboratorios clínicos por su apoyo en la recolección de estas.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

APROBACIÓN DE COMITÉ DE INVESTIGACIÓN Y ÉTICA

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del Hospital de la Mujer, Culiacán, Sinaloa (Dictamen 202302-13).

FINANCIAMIENTO

El presente proyecto fue financiado con recursos propios del Laboratorio de Microscopía de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa.

REFERENCIAS

Avelino, M. E. de S., Silva, A. S. da, Figueiredo, L. G. C. P. de, Fonseca, R. R. de S., Menezes, C. R., Lima, S. S., Mendes, A. L., Silva, C. H. B. da, Reis, I. V. S. dos, Nunes, H. B. de F., Sequeira, B. J., & Machado, L. F. A. (2023). Exposure to *Treponema pallidum* Infection among Adolescent and Young Adult Women in Roraima, Amazon Region of Brazil. *Microorganisms*, 11(10).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11102382>

Centers for Disease Control and Prevention. (2022). Sexually transmitted disease surveillance 2021. U.S. Department of Health and Human Services. <https://stacks.cdc.gov/view/cdc/147167>

Čejková, D., Strouhal, M., Norris, S. J., Weinstock, G. M., & Šmajš, D. (2015). A Retrospective Study on Genetic Heterogeneity within *Treponema* Strains: Subpopulations Are Genetically Distinct in a Limited Number of Positions. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 9(10).
<https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004110>

Centurion-Lara, A., Castro, C., Shaffer, J. M., Van Voorhis, W. C., Marra, C. M., & Lukehart, S. A. (1997). Detection of *Treponema pallidum* by a sensitive reverse transcriptase PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 35(6). <https://doi.org/10.1128/jcm.35.6.1348-1352.1997>

Chen, W., Luo, H., Zeng, L., Pan, Y., Parr, J. B., Jiang, Y., Cunningham, C. H., Hawley, K. L., Radolf, J. D., Ke, W., Ou, J., Yang, J., Yang, B., & Zheng,

H. (2022). A suite of PCR-LwCas13a assays for detection and genotyping of *Treponema pallidum* in clinical samples. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-32250-y>

Clement, M. E., Okeke, N. L., & Hicks, C. B. (2014). Treatment of syphilis: A systematic review. *JAMA - Journal of the American Medical Association*, 312(18). <https://doi.org/10.1001/jama.2014.13259>

Costa-Silva, M., Coutinho, D., Sobrinho-Simões, J., Azevedo, F., & Lisboa, C. (2018). Cross-sectional study of *Treponema pallidum* PCR in diagnosis of primary and secondary syphilis. *International Journal of Dermatology*, 57(1). <https://doi.org/10.1111/ijd.13823>

Dehne, K. L., & Riedner, G. (2001). Sexually transmitted infections among adolescents: The need for adequate health services. *Reproductive Health Matters*, 9(17). [https://doi.org/10.1016/S0968-8080\(01\)90021-7](https://doi.org/10.1016/S0968-8080(01)90021-7)

Ferreira, S. C., De Almeida-Neto, C., Nishiya, A. S., Di-Lorenzo-Oliveira, C., Ferreira, J. E., Alencar, C. S., Levi, J. E., Salles, N. A., Mendrone-Junior, A., & Sabino, E. C. (2014). Prevalence of *Treponema pallidum* DNA among blood donors with two different serologic tests profiles for syphilis in São Paulo, Brazil. *Vox Sanguinis*, 106(4).
<https://doi.org/10.1111/vox.12111>

Flipse, J., Niekamp, A. M., Dirks, A., Dukers-Muijters, N. H. T. M., Hoebe, C. J. P. A., Wolfs, P., & van Loo, I. H. M. (2023). Refining Timely Diagnosis of Early Syphilis by Using *Treponema pallidum* PCR or IgM Immunoblotting Next to Conventional Serology for Syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*, 61(6). <https://doi.org/10.1128/jcm.00112-23>

Gayet-Ageron, A., Ninet, B., Toutous-Trellu, L., Lautenschlager, S., Furrer, H., Piguat, V., Schrenzel, J., & Hirschel, B. (2009). Assessment of a real-time PCR test to diagnose syphilis from diverse biological samples. *Sexually Transmitted Infections*, 85(4).
<https://doi.org/10.1136/sti.2008.034314>

Gayet-Ageron, A., Combescure, C., Lautenschlager, S., Ninet, B., & Perneger, T. V. (2015). 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. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 53, Number 11). <https://doi.org/10.1128/JCM.01619-15>

- Giacani, L., & Lukehart, S. A. (2014). The endemic treponematoses. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 27, Number 1). <https://doi.org/10.1128/CMR.00070-13>
- Grange, P. A., Gressier, L., Dion, P. L., Farhi, D., Benhaddou, N., Gerhardt, P., Morini, J. P., Deleuze, J., Pantoja, C., Bianchi, A., Lassau, F., Avril, M. F., Janier, M., & Dupina, N. (2012). Evaluation of a PCR test for detection of *Treponema pallidum* in swabs and blood. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(3). <https://doi.org/10.1128/JCM.00702-11>
- Gustincich, S., Manfioletti, G., Del Sal, G., Schneider, C., & Carninci, P. (1991). A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *BioTechniques*, 11(3), 298–302. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1931026/>
- Heymans, R., Van Der Helm, J. J., De Vries, H. J. C., Fennema, H. S. A., Coutinho, R. A., & Bruisten, S. M. (2010). Clinical value of *Treponema pallidum* real-time PCR for diagnosis of syphilis. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(2). <https://doi.org/10.1128/JCM.00720-09>
- Hook, E. W., & Peeling, R. W. (2004). Syphilis Control – A Continuing Challenge. *New England Journal of Medicine*, 351(2). <https://doi.org/10.1056/nejmp048126>
- Houston, S., Schovaneck, E., Conway, K. M. E., Mustafa, S., Gomez, A., Ramaswamy, R., Haimour, A., Boulanger, M. J., Reynolds, L. A., & Cameron, C. E. (2022). Identification and Functional Characterization of Peptides with Antimicrobial Activity From the Syphilis Spirochete, *Treponema pallidum*. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.888525>
- Ibáñez-Cervantes, G., León-García, G., Vargas-De-León, C., Castro-Escarpulli, G., Bandala, C., Sosa-Hernández, O., Mancilla-Ramírez, J., Rojas-Bernabé, A., Cureño-Díaz, M. A., Durán-Manuel, E. M., Cruz-Cruz, C., Bravata-Alcántara, J. C., Juárez-Ascencio, D., & Bello-López, J. M. (2020). Epidemiological behavior and current forecast of syphilis in Mexico: increase in male population. *Public Health*, 185. <https://doi.org/10.1016/j.puhe.2020.05.057>
- Koek, A. G., Bruisten, S. M., Dierdorp, M., van Dam, A. P., & Templeton, K. (2006). Specific and sensitive diagnosis of syphilis using a real-time PCR for *Treponema pallidum*. *Clinical Microbiology and Infection*, 12(12). <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2006.01566.x>
- Lee, K. H., Choi, H. J., Lee, M. G., & Lee, J. B. (2000). Virulent *Treponema pallidum* 47 kDa Antigen Regulates the Expression of Cell Adhesion Molecules and Binding of T-Lymphocytes to Cultured Human Dermal Microvascular Endothelial Cells. *Yonsei Medical Journal*, 41(5). <https://doi.org/10.3349/ymj.2000.41.5.623>
- Lin Kim, H., Wha Ha, A., & Kyoung Kim, W. (2020). Effect of saccharin on inflammation in 3T3-L1 adipocytes and the related mechanism. *Nutrition Research and Practice*, 14(2), 1976–1457. https://doi.org/10.4162/nrp.2020.14.2.109&domain=pdf&date_stamp=2020-04-01
- Liu, H., Rodes, B., Chen, C. Y., & Steiner, B. (2001). New tests for syphilis: Rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA polymerase I gene. *Journal of Clinical Microbiology*, 39(5). <https://doi.org/10.1128/JCM.39.5.1941-1946.2001>
- Lorenz, Z. W., Nijhar, S., Caufield-Noll, C., Ghanem, K. G., & Hamill, M. M. (2023). The Utility of Biomarkers in the Clinical Management of Syphilis: A Systematic Review. In *Sexually Transmitted Diseases* (Vol. 50, Number 8). <https://doi.org/10.1097/OLQ.0000000000001813>
- Lukehart, S. A., Godornes, C., Molini, B. J., Sonnett, P., Hopkins, S., Mulcahy, F., Engelman, J., Mitchell, S. J., Rompalo, A. M., Marra, C. M., & Klausner, J. D. (2004). Macrolide Resistance in *Treponema pallidum* in the United States and Ireland. *New England Journal of Medicine*, 351(2). <https://doi.org/10.1056/nejmoa040216>
- Marks, M., Lawrence, D., Kositz, C., & Mabey, D. (2018). Diagnostic performance of PCR assays for the diagnosis of neurosyphilis: A systematic review. In *Sexually Transmitted Infections* (Vol. 94, Number 8). <https://doi.org/10.1136/sextrans-2018-053666>
- Mejía-Aguirre, B., Luna-Vargas, A. K., & Benítez-Arvizu, G. (2025). Seroprevalencia de agentes infecciosos en donadores de sangre y sus componentes. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 63(2). <http://doi.org/10.5281/zenodo.14616969>
- Newman, L., Rowley, J., Hoorn, S. Vander, Wijesooriya, N. S., Unemo, M., Low, N., Stevens, G., Gottlieb, S., Kiarie, J., & Temmerman, M. (2015). Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic

- Review and Global Reporting. In *PLoS ONE* (Vol. 10, Number 12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143304>
- Norgard, M. V., Chamberlain, N. R., Swancutt, M. A., & Goldberg, M. S. (1986). Cloning and expression of the major 47-kilodalton surface immunogen of *Treponema pallidum* in *Escherichia coli*. *Infection and Immunity*, 54(2). <https://doi.org/10.1128/iai.54.2.500-506.1986>
- Organización Mundial de la Salud. (2023). Estadísticas globales. [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)).
- Palmer, H. M., Higgins, S. P., Herring, A. J., & Kingston, M. A. (2003). Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. *Sexually Transmitted Infections*, 79(6). <https://doi.org/10.1136/sti.79.6.479>
- Peeling, R. W., Mabey, D., Chen, X. S., & Garcia, P. J. (2023). Syphilis. In *The Lancet* (Vol. 402, Number 10398). [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(22\)02348-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(22)02348-0)
- Peng, R. R., Wang, A. L., Li, J., Tucker, J. D., Yin, Y. P., & Chen, X. S. (2011). Molecular typing of *Treponema pallidum*: A systematic review and meta-analysis. In *PLoS Neglected Tropical Diseases* (Vol. 5, Number 11). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0001273>
- Pillay, A., Liu, H., Chen, C. Y., Holloway, B., Willem Sturm, A., Steiner, B., & Morse, S. A. (1998). Molecular subtyping of *Treponema pallidum* subspecies *pallidum*. *Sexually Transmitted Diseases*, 25(8). <https://doi.org/10.1097/00007435-199809000-00004>
- Pinilla, G., Cuervo, B., Martínez, N., Navas, J., & Mora, L. (2015). Determinación de los genes 16S ADNr, *poIA* y *TpN47* en la detección de *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* para el diagnóstico de sífilis congénita. *NOVA*, 17-25. <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v13n24/v13n24a02.pdf>
- Radolf, J. D., Chamberlain, N. R., Clausell, A., & Norgard, M. V. (1988). Identification and localization of integral membrane proteins of virulent *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* by phase partitioning with the nonionic detergent Triton X-114. *Infection and Immunity*, 56(2). <https://doi.org/10.1128/iai.56.2.490-498.1988>
- Refugio, O. N., & Klausner, J. D. (2018). Syphilis incidence in men who have sex with men with human immunodeficiency virus comorbidity and the importance of integrating sexually transmitted infection prevention into HIV care. In *Expert Review of Anti-Infective Therapy* (Vol. 16, Number 4). <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1446828>
- Rochel-Perez, E. A., Martin-Dorantes, M. A., & Mendez-Dominguez, N. (2024). Estimation of the Incidence of Congenital Syphilis in Mexico Between 2019 and 2023. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.63913>
- Rowley, J., Hoorn, S. Vander, Korenromp, E., Low, N., Unemo, M., Abu-Raddad, L. J., Chico, R. M., Smolak, A., Newman, L., Gottlieb, S., Thwin, S. S., Broutet, N., & Taylor, M. M. (2019). Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: Global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bulletin of the World Health Organization*, 97(8). <https://doi.org/10.2471/BLT.18.228486>
- Salazar, J. C., Vargas-Cely, F., García-Luna, J. A., Ramirez, L. G., Bettin, E. B., Romero-Rosas, N., Amórtégui, M. F., Silva, S., Oviedo, O., Vigíl, J., La Vake, C. J., Galindo, X., Ramirez, J. D., Martínez-Valencia, A. J., Caimano, M. J., Hennelly, C. M., Aghakhanian, F., Anthony Moody, M., Seña, A. C., ... Redoll, J. D. (2024). *Treponema pallidum* genetic diversity and its implications for targeted vaccine development: A cross-sectional study of early syphilis cases in Southwestern Colombia. *PLoS ONE*, 19(7 July). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0307600>
- Satyaputra, F., Hendry, S., Braddick, M., Sivabalan, P., & Norton, R. (2021). The Laboratory Diagnosis of Syphilis. In *Journal of Clinical Microbiology* (Vol. 59, Number 10). <https://doi.org/10.1128/JCM.00100-21>
- Secretaría de Salud. (2015). Norma Oficial Mexicana NOM-039-SSA2-2014, para la prevención y control de las infecciones de transmisión sexual. México: Secretaría de Salud; 2015. <https://www.dof.gob.mx>
- Shields, M., Guy, R. J., Jeffreys, N. J., Finlayson, R. J., & Donovan, B. (2012). A longitudinal evaluation of *Treponema pallidum* PCR testing in early syphilis. *BMC Infectious Diseases*, 12. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-12-353>
- Soreng, K., Levy, R., & Fakile, Y. (2014). Serologic testing for syphilis: Benefits and challenges of a reverse algorithm. *Clinical Microbiology Newsletter*, 36(24). <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2014.12.001>

- Stamm, L. V. (2010). Global challenge of antibiotic-resistant *Treponema pallidum*. In *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (Vol. 54, Number 2). <https://doi.org/10.1128/AAC.01095-09>
- Stoltey, J. E., & Cohen, S. E. (2015). Syphilis transmission: A review of the current evidence. In *Sexual Health* (Vol. 12, Number 2). <https://doi.org/10.1071/SH14174>
- Theel, E. S., Katz, S. S., & Pillay, A. (2020). Molecular and Direct Detection Tests for *Treponema pallidum* Subspecies *pallidum*: A Review of the Literature, 1964–2017. *Clinical Infectious Diseases*, 71. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa176>
- Treger, R. S., Menza, T. W., Truong, T. T., & Lieberman, J. A. (2025). Advances in Syphilis Diagnostics to Address the 21st-Century Epidemic. In *Clinical Chemistry* (Vol. 71, Number 9). <https://doi.org/10.1093/clinchem/hvaf072>
- Tsuboi, M., Evans, J., Davies, E. P., Rowley, J., Korenromp, E. L., Clayton, T., Taylor, M. M., Mabey, D., & Chico, R. M. (2021). Prevalence of syphilis among men who have sex with men: a global systematic review and meta-analysis from 2000–20. *The Lancet Global Health*, 9(8). [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(21\)00221-7](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00221-7)
- Unemo, M., Bradshaw, C. S., Hocking, J. S., de Vries, H. J. C., Francis, S. C., Mabey, D., Marrazzo, J. M., Sonder, G. J. B., Schwebke, J. R., Hoornenborg, E., Peeling, R. W., Philip, S. S., Low, N., & Fairley, C. K. (2017). Sexually transmitted infections: challenges ahead. In *The Lancet Infectious Diseases* (Vol. 17, Number 8). [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30310-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30310-9)
- Yokota, M., Tatsumi, N., Nathalang, O., Yamada, T., & Tsuda, I. (1999). Effects of heparin on polymerase chain reaction for blood white cells. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 13(3). [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1098-2825\(1999\)13:3<133::AID-JCLA8>3.0.CO;2-0](https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2825(1999)13:3<133::AID-JCLA8>3.0.CO;2-0)