

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE
DEISE CRISTINA DAL'ONGARO

**MÉTODO *POINT OF CARE* PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS CONGÊNITA
POR TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA**

CAMPO GRANDE
2025

DEISE CRISTINA DAL'ONGARO

**MÉTODO *POINT OF CARE* PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS CONGÊNITA
POR TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Atenção à saúde integral da criança, do adolescente e da gestante.

Orientadora: Daniele de A. Soares Marangoni



Ata de Defesa de Dissertação
Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste
Mestrado

Aos sete dias do mês de março do ano de dois mil e vinte e cinco, às treze horas e trinta minutos, na Sala de Videoconferência – Bloco 18 (INISA), da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, reuniu-se a Banca Examinadora composta pelos membros: Daniele de Almeida Soares Marangoni (UFMS), Diogo Duarte dos Reis (UFMS), Everton Falcao de Oliveira (UFMS) e Valter Aragao do Nascimento (UFMS), sob a presidência do primeiro, para julgar o trabalho da aluna: DEISE CRISTINA DAL'ONGARO, CPF ***.515.251-**, Área de concentração em Saúde e Sociedade, do Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, Curso de Mestrado, da Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, apresentado sob o título "TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA COMO MÉTODO POINT OF CARE PARA SÍFILIS CONGÊNITA" e orientação de Daniele de Almeida Soares Marangoni. A presidente da Banca Examinadora declarou abertos os trabalhos e agradeceu a presença de todos os Membros. A seguir, concedeu a palavra à aluna que expôs sua Dissertação. Terminada a exposição, os senhores membros da Banca Examinadora iniciaram as arguições. Terminadas as arguições, a presidente da Banca Examinadora fez suas considerações. A seguir, a Banca Examinadora reuniu-se para avaliação, e após, emitiu parecer expresso conforme segue:

EXAMINADOR(A)	ASSINATURA	AVALIAÇÃO
Dra. Daniele de Almeida Soares Marangoni (Interno) Presidente da Banca Examinadora	 Documento assinado digitalmente DANIELE DE ALMEIRA SOARES MARANGONI Data: 07/03/2025 16:17:19-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovação <input type="checkbox"/> Aprovação c/ revisão <input type="checkbox"/> Reprovação
Dr. Diogo Duarte dos Reis (Externo)	 Documento assinado digitalmente DIOGO DUARTE DOS REIS Data: 07/03/2025 16:20:13-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovação <input type="checkbox"/> Aprovação c/ revisão <input type="checkbox"/> Reprovação
Dr. Everton Falcao de Oliveira (Externo)	 Documento assinado digitalmente EVERTON FALCAO DE OLIVEIRA Data: 07/03/2025 16:22:35-0300 Verifique em https://validar.iti.gov.br	<input checked="" type="checkbox"/> Aprovação <input type="checkbox"/> Aprovação c/ revisão <input type="checkbox"/> Reprovação
Dr. Valter Aragao do Nascimento (Interno)		<input type="checkbox"/> Aprovação <input type="checkbox"/> Aprovação c/ revisão <input type="checkbox"/> Reprovação

RESULTADO FINAL: APROVAÇÃO APROVAÇÃO COM REVISÃO REPROVAÇÃO

OBSERVAÇÕES: A aluna realizou a apresentação do tra-

balho com propriedade, demonstrando conhecimento
sobre todas as etapas do estudo; respondeu as
perguntas da banca de forma adequada e, segundo
os membros apresentou todos os requisitos necessá-
rios para o título de Mestre. Foi sugerida mudança no
título da Dissertação para: "Método point of care para o diagnóst
espectroscópica".

Nada mais havendo a ser tratado, o(a) Presidente declarou a sessão encerrada e agradeceu a todos pela presença.

Documento assinado digitalmente
 DEISE CRISTINA DAL'ONGARO
Data: 08/03/2025 14:04:25-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Assinatura do(a) Aluno(a)

DEISE CRISTINA DAL'ONGARO

**MÉTODO *POINT OF CARE* PARA O DIAGNÓSTICO DA SÍFILIS
CONGÊNITA POR TÉCNICA ESPECTROSCÓPICA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, da Faculdade de Medicina, da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste. Linha de Pesquisa: Atenção à saúde integral da criança, do adolescente e da gestante.

Orientadora: Daniele de A. Soares Marangoni

A Deus por me carregar no colo nos momentos
difíceis.

AGRADECIMENTOS

Aos participantes da pesquisa que propiciaram a coleta de dados e contribuíram para a conclusão da mesma.

AUFMS e ao HUMAP, por proporcionarem condições para evolução do conhecimento.

Aos meus filhos, Amanda e Gustavo, por serem o motivo pelo qual levanto todos os dias.

As minhas netas, Helena e Lavínia, por serem sol na minha vida.

A minha mãe pelo suporte por toda vida.

Ao meu companheiro Gil Antônio dos Santos pelo apoio.

A professora Daniele de Almeida Soares Marangoni por sua brilhante orientação, dedicação e paciência com meu aprendizado.

Ao professores Cícero Rafael Cena e Bruno Spolon Marangoni do Instituto de Física da UFMS pelo auxílio na análise da saliva.

A todos os professores do Programa de Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste pelas contribuições nessa caminhada.

A CAPES pela concessão de fomento necessários ao desenvolvimento de pesquisas.

Por fim a Deus, por guiar meus passos em cada etapa da vida e me sustentar até aqui.

Minhas imperfeições e fracassos são como uma
bênção de Deus, assim como meus sucessos e
meus talentos, e eu coloco ambos a seus pés.
(Mahatma Gandhi)

RESUMO

A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível (IST) curável, com tratamento acessível e barato, de difícil controle, com aumento expressivo da incidência ao longo da última década. A gestante infectada pode transmitir ao feto, caracterizando a sífilis congênita (SC), que pode ser assintomática. A Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR) é uma ferramenta promissora que pode facilitar a detecção e o diagnóstico de várias doenças, o que pode melhorar a triagem precoce. Entretanto, o potencial diagnóstico da SC utilizando essa tecnologia rápida, não invasiva, especialmente associada a aprendizado de máquina (AM), ainda não foi investigado. O objetivo do estudo foi desenvolver um método baseado em FTIR e AM para a análise direta de saliva a fim de obter um diagnóstico precoce de SC em lactentes. Participaram da pesquisa lactentes de 0 a 12 meses de idade, de ambos os sexos, nascidos ou admitidos para tratamento da SC no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande - MS. Para fins de controle, participaram lactentes hígidos ou internados para tratamento de outras patologias, de 0 a 12 meses de idade. A amostragem foi de conveniência, o recrutamento se deu no período de 2023 a 2024. Foram obtidos espectros de 27 amostras de saliva de lactentes, sendo 14 do grupo com SC e 13 do grupo controle. A fim de equilibrar o número de amostras por classe, aplicou-se um processo de *upsampling*, totalizando 20 amostras para cada grupo. A análise de componentes principais (PCA) e *loadings*, avaliaram a variância das amostras, discriminação eficiente e a relevância para a variância observada entre os grupos. Os espectros foram submetidos à análise e os resultados demonstraram diferença nos padrões espectrais entre o grupo teste e o controle. Quando aplicado o algoritmo de Máquina de Vetores de Suporte com otimização quadrática (SVM Quadrático) e a técnica *leave-one-out cross-validation* (LOOCV), o modelo atingiu 90% de precisão, 100% de sensibilidade e 80% de especificidade, mostrando o potencial para um teste de triagem.

Descritores: sífilis congênita; saliva; espectroscopia FTIR; biofluidos; biomarcadores.

ABSTRACT

Syphilis is a curable sexually transmitted infection (STI) with accessible and inexpensive treatment, difficult to control, with a significant increase in incidence over the last decade. Infected pregnant women can transmit the disease to the fetus, characterizing congenital syphilis (CS), which may be asymptomatic. Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) is a promising tool that can facilitate the detection and diagnosis of several diseases, which can improve early screening. However, the diagnostic potential of CS using this fast, non-invasive technology, especially associated with machine learning (ML), has not yet been investigated. The aim of the study was to develop a method based on FTIR and ML for the direct analysis of saliva in order to obtain an early diagnosis of CS in infants. Infants aged 0 to 12 months, of both sexes, born or admitted for treatment of CS at the Maria Aparecida Pedrossian University Hospital (HUMAP), Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande - MS, participated in the study. For control purposes, healthy infants or those hospitalized for treatment of other pathologies, aged 0 to 12 months, participated. Sampling was convenience, and recruitment took place from 2023 to 2024. Spectra were obtained from 27 saliva samples of infants, 14 from the CS group and 13 from the control group. In order to balance the number of samples per class, an upsampling process was applied, totaling 20 samples for each group. Principal component analysis (PCA) and loadings evaluated sample variance, efficient discrimination, and the relevance for the variance observed between groups. The spectra were subjected to analysis and the results demonstrated differences in spectral patterns between the test and control groups. When applied to the quadratic optimized Support Vector Machine (Quadratic SVM) algorithm and the leave-one-out cross-validation (LOOCV) technique, the model achieved 90% accuracy, 100% sensitivity and 80% specificity, showing the potential for a screening test.

Descriptors: congenital syphilis; saliva; FTIR spectroscopy; biofluids; biomarkers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Espectros FTIR médios para grupos de sífilis congênita (linha vermelha) e controle (linha preta). Os espectros foram normalizados por SNV e suavizados por IFFT com corte em 10 Hz..... 38
- Figura 2.** Gráfico de dispersão das três primeiras componentes principais (CP) para as amostras de sífilis (esfera azul) e controle (esfera vermelha)..... 40
- Figura 3.** Gráficos dos *loadings* das três primeiras componentes principais (CP), destacando as bandas vibracionais mais relevantes 41
- Figura 4.** Matriz de confusão para treinamento e validação com LOOCV e o classificador SVM Quadrático..... 42
- Figura 5.** Resumo ilustrativo dos procedimentos do estudo, análise e resultado da precisão 45

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Exemplos de aplicação de técnicas de FTIR/Raman com aprendizagem de máquina para o diagnóstico de doenças	30
Tabela 2. Caracterização da amostra final	38

ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

- AM – Aprendizagem de máquina
- ATR – Attenuated Total Reflectance
- BEST – Biomarkers, Endpoints, and Other Tools
- CEP – Comitê de Ética em Pesquisa
- COVID-19 – Coronavírus disease 2019
- DNA – Ácido desoxirribonucleico
- ELISA – Enzyme Linked Immunosorbent Assay
- EPI – Equipamento de proteção individual
- EUA – Estados Unidos da América
- EV – Endovenoso
- FDA – Food and Drug Administration
- FTA-ABS - Fluorescent treponemal antibody absorption
- FTIR – Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier
- GC – Grupo controle
- GSC – Grupo sífilis congênita
- HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
- HUMAP – Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian
- IFFT – Transformada Inversa de Fourier
- IgG – Imunoglobulina G
- IgM – Imunoglobulina M
- IM – Intramuscular
- INFI – Instituto de Física
- IR - Infravermelho
- IST – Infecção sexualmente transmissível
- JHR – Reação de Jarisch-Herxheimer
- LCR – Líquido cefalorraquidiano
- LOOCV – Leave-one-out cross-validation
- MHA-TP – Microhemagglutination Assay for treponema pallidum Antibodies
- NAAT – Nucleic Acid Amplification Test
- NV – Nascidos vivos
- OMS – Organização Mundial da Saúde
- PAM/Ped – Pronto atendimento pediátrico

PAR – País de alta renda
PCA – Análise de componentes principais
PCR – Teste de reação em cadeia de polimerase
PGC – Penicilina G cristalina
PGB – Penicilina G benzatina
PGP – Penicilina G potássica
PMBR – Países de média e baixa renda
RN – Recém-nascido
RPR – Rapid Plasma Reagin
RX – Radiografia
SC – Sífilis congênita
SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação
SISFÓTON – Laboratório de Óptica e Fotônica
SNV – Standart Normal Variate
SVM – Máquina de Vetores de Suporte
TCLE – Termo de consentimento livre e esclarecido
TNT – Teste não treponêmico
TPHA – Treponema pallidum Haemagglutination
TP-PA – Treponema pallidum Particle Agglutination
TR – Teste rápido
TT – Teste treponêmico
UCIN – Unidade de cuidados intermediários neonatal
UFMS – Universidade Federal de Mato Grosso do sul
UI – Unidade internacional
USG – Ultrassonografia
VDRL – Veneral Disease Research Laboratory
VO – Via oral

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1	Sífilis	17
2.1.1	Fisiologia	17
2.1.2	Diagnóstico.....	18
2.1.3	Tratamento	19
2.2	Sífilis gestacional.....	19
2.2.1	Diagnóstico da sífilis gestacional	20
2.2.2	Tratamento da sífilis gestacional	21
2.3	Sífilis congênita	21
2.3.1	Fisiopatologia da sífilis congênita.....	22
2.3.2	Diagnóstico da sífilis congênita.....	23
2.3.3	Tratamento da sífilis congênita.....	25
2.3.4	Prognóstico da sífilis congênita.....	26
2.4	Biomarcadores	26
2.5	Saliva	27
2.6	Espectroscopia diagnóstica.....	28
3	OBJETIVOS	31
3.1	Objetivo geral	31
3.2	Objetivos específicos	31
4	METODOLOGIA	32
4.1	Desenho	32
4.2	Participantes e amostragem.....	32
4.3	Critérios de elegibilidade.....	32
4.4	Locais de recrutamento e coleta de dados.....	33
4.5	Equipamentos e materiais	33
4.6	Procedimentos gerais para início e recrutamento.....	33

4.7	Procedimentos específicos.....	34
4.8	Variáveis de interesse	35
4.9	Análise de dados	35
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	38
6	CONCLUSÃO	45
	REFERÊNCIAS.....	46
	APÊNDICE A – TCLE para o responsável pelo participante.....	53
	APÊNDICE B – TCLE para o participante da pesquisa.....	56
	APÊNDICE C – Ficha de coleta de dados.....	58
	ANEXO A – Parecer substanciado do Comitê de Ética.....	60
	ANEXO B – Submissão do artigo na Revista Scientific Reports.....	62

1 INTRODUÇÃO

A sífilis é uma IST, seu agente etiológico é a bactéria espiroqueta gram-negativa *Treponema pallidum*, é considerada uma doença infectocontagiosa multissistêmica, com evolução crônica (Avelleira; Bottino, 2006).

A sífilis é uma doença de notificação compulsória, exclusiva do ser humano, curável, com tratamento acessível e barato. Porém, na última década, houve crescente número de casos de sífilis adquirida em adultos, sífilis gestacional e SC no mundo, inclusive no Brasil (Neto *et al.*, 2020).

Em 2022, o número estimado de novos casos de sífilis em adultos entre 15 e 49 anos, em todo o mundo, passou de 7,1 milhões em 2020 para 8 milhões em 2022. No mundo todo, a taxa de detecção da sífilis, vem mostrando crescimento ao longo dos anos, com exceção de 2020, que experimentou uma redução, possivelmente, devido a pandemia de *coronavírus disease – 2019* (covid-19), voltando a aumentar em 2021 (OMS, 2024).

No Brasil, foram registrados 242.826 casos de sífilis adquirida (113,8 casos por 100.000 habitantes), 86.111 casos de sífilis gestacional (34 casos por 1.000 nascidos-vivos (NV)), embora apresentando avanços, a SC continua sendo um desafio considerável, com 25.002 casos notificados em 2023 (9,9 casos por 1.000 NV e 7,7 casos de mortalidade infantil por 100.000 NV) (BRASIL, 2024).

Em Mato Grosso do Sul, de acordo com o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), a taxa de incidência de SC em menores de 1 ano foi de 8,4 casos por 1.000 NV (337 casos) (BRASIL, 2024).

Como em grande parte do mundo a incidência de sífilis gestacional e a consequente transmissão para o concepto continuam sendo um problema ainda subestimado, faz-se necessário diagnosticar precocemente os casos e tratar integralmente (Lorenz *et al.*, 2023).

O diagnóstico da SC depende da análise do perfil sintomático do paciente e é corroborado por testes diagnósticos laboratoriais que demandam coleta e/ou manipulação específica das amostras, utilização de bioreagentes e promoção de interações bioespecíficas. Apesar desses testes apresentarem boa acurácia, ainda assim podem conduzir a um diagnóstico errôneo, tornando-se uma desvantagem (Lorenz *et al.*, 2023).

Neste sentido, existe o interesse em investigar biomarcadores imunológicos específicos para o *T. pallidum*, a fim de contribuir para o diagnóstico rápido e seguro da SC (Lorenz *et al.*, 2023). Biomarcadores são moléculas biológicas que podem auxiliar no diagnóstico de doenças

e no acompanhamento da efetividade do tratamento e podem ser encontrados em diversos fluidos corporais, como sangue, urina, líquido e saliva (Zürcher; Humpel, 2023).

Estudos sobre diagnóstico salivar vem evoluindo como uma ferramenta de triagem precoce. Sua vantagem em relação a outros fluidos corporais é que, sendo considerada uma biópsia líquida não invasiva, de fácil coleta, com armazenagem de baixo custo e potencial de utilização em grande escala, pode vir a se tornar um meio efetivo na busca por diagnósticos rápidos e confiáveis (Géli; Nabet, 2024).

Um dos métodos mais promissores para fornecer informações sobre a composição molecular de fluidos biológicos é a FTIR associado ao modelo de AM, que vem demonstrando ser um meio econômico, rápido, não destrutivo e não invasivo na busca por doenças em amostras biológicas, com eficácia para separar grupos doentes de não doentes (Delrue *et al.*, 2023).

A FTIR emerge como uma ferramenta eficaz e promissora para ser utilizada no próprio local de atendimento, com o objetivo de se chegar ao diagnóstico precoce e acompanhar a clínica terapêutica (Das Chagas; De Lima; Nogueira, 2023; Da Silva *et al.*, 2024).

Resultados robustos e promissores vem sendo demonstrados, pela literatura, na análise de tecidos e células para o diagnóstico utilizando espectroscopia (Martinez-Cuazitil *et al.*, 2021; Del-Valle *et al.*, 2021; Luo *et al.*, 2021; Tabbasum *et al.*, 2021).

Por outro lado, não foram encontrados na literatura estudos que tenham investigado o potencial do uso da FTIR para o diagnóstico da SC precoce. Além disso, apesar do potencial da espectroscopia de infravermelho em superar as limitações de coleta de amostras e armazenamento nas biópsias de tecidos e nos testes bioquímicos convencionais, ainda são necessários novos estudos, padronizações de técnicas, e aprimoramento tecnológico para sua aplicação acurada e efetiva (Delrue *et al.*, 2023).

Neste estudo, tivemos por objetivo explorar o potencial de acurácia do FTIR, associado ao modelo de AM, para identificar a presença de biomarcadores da SC na saliva de lactentes com diagnóstico da doença, comparando-os com um grupo controle. Os resultados trazem informações pioneiras e com potencial promissor para a triagem rápida, diagnóstico não invasivo e barato da SC nessa população. Com isto, esta pesquisa poderá tornar-se fonte de informação e contribuir como ferramenta para elaboração de um teste diagnóstico precoce e tratamento adequado da SC e na elaboração de novos estudos sobre a patologia e suas características, bem como auxiliar os profissionais da área da saúde na assistência de qualidade às crianças, visando demonstrar a relação existente entre os aspectos avaliados com a doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Sífilis

A sífilis é uma doença infectocontagiosa, multissistêmica, listada no rol das ISTs, causada pela bactéria espiroqueta *T. pallidum*, subespécie *pallidum* (ordem *Spirochaetales*). A origem da sífilis ainda é controversa, na teoria pré-colombiana marcadores de sífilis foram encontrados em esqueletos humanos antes de 1940. (Tudor *et al.*, 2023). Descrita pela primeira vez na Europa no século XVI como sendo levada por Colombo e sua tripulação da América do Norte, porém evidências contemporâneas sugeridas por Thomas Sydenham em 1679 ditam que tenha sido importada da África (Peeling *et al.*, 2023).

O *T. Pallidum* é uma bactéria gram-negativa, flexível, espiralada, móvel, anaeróbica facultativa, identificada como agente causador da sífilis em 1905 por cientistas alemães, sendo que o primeiro teste para diagnosticar a infecção foi desenvolvido um ano depois, chamado teste de Wasserman. Teve o genoma sequenciado em 1998, tem uma rica membrana externa de fosfolipídios, pode ser visualizada por microscopia de campo escuro ou por imunofluorescência, seu metabolismo é lento, levando em média 30 horas para se multiplicar e apesar de ser considerada inviável em meio de cultura, recentemente pode ser cultivada em células de tecido do coelho. Considerada uma IST, vaginal, anogenital e/ou orogenital, raramente adquirida por contatos não sexuais como: transfusões de sangue, compartilhamento de agulhas e contato de pele. Tem o ser humano como único hospedeiro e não existe reservatório animal (Tudor *et al.*, 2023; Levinson, 2016; Peeling *et al.*, 2023).

2.1.1 Fisiopatologia

As espiroquetas penetram nas mucosas, principalmente após contato com lesão infecciosa durante o ato sexual, ativam o sistema inume causando destruição dos tecidos locais (cancro), se multiplicando rapidamente. Invadem o sistema linfático e se disseminam por via hematogênica dando origem as lesões da sífilis secundária. (BRASIL, 2006; Avelleira; Bottino, 2006; Lins, 2014; Levinson, 2016; Peeling *et al.*, 2023).

A sífilis pode ser dividida em cinco estágios que orientam o seu monitoramento e tratamento: sífilis recente (primária, secundária e latente recente) e sífilis tardia (latente tardia e terciária) (BRASIL, 2022).

A sífilis primária é caracterizada por um cancro duro indolor na área genital de inoculação, acompanhado por linfadenopatia sensível ou não, podendo ocorrer múltiplos cancros em locais com contato direto com a lesão infectada, que aparecem de 3 a 90 dias após o contágio desaparecendo em 4 ou 5 semanas sem deixar cicatrizes, mesmo sem tratamento (Tudor *et al.*, 2023; Avelleira; Bottino, 2006).

Se não tratada a sífilis pode evoluir para sífilis secundária, 6 semanas a 6 meses após a cicatrização do cancro, podendo surgir manifestações sistêmicas, até 1 ano depois, como lesões mucocutâneas principalmente nas regiões palmares e plantares, linfadenopatia difusa, mal-estar generalizado com cefaleias, mialgias, artralgia e febre baixa, anorexia, faringite, alopecia, hepatoesplenomegalia, meningite, síndrome nefrótica, entre outras. Nesta fase as lesões também regredem mesmo sem tratamento dando início a fase latente recente na qual não há manifestações presentes (Lins, 2014; Levinson, 2016; Tudor *et al.*, 2023)

O estágio terciário ocorre após o período de latência até 40 anos após o início da infecção. A inflamação causada pela sífilis neste estágio provoca lesões gomosas e nodulares com destruição tecidual, comprometimento do sistema nervoso e cardiovascular, podendo causar desfiguração, incapacidade e até a morte (BRASIL, 2022).

2.1.2 Diagnóstico

O principal teste utilizado é o não treponêmico (TNT) *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL) por ter elevada sensibilidade, ser de baixo custo e rápida execução porém pode resultar em falsos positivos. A ocorrência de resultados falsos negativos se dá em razão do excesso de anticorpos presentes no soro, também conhecido como efeito prozona. A memória imunológica mantém os testes reagentes em baixos níveis por toda vida (Ferreira, 2013).

Para fechar um diagnóstico de sífilis, geralmente são necessários um TNT (VDRL, RPR) e um teste treponêmico (TT) (FTA-ABS, TP-PA) positivos (Tudor *et al.*, 2023).

Os testes laboratoriais ainda permanecem abaixo do ideal uma vez que os resultados falso positivos e falso negativos são comuns bem como, títulos de TNT reativos persistentes deixam dúvidas quanto a falha do tratamento, reinfecção ou fenômeno imunológico. No entanto o estudo de biomarcadores, que são altamente sensíveis e específicos, vem se mostrando promissores podendo melhorar a confiança no diagnóstico, que na ausência de lesões sífilíticas, preveja a atividade da sífilis. Biomarcadores inespecíficos podem auxiliar no diagnóstico e

tratamento, mas são necessários mais estudos para biomarcadores específicos ao *T. pallidum* (Lorenz *et al.*, 2023).

2.1.3 Tratamento

A penicilina G cristalina (PGC), penicilina G benzatina (PGB) e a penicilina G procaína (PGP), também chamadas de benzilpenicilinas, continuam sendo o antibiótico de escolha para o tratamento da sífilis. As doses recomendadas dependem do estágio da doença, sendo 1 dose de 2,4 milhões de unidades internacionais (UI) de PGB intramuscular (IM) na sífilis primária, secundária e latente precoce, 3 doses de 2,4 milhões/UI de PGB IM em intervalos de 1 semana na sífilis terciária e latente tardia, 18 a 24 milhões/UI/dia de PGC endovenosa (EV) divididos de 4/4h por 10 a 14 dias na neurosífilis (Peeling *et al.*, 2023).

A reação de *Jarisch-Herxheimer* (JHR) aparece em 30% dos casos logo após o início do tratamento e se trata de uma exacerbação mercurial das lesões cutâneas, febre, vômitos, cefaleia, taquicardia, hipotensão, mialgia, entre outros, sendo transitória e não inviabiliza o tratamento, porém deve ser acompanhada de perto nas gestantes (Dhakal; Sbar, 2023).

Terapias alternativas com doxiciclina, ceftriaxona ou tetraciclina podem ser usadas em pacientes alérgicos a penicilina, mas a dessensibilização é indicada na maioria destes casos (Peeling *et al.*, 2023; Tudor *et al.*, 2023).

2.2 Sífilis gestacional

A sífilis gestacional é responsável por muitos resultados perinatais adversos evitáveis em todo o mundo, sendo uma ameaça para que se atinja os níveis de mortalidade infantil desejados. Recentemente foram detectados aumento nas taxas de sífilis gestacional em países de alta renda (PAR) e taxas altas persistentes nos países de média e baixa renda (PMBR), justificando abordagens mundiais a fim de resolver um problema de saúde pública que dispõe de estratégias de rastreio no pré-natal, tratamento disponível e de baixo custo, porém não vem apresentando melhoras nos índices (Freyne; Nourse; Walls, 2023; Moseley *et al.*, 2023). Segundo Moseley (2023) calcula-se que 1 milhão de gestantes por ano sejam diagnosticadas com sífilis, sendo que a África Subsariana tende a ter os índices mais elevados. Atualmente vários países vem apresentando aumentos significativos nas taxas de sífilis entre mulheres com idade fértil, inclusive em países de rendimento elevado como na Austrália (40%) e EUA (21%) (Freyne; Nourse; Walls, 2023).

Na sífilis gestacional as manifestações clínicas são as mesmas de pessoas não gestantes e variam de acordo com os estágios clínicos da doença (Bezerra *et al.*, 2020).

2.2.1 Diagnóstico de sífilis gestacional

O diagnóstico materno exige algoritmos que combinem TT, TNT e a história clínica da gestante, para que se possa definir o estágio em que se encontra a sífilis materna e, assim, instituir o tratamento adequado. A introdução do teste rápido (TR), principalmente em PMBR, foi indicada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) para agilizar o diagnóstico, sendo de baixo custo, sem necessidade de flebotomia, profissional altamente especializado, estrutura laboratorial, com resultado em tempo real, mas ele é incapaz de determinar o estágio da doença ou a eficácia do tratamento anterior. Os testes sorológicos são considerados indiretos pois, detectam anticorpos contra os antígenos produzidos pelo *T. pallidum* de 10 a 15 dias após o aparecimento do cancro e são divididos em TT e TNT (Avelleira; Bottino, 2006; BRASIL, 2016; Freyne; Nourse; Walls, 2023). Muitos países já adotam o algoritmo da OMS para o diagnóstico da gestante que é feito com a junção da história clínica mais um TR já na primeira consulta de pré-natal seguido de um TNT se positivado, repetido no início do terceiro trimestre e na hora do parto (Bezerra *et al.*, 2020). Os valores quantitativos do TNT são usados para referenciar a terapia nas gestantes e monitorar a evolução da doença (Stafford; Workowski; Bachmann, 2024).

A reinfeção após um tratamento ainda é um risco a ser gerido pelos Ministérios da Saúde, 95% das diretrizes para manejo de sífilis incluem recomendações sobre os parceiros, porém as notificações dependem de a gestante informar passivamente os casos, o que perpassa por dificuldades no contato, medos, preconceitos, múltiplos parceiros, entre outros fatores (Freyne; Nourse; Walls, 2023).

Microscopia de campo escuro, testes de anticorpos de imunofluorescência direta e coloração imuno-histoquímica ou prateada também podem ser utilizados para detecção direta do *T. pallidum* em lesões de sífilis, porém a maioria dos locais não estão equipados para realizar os testes e nem dispõem de pessoas habilitadas. Nos Estados Unidos da América (EUA) nenhum teste para detectar diretamente o treponema foi aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA), mas os testes de amplificação de ácido nucleico (NAAT) estão disponíveis (Stafford; Workowski; Bachmann, 2024).

2.2.2 Tratamento da sífilis gestacional

O tratamento na gestante também é feito com benzilpenicilina, de acordo com o estágio clínico da doença, porém a dose única de 2,4 milhões/UI de PGB vem sendo questionada por não atingir níveis treponemicidas no líquido (LCR), sendo indicado uma segunda dose 1 semana após a primeira (Stafford; Workowski; Bachmann, 2024; Tudor *et al.*, 2023; Walker; Walker, 2007). É considerado tratamento inadequado quando a gestante não foi tratada adequadamente ou não completou o tratamento, não possui documentação para comprovação ou iniciou o tratamento a menos de 30 dias da data do parto (Bezerra *et al.*, 2020).

Segundo Freyne; Nourse; Walls (2023) a dificuldade de testagem e de identificar o estágio da doença em muitos lugares do mundo vem levando países a adotar a estratégia de 3 doses de PGB, o que relativamente dificulta a adesão e o acesso aos locais de tratamento. Para infecção latente tardia ou de duração desconhecida, 3 doses de 2,4 milhões/UI semanalmente de PGB são indicadas, sendo que se o intervalo exceder a 9 dias, o tratamento deve ser reiniciado (Stafford; Workowski; Barchmann, 2024).

Alternativas com azitromicina, doxiciclina, tetraciclina e ceftriaxona em gestantes alérgicas a penicilina, onde a dessensibilização segura não é possível, devem ser mais bem estudados e o recém-nascido (RN) tratado como SC (Freyne; Nourse; Walls, 2023).

A OMS lançou em 2007 um programa de eliminação global até 2030 da transmissão de sífilis materno-infantil, onde defende o compromisso político com o aumento de programas de pré-natal para triagem, o acesso e qualidade dos serviços de saúde, o tratamento de todos os casos positivos e seus parceiros, com meta de atendimento de pelo menos 90% dos casos, meta está que não vem sendo atingida (Sankaran; Partridge; Lakshminrusimha, 2023).

2.3 Sífilis congênita

Segundo a OMS (2024), se uma mulher grávida infectada não receber tratamento precoce adequado, pode transmitir o *T. pallidum* ao feto, resultando na SC, causando desde nascimento assintomático, prematuridade, baixo peso, alterações multissistêmicas, natimortos até óbito. A transmissão para o conceito ocorre por lesões no canal vaginal (infecção vertical adquirida) na hora do parto e principalmente por via transplacentária (infecção vertical congênita) (Bezerra *et al.*, 2020; Costa; Araújo; Itani, 2022; Vaccari, 2011).

As manifestações clínicas mais comuns na SC precoce são organomegalias, icterícia, anemia hemolítica, trombocitopenia, erupções cutâneas, linfadenopatia generalizada, rinite

sifilítica, febre, irritabilidade, esforço respiratório, pneumonia, síndrome nefrótica, neurosífilis, glaucoma, catarata, perda auditiva, pseudoparalisia de Parrot, osteocondrite (Sinal de Wegner), convulsões, entre outros (Bezerra *et al.*, 2020).

Apesar do compromisso da OMS, a persistência mundial da SC permanece há quase duas décadas. Em 2020 a taxa global de SC foi de 425 casos por 100.000/NV consideravelmente superior à meta da OMS de 50 casos por 100.000/NV, ainda é provável que os dados subestimem a real situação mundial devido a fraca vigilância, sistemas de informação inadequados, subnotificações e casos não diagnosticados, ainda uma realidade de muitos PMBR (Moseley *et al.*, 2023).

2.3.1 Fisiopatologia da sífilis congênita

Após a contaminação da gestante, as espiroquetas aderem às células através de complexos proteicos que se ligam a receptores ocasionando sua fixação podendo acarretar lesões placentária, alterações dos vilos e veias do cordão, chegando ao conceito podem afetar vários sistemas através da disseminação generalizada (Costa, 2016).

A transmissão pode ocorrer em qualquer momento da gestação, independente do estágio clínico em que a mãe se encontre, sendo que a probabilidade é maior (de 70 a 100%) nos estágios iniciais (sífilis primária e secundária) quando há maior número de espiroquetas circulantes e no primeiro trimestre da gestação quando o fluxo sanguíneo placentário está mais ativo (Bezerra *et al.*, 2020; Costa; Araújo; Itani, 2022; Vaccari, 2011).

A SC apresenta dois estágios: precoce (diagnosticada até 2 anos de vida) e tardia (após os 2 anos) (BRASIL, 2022). Andrade *et al.* (2018) classificam as manifestações clínicas da SC como: lesões cutaneomucosas, lesões ósseas, lesões viscerais e lesões neurológicas. A SC pode apresentar manifestações clínicas variadas desde quadros iniciais assintomáticos, cerca de 60 – 90% dos RNs vivos, até a expressão de sinais e sintomas inespecíficos, discretos ou graves. Este quadro clínico diverso costuma estar associado a fatores como estágio da infecção intrauterina, o estado da sífilis materna, o tratamento pré-natal, a resposta imunológica fetal e a idade gestacional (BRASIL, 2022; Andrade *et al.*, 2018; Bezerra *et al.*, 2020).

A SC tardia tem como manifestações clínicas mais comuns a fronte olímpica, nariz em sela, palato em ogiva, lesões oculares, perda auditiva, alterações dentárias, atraso no desenvolvimento, tibia em sabre, levando a lesões permanentes (Domingues *et al.*, 2021).

As manifestações clínicas na criança com SC raramente surgem após 3 a 4 meses, mas podem se manifestar até 48 meses, dois terços desenvolvem sintomas entre a terceira e oitava semana de vida (BRASIL, 2022; Tudor *et al.*, 2023).

Achados mucocutâneos foram relatados em aproximadamente 70% dos RNs com SC, e são indicativos clínicos importantes de uma possível infecção por sífilis (Newton *et al.*, 2023).

A expressão limitada de proteínas na parede externa do *T pallidum* devido ao seu genoma pequeno faz com que o sistema imunológico do feto não consiga identificar o agressor dificultando o processo diagnóstico (Stafford; Workowski; Bachmann, 2024).

2.3.2 Diagnóstico da sífilis congênita

O diagnóstico da SC é considerado um processo bem mais complexo que a triagem materna, pois os anticorpos maternos são transferidos para o feto, permanecendo ativos por até 15 meses, desta forma, é fundamental que seja feito ainda na gestação, para se evitar a transmissão vertical, uma vez que mais da metade dos RNs são assintomáticos ao nascer, apresentam sinais clínicos discretos ou inespecíficos, dificultando a conclusão do diagnóstico e onerando o sistema com exames especializados e internações prolongadas (Tudor *et al.*, 2023; Costa; Araújo; Itani, 2022; Oliveira *et al.*, 2020).

A investigação clínica na criança é feita pela junção da história clínica e epidemiológica da mãe, exame físico minucioso do RN e exames laboratoriais e de imagens, desta forma, a avaliação da criança sob suspeita de SC inclui coleta de dados como: período de infecção materna, tratamento materno (adequado, incompleto, não tratada), fatores de risco para infecção/reinfecção, achados clínicos no exame físico (lesões mucocutâneas e organomegalias), avaliação ocular e auditiva, TNT seriado no RN e na mãe logo após o parto, hemograma, testes de função hepática, análise do LCR, radiografia (RX) de tórax e ossos longos, ultrassonografia (USG) de abdômen, neuroimagens. Dada a escassez e dificuldade de testes que confirmem com exatidão o diagnóstico nos RNs, a decisão de tratamento é baseada pela combinação dos fatores (Paixão *et al.*, 2023; Bezerra *et al.*, 2020; Stafford; workowski; Bachmann, 2024).

Os TNTs são quantitativos e detectam anticorpos contra cardiolipina e lecitina liberados pelos danos causados às células, portanto não são específicos para sífilis, podendo sofrer interferências (falso positivo) de outras infecções virais, como hepatite e sarampo, entre outras, também por condições autoimunes e até mesmo pela própria gravidez. O RN com TNT positivo, de sangue periférico, em pelo menos 4 vezes maior que o título materno, sugere SC, porém se

a titulação do RN for menor não indica exclusão do diagnóstico (Moseley *et al.*, 2023; Walker; Walker, 2007; Bezerra *et al.*, 2020).

Quanto maiores forem os títulos não treponêmicos até 1 ano de idade, maior o risco de mortalidade e maiores as chances de apresentarem sintomas (Paixão *et al.*, 2023).

Os TNTs mais usados são o VDRL e o RPR, por serem de baixo custo, fáceis de realizar e sensíveis, devendo ser repetidos com 1, 3, 6, 12 e 18 meses e são usados para triagem, acompanhamento da evolução da doença e resposta ao tratamento (Walker; Walker, 2007; Bezerra *et al.*, 2020; Stafford; workowski; Bachmann, 2024).

Os TTs (FTA-ABS, ELISA, TPHA, MHATP) são qualitativos e detectam os anticorpos contra o antígeno *T. pallidum*. Anticorpos IgG podem indicar infecção congênita ou transferência transplacentária, nesse caso, pode ocorrer um resultado falso-negativo devido ao excesso de anticorpos transferidos da mãe, chamado de efeito prozona. Anticorpos IgM sugerem produção endógena e por não atravessarem a placenta indicam infecção ativa, porém com uma alta taxa de falso-positivos. Ambos não são indicados antes de pelo menos 6 meses de vida e demandam uma interpretação cuidadosa dos resultados (Walker; Walker, 2007; BRASIL, 2016; Moseley *et al.*, 2023).

A microscopia de campo escuro, coloração imuno-histoquímica ou prateada e imunofluorescência direta em amostras das lesões ou aspirado de linfonodo, podem ser usadas para detecção direta das espiroquetas e são bastante sensíveis, porém raramente realizados fora de laboratórios, pois, demandam equipe altamente especializada para coleta e análise. O *T. pallidum* não pode ser cultivado, sendo destruído pelo calor e falta de umidade, resistindo, em média, por 26 horas fora do corpo humano, o que inviabiliza, de certa forma, este tipo de exames (Avelleira; Bottino, 2006; Lorenz *et al.*, 2023; Stafford; Workowski; Bachmann, 2024).

O cultivo do *T. pallidum in vitro*, foi descrito recentemente, porém não está amplamente disponível e nem foi validado para o isolamento de amostras clínicas. O modelo de produção de espiroquetas testado no coelho não é viável fora do ambiente de pesquisa devido custos, praticidade e trabalho intenso. Os testes de amplificação de ácido nucleico (NAATs) podem ser usados, mas não são rotina. Nenhum teste de detecção direta foi aprovado pela FDA para ser comercializado nos EUA. A utilização de teste de reação em cadeia de polimerase (PCR) para *T. pallidum* em amostras é bastante sensível, mas ainda depende de investimentos de recursos para desenvolvimento e distribuição (Stafford; Workowski; Bachmann, 2024; Lorenz *et al.*, 2023; Moseley *et al.*, 2023).

Lorenz *et al.* (2023) defende mais estudos sobre biomarcadores imunológicos específicos para *T. pallidum*, que poderão contribuir de forma efetiva para o diagnóstico da sífilis, bem como, biomarcadores inespecíficos são úteis para facilitar o processo.

De acordo com Gilmour e Walls (2023), apesar da SC ser altamente evitável, a nível mundial existe grande dificuldade de os PBMR seguirem os algoritmos determinados pela OMS para triagem, tratamento e notificação por dificuldade de acesso e investimento, causando variações nas taxas e na definição de diagnóstico, podendo seguir desconhecida a SC até uma infância tardia, ocasionando danos irreversíveis.

Para erradicar a SC é necessário simplificar e otimizar o diagnóstico, a vigilância, as notificações e o tratamento, sendo preciso, para isso, mais pesquisas para desenvolver formas práticas, ágeis e de baixo custo, como testes não invasivos utilizando saliva (Walker; Walker, 2007).

2.3.3 Tratamento da sífilis congênita

Os RNs que atendem aos critérios para sífilis confirmada ou altamente prováveis, de mãe diagnosticada com sífilis no pré-natal, parto ou puerpério, que não tratou ou tratou inadequadamente, devem ser tratados com benzilpenicilina, o plano terapêutico depende do diagnóstico e tratamento efetivo da mãe, achados no exame físico e a comparação dos títulos sorológicos no TNT de mãe e filho logo após o parto. O RN de mãe que obteve o diagnóstico antes da gestação, tratou adequadamente e não houve aumento na titulação, não precisa ser investigado para SC, porém, aquele cuja mãe foi diagnosticada com sífilis durante o pré-natal, realizou o tratamento completo, bebê nasceu assintomático e com titulação menor, igual ou até 1 vez maior que a titulação da mãe, é considerado exposto e deve ser investigado e acompanhado (Bezerra *et al.*, 2020).

Pacientes com história de alergia à penicilina devem ser investigados e tem indicação de dessensibilização. Se a penicilina não puder ser usada, tem-se como alternativas, ainda investigadas, a ceftriaxona, doxiciclina ou azitromicina (Tudor *et al.*, 2023). Apesar do uso de tratamentos alternativos durante a escassez global de penicilina, que afetou principalmente a África Subariana, o Brasil, o Sudeste Asiático e a Australásia, em meados de 2016, os dados sobre resultados infantis são escassos. Alternativas por via oral (VO) facilitariam o acesso em PBMR. Nenhum ensaio randomizado avaliou opções alternativas de medicamentos em neonatos e gestantes (Moseley *et al.*, 2023; Freyne; Nourse; Walls, 2023).

De acordo com Moseley *et al.* (2023), atualmente não existem vacinas em ensaios clínicos em humanos, sendo precário o conhecimento de imunológicos de proteção contra a sífilis. Devido a bactéria *T pallidum* possuir uma membrana externa sem lipopolissacarídeos e pouca proteína transmembrana, a resposta imune a sífilis é diferente de outras bactérias, não sendo identificados em nenhum estudo com humanos uma resposta protetora, dificultando a elaboração de futuras vacinas.

Estudos como os de Lima (2002), Vernaccio (2010), Madi *et al.*, (1999) e Saraceni *et al.*, (2005) demonstraram a rapidez com que a grande parte dos RNs chegam a óbito ou possuem sequelas irreversíveis entre o primeiro dia de vida até um ano de idade, resultando da dificuldade de se tratar a SC, o que expõe a necessidade de reforçar o diagnóstico precoce da gestante, para oportunizar o tratamento da mãe e da criança em tempo oportuno.

2.3.4 Prognóstico da sífilis congênita

O prognóstico da SC é multifatorial, depende do tempo de diagnóstico da mãe, qual trimestre ela contraiu a doença, tratamento materno, adequado seguimento pré-natal (Cooper; Sánchez, 2018). Um bom prognóstico se dá quando temos um diagnóstico precoce na gestação, tratamento adequado e seguimento com equipe multidisciplinar, reduzindo a infecção congênita de 70% para 2%, bem como as complicações neonatais (Bezerra *et al.*, 2020).

2.4 Biomarcadores

A ciência dos biomarcadores vem evoluindo como uma forma de triagem precoce, de uso fácil e barato para diversos tipos de doenças. Biomarcadores são moléculas biológicas, com característica definida, que é medida como indicador de processos biológicos saudáveis ou patológicos, ou como resposta a exposições ou intervenções, podendo auxiliar no diagnóstico de doenças e no acompanhamento da efetividade do tratamento e que podem ser encontrados em diversos fluidos corporais, como sangue, urina, líquido e saliva (Zürcher; Humpel, 2023; Lorenz *et al.*, 2023).

Os biomarcadores podem ser classificados de acordo com o tipo de informação que fornecem sobre a saúde do paciente: fisiológicos (pressão arterial, frequência cardíaca, temperatura), físicos (alterações em estruturas biológicas), histológicos (biopsia de tecidos), anatômicos (análise de estruturas), bioquímicos (análise de substâncias químicas no

organismo), genéticos (genes), proteicos (alterações nas proteínas), hormonais (hormônios), inflamatórios (marcadores de inflamação), ou classificados de acordo com suas funções: diagnóstico, prognóstico, preditivo e de monitoramento (Zamora-Obando *et al.*, 2022).

Os biomarcadores passam por várias etapas antes de serem recomendados para uso e estão listados no glossário “*Biomarkers, Endpoints, and other Tools*” (BEST) da FDA (Lorenz *et al.*, 2023).

Pesquisas com biomarcadores associados a sífilis primária e secundária foram listados, na literatura, em lesões cutâneas (Stary *et al.*, 2010; Van Voorhis *et al.*, 1996), no sangue (Bernardeschi *et al.*, 2012; Zhu *et al.*, 2012; Yang; Moreira; Li, 2022), em urina (Osbaek *et al.*, 2018; Tong *et al.*, 2021). Na sífilis latente em urina (Osbaek *et al.*, 2018). Na sífilis em estágios não especificados, no plasma (Hu *et al.*, 2018). Em neurosífilis, no líquido (Wang *et al.*, 2021). Na SC no sangue (Samson; Beatty; Malan, 1990).

Wang *et al.* (2021) descreveu cargas de DNA de *T. pallidum* na saliva em amostras pareadas com plasma em todos os estágios da sífilis, numa pesquisa com expressão clínica significativa e conclusões robustas e inovadoras, porém a SC não estava incluída.

Apesar das crescentes pesquisas para encontrar biomarcadores da sífilis, os dados disponíveis não avalizam o uso de qualquer biomarcador para auxiliar as decisões clínicas, carecendo de mais pesquisas com desfechos significativos. No entanto, apesar das limitações, os biomarcadores não específicos podem ser usados como complementos no diagnóstico e manejo da sífilis (Lorenz *et al.*, 2023).

Testes laboratoriais de uso rotineiro para *T. pallidum* permanecem abaixo do ideal para fins de diagnósticos, prognósticos, predições e monitoramento. Neste sentido, existe o interesse em investigar biomarcadores imunológicos específicos para o *T. pallidum*, a fim de contribuir efetivamente para o diagnóstico rápido e seguro da sífilis congênita (Lorenz *et al.*, 2023).

Como não foram encontrados na literatura biomarcadores específicos para SC, o presente estudo buscou, as cegas, por diferenciações bioquímicas presentes na saliva, que possam ser consideradas exclusivas, seguras e fáceis para identificar o estado patogênico em questão.

2.5 Saliva

Estudos sobre diagnóstico salivar, em especial, vem evoluindo como uma ferramenta de triagem precoce. O crescente apelo por pesquisas na saliva e sua utilização clínica, já resultaram em vários dispositivos, que estão sendo comercializados no mercado, para coleta, análise e

testagem da saliva, como vimos recentemente na covid-19 (Lukose *et al.*, 2021).

A saliva é uma solução aquosa hipotônica transparente (99,5%), composta por uma gama multivariada de biomoléculas (água, eletrólitos, lipídios, carboidratos, proteínas, entre outras) provenientes das glândulas salivares (parótida, submandibular e sublingual), fluido cervical gengival, secreções nasais e brônquicas, bem como restos alimentares e microrganismos, tem a função de limpar a cavidade oral e lubrificar os alimentos para a deglutição (Zürcher; Humpel, 2023; Da Silva *et al.*, 2024; Lukose *et al.*, 2021).

Métodos tradicionais para coleta de amostras, como biópsias e sangue, são invasivos, desconfortáveis e demorados, exigindo equipamentos especializados e pessoal treinado para coleta e análise, limitações que levam a diagnóstico e tratamento tardios, prejudicando os pacientes (Delrue *et al.*, 2023).

A saliva é considerada uma biópsia líquida e sua vantagem, em relação a outros fluidos corporais, é ser de fácil coleta, não invasiva, com armazenagem de baixo custo e potencial de utilização em grande escala, o que facilita sua aceitação por diversos grupos como idosos, neonatos e crianças, podendo vir a se tornar um meio efetivo na busca por diagnósticos rápidos e confiáveis (Géli; Nabet, 2024).

Algumas doenças que possuem estudos de marcadores moleculares na saliva incluem neoplasias malignas (Stuani *et al.*, 2017), doenças virais como HIV, diabetes mellitus tipo 2, risco de cáries (Yoshizawa *et al.*, 2013), doenças autoimunes como a Síndrome Sjögren (Humberto *et al.*, 2018), e doença de Alzheimer (Zürcher; Humpel, 2023).

A SC continua sendo um desafio para testagem laboratorial convencional. De fato, não são encontrados na literatura relatos do uso da saliva para parâmetros de diagnóstico de SC. Em outras doenças, no entanto, a aplicabilidade de biomarcadores de saliva para fins diagnósticos tem sido investigada, já que, a composição e fluxo da saliva são afetados por diversos fatores como condições naturais, doenças humanas e causas exógenas (Zürcher; Humpel, 2023). Dessa forma, o avanço na área pode ser limitado pela falta de métodos e técnicas eficientes na diferenciação de biomarcadores moleculares na saliva (De Lima *et al.*, 2020).

2.6 Espectroscopia diagnóstica

Duas técnicas fotônicas se destacam para aplicação em diagnóstico de doenças, devido à aplicabilidade, fácil implementação/manipulação e portabilidade: a técnica de FTIR e espectroscopia Raman (Baker *et al.*, 2016; Dougan *et al.*, 2012). Os dados obtidos são previamente tratados por métodos matemáticos para remoção de ruído, *offset* e *slope* (variações

experimentais que podem criar viés na classificação utilizando AM). Em seguida, os dados são analisados por algoritmos de AM responsáveis por desenvolver um classificador (modelo preditor) que será capaz de prever e/ou classificar uma amostra futura dentro de algum grupo (validação externa). Este processo demanda que haja sempre no mínimo dois grupos de classificação e quanto maior o número de grupos, maior a dificuldade na classificação das amostras pelo modelo preditor. A alta acurácia obtida pelos métodos demonstram a viabilidade da técnica (Ahmed *et al.*, 2021; Martinez-Cuazitil *et al.*, 2021; Heraud *et al.*, 2019; Luo *et al.*, 2021; Tabbasum *et al.*, 2021).

Um dos métodos estudados mais promissores para fornecer informações sobre a composição molecular de fluidos biológicos é a FTIR associado ao modelo de AM. É uma técnica não destrutiva, baseada na absorção de radiação eletromagnética com comprimentos de onda na região do infravermelho (IR) médio ($4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$). Os fótons de energia nessa região do espectro, quando absorvidos, promovem vibrações moleculares. Os espectros de IR transmitem informações quantitativas (intensidade) e qualitativas (frequência) sobre a natureza, estrutura e ambiente molecular das ligações químicas. A luz IR transmitida/refletida resultante é então transformada matematicamente através da transformada de Fourier, que converte dados brutos de IR em um espectro FTIR. Esse espectro representa a composição geral da amostra (Martinez-Cuazitil *et al.*, 2021).

Essa tecnologia óptica vem demonstrando ser um meio econômico, rápido e não invasivo na busca por doenças em amostras biológicas, com eficácia para separar grupos com determinada doença de grupos não doentes. Sua metodologia se baseia na interação molecular na forma vibracional, caracterizando a amostra em grupos moleculares e alterações que estes possam apresentar de maneira precisa e rápida, com pouca ou nenhuma preparação prévia, permitindo o uso em larga escala e com baixo custo (Ahmed *et al.*, 2024).

Pesquisas demonstram que o FTIR é capaz de identificar com eficácia alterações de moléculas ligadas ao câncer e doenças degenerativas, hematológicas, endócrinas, orais, e infectocontagiosas, entre outras (Al-Kelani; Buthelezi, 2024; Ahmed *et al.*, 2024). A técnica FTIR em amostras de saliva como biofluido também já foi aplicada a diversas doenças, como câncer esofágico (Maitra *et al.*, 2019), covid-19 (Kazmer *et al.*, 2022), diabetes (Scott *et al.*, 2010), e periodontites (Da Silva *et al.*, 2024). A Tabela 1 fornece alguns exemplos dos últimos anos no diagnóstico de doenças causadas por diferentes patógenos. A alta acurácia obtida pelos métodos demonstra a viabilidade da técnica (Kazmer *et al.*, 2022).

Tabela 1: Exemplos de aplicação de técnicas de FTIR/Raman com AM para o diagnóstico de doenças.

DOENÇA	PATÓGENO	TÉCNICA	AMOSTRA	ACURÁCIA
COVID-19	vírus	FTIR-ATR	saliva	100%
Hepatite B	vírus	Raman	oro sangue	99%
Equinocose	parasita	Raman	oro sangue	92,5%
Febre Tifoide	bactéria	Raman	oro sangue	100%
Tuberculose	bactéria	Raman	oro sangue	100%
Malária	parasita	FTIR	sangue	70%

*Elaborada pela autora

Vale ressaltar que ainda existem desafios tecnológicos e científicos a serem superados na utilização do FTIR em ambiente clínico, como o processo de coleta e armazenagem dos biofluidos, a padronização das etapas pré-analíticas e analíticas e o uso dos processos de AM, aonde é observado uma tendência nas pesquisas em usar a técnica de PCA, juntamente com técnicas de análise supervisionadas, como a Suport Vector Machine (SVM). É necessário que protocolos sejam criados definindo, por exemplo, o local de coleta, a forma, proporção de diluição, armazenamento, cuidados, insumos, preparações e a triagem dos indivíduos a serem recrutados, entre outros, fatores estes, que podem influenciar no padrão das amostras, causando vieses indesejados (Leal *et al.*, 2018; Cameron *et al.*, 2018).

Na busca da literatura, não foram encontrados estudos que tenham utilizado tais técnicas para diagnóstico de SC precoce. Considerando a complexidade diagnóstica da SC, o potencial de acurácia e viabilidade na prática clínica das técnicas fotônicas se mostra imprescindível para triagem e tratamento precoce com sucesso e conseqüente minimização de comorbidades associadas à doença.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

- Desenvolver um método baseado em espectroscopia para a análise direta da saliva de crianças de 0 a 1 anos de idade com sífilis congênita.

3.2 Objetivos específicos/secundários

- Analisar a saliva de crianças com diagnóstico de sífilis congênita por meio de espectroscopia FTIR;
- Testar diferentes meios de coleta para aferir o melhor desempenho;
- Avaliar via diagnóstico de saliva a acurácia do FTIR associado ao modelo de AM para classificação entre lactentes com SC e grupo controle.

4 METODOLOGIA

4.1 Desenho

Trata-se de um estudo exploratório observacional, com delineamento transversal, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul (CAAE nº 71599223.1.0000.0021) como parte do projeto institucional “Análise espectroscópica da saliva e de lesões cutâneas de crianças com sífilis congênita precoce” (ANEXO A). O recrutamento dos participantes ocorreu entre agosto de 2023 e julho de 2024 no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP), referência para tratamento de sífilis no estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.

4.2 Participantes e amostragem

Inicialmente, 100 lactentes de ambos os sexos foram incluídos e divididos em dois grupos (ou classes): grupo sífilis congênita (GSC) e grupo controle (GC). Os participantes foram selecionados por amostra de conveniência. Desta forma, o tamanho amostral do GSC foi determinado pela coleta de todos os lactentes nascidos vivos e/ou hospitalizados para tratamento de SC no HUMAP, e do GC por lactentes nascidos vivos e/ou hospitalizados por qualquer outra doença que não SC, entre agosto de 2023 e julho de 2024, após consulta dos prontuários e da equipe assistencial.

Para fins da pesquisa, a definição de SC, segundo Brasil (2006) ocorre quando o lactente nasce de mãe com evidência clínica para sífilis e/ou com sorologia reagente realizada no pré-natal ou no momento do parto, que não tenha sido tratada, tenha recebido tratamento inadequado ou a menos de 30 dias da data do parto; lactente com títulos não treponêmico maiores que o da mãe; lactente com evidências clínicas ou líquóricas e evidências de infecção pelo *T. pallidum* na placenta ou no cordão umbilical e/ou em amostras da lesão.

4.3 Critérios de elegibilidade

Para o GSC, foram critérios de inclusão lactentes nascidos vivos, de 0 a 12 meses de idade, de ambos os sexos, clinicamente estáveis, nascidos ou admitidos para tratamento da SC no HUMAP, após exames preliminares e definição de infectados com sífilis pela equipe de assistência médica. Para o GC, foram incluídos lactentes nascidos vivos, de 0 a 12 meses de

idade, de ambos os sexos, clinicamente estáveis, nascidos ou admitidos para qualquer outro tipo de tratamento que não fosse a SC.

Foram critérios de exclusão no GSC lactentes que não possuíam diagnóstico confirmado para SC, instáveis, fora da faixa etária estabelecida. No grupo GC foram excluídos lactentes fora da faixa etária estabelecida.

Para a seleção dos participantes segundo os critérios anteriormente descritos, foram considerados os prontuários médicos. Além disso, as orientações da equipe multidisciplinar de profissionais de saúde também foram tomadas como referência.

4.4 Locais de recrutamento e coleta de dados

Os participantes foram recrutados no HUMAP, nos setores: alojamento conjunto da maternidade, unidade de cuidados intermediários neonatais (UCIN), enfermaria pediátrica e no pronto atendimento médico pediátrico (PAM/Ped), localizados no campus da UFMS, na cidade de Campo Grande - MS. A coleta de dados ocorreu nos próprios setores de recrutamento, com frequência de 2 vezes por semana.

4.5 Equipamentos e materiais

Foram utilizadas fichas de anamnese (APÊNDICE C) impressas e preenchidas com caneta esferográfica, para anotar os dados coletados. Para coleta da saliva foram usados cotonetes estéreis comercial (*swab*) e tubos plástico com tampa. Também foram utilizados álcool 70% e toalha descartável para higiene dos equipamentos, bem como equipamentos de proteção individual descartáveis (EPIs) como capote, máscara, gorro e luvas, conforme exigência de cada unidade onde foram coletados os dados. Para análise foi utilizado um espectômetro *Agilent*, modelo *Cary 630* e para leitura dos dados o pacote *Matlab 2015b*. Os equipamentos e materiais necessários para a aplicação das avaliações já estavam disponíveis no laboratório coordenado pela orientadora do projeto e no Laboratório de Óptica e Fotônica (Sisfóton) do Instituto de Física (INFI) da UFMS.

4.6 Procedimentos gerais para início e recrutamento

Após aprovação do projeto pelo CEP (ANEXO A), o recrutamento dos participantes ocorreu pessoalmente nos setores do HUMAP, durante os atendimentos de rotina. Neste

momento, às mães e/ou responsáveis foram explanadas sobre a pesquisa, os objetivos e procedimentos realizados no estudo, e convidadas a participar. Os prontuários médicos foram previamente consultados para elegibilidade dos participantes segundo os critérios de inclusão, bem como as equipes de assistência.

No caso de concordância em participar do presente estudo, a inserção na pesquisa foi autorizada por meio de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para o Responsável pelo Participante da Pesquisa (APÊNDICE A) e TCLE para o Participante da Pesquisa (APÊNDICE B). Não foi disponibilizado Termo de Assentimento às crianças, uma vez que este não é aplicável à faixa etária estudada.

Conforme Resolução CNS 466/2012, os dados obtidos nesta pesquisa serão utilizados exclusivamente para a finalidade prevista em seu protocolo.

4.7 Procedimentos específicos

Todos os procedimentos de avaliação foram realizados no próprio setor hospitalar, uma vez que as crianças nasceram ou estavam internadas.

Foi realizada observação física (inspeção em busca de lesões mucocutâneas) da criança, em ambiente com temperatura agradável, para fins de caracterização clínica

A coleta de saliva foi realizada após esclarecimento prévio ao responsável sobre o estudo e a forma de coleta. O lactente não deveria ter ingerido leite (ou outro alimento) recentemente. Primeiramente, o lactente recebeu massagem suave nas bochechas para estimular a salivação. Em seguida, foi testado a coleta de saliva por capilar, pipeta descartável e *swab* estéril com ponta de *rayon*, devido a pouca quantidade de saliva produzida antes da fase oral (dentição) e a possibilidade de lesão por capilar e pipeta, o método escolhido foi o *swab* que após ser friccionado por toda cavidade oral de forma firme, porém gentil, foi fechado em tubo plástico comercial e transportado em caixa térmica para serem armazenados a -20°C em geladeira própria para amostras. Todos os tubos foram identificados apenas por um numeral, de acordo com a ordem de participação/coleta, preservando a privacidade do lactente.

Caso o lactente não estivesse colaborativo, novas tentativas foram agendadas em momentos posteriores, em comum acordo com as mães. Adicionalmente, foi realizada anamnese com a mãe para coletar informações epidemiológicas e sociodemográficas (APÊNDICE C).

O tempo total de coleta de dados foi de aproximadamente 20 minutos, sendo 10 minutos para o exame físico e coleta da saliva e 10 minutos para preenchimento da ficha de coleta de dados.

4.8 Variáveis de interesse

Os resultados obtidos na análise das salivas coletadas são variáveis dependentes primárias da pesquisa.

O perfil epidemiológico e sociodemográfico coletados na entrevista são variáveis independentes.

O perfil socioepidemiológico foi obtido por meio das informações sobre a saúde da mãe e da criança: Dados maternos: acompanhamento pré-natal, doenças na gestação, uso de drogas/álcool/tabaco/medicamentos na gestação, infecções durante a gestação, testes, exames e tratamento. Dados da criança: idade gestacional, diagnóstico, apgar ao nascer, dados antropométricos ao nascer e ao exame físico, intercorrências perinatais, tempo de hospitalização neonatal, tipo de aleitamento materno, testes, exames, características de lesões mucocutâneas e tratamento. Bem como a idade materna, estado civil, escolaridade, número de filhos, endereço/telefone, profissão e renda familiar per capita, foram levados em conta.

4.9 Análise de dados e espectroscópica

A análise dos dados sócio - epidemiológicos foi realizada através de questionário, elaborado pela autora (APÊNDICE C), levando em conta, principalmente, o tratamento materno, do parceiro, período da infecção com a sífilis, exames feitos no período pré-natal, fatores que corroboram para o diagnóstico do conceito, bem como, idade, número de filhos, situação financeira e estudantil, fatores, a serem usados em potenciais pesquisas posteriores, que possam orientar sobre os caminhos que vem levando aos crescentes índices da sífilis.

Foram coletadas 50 amostras para o GSC e 50 amostras para o GC. Para a análise das amostras coletas, primeiramente a saliva foi descongelada à temperatura ambiente. Foram adicionados, com pipeta dosadora, 40 µl de soro fisiológico 0,9% ao tubo plástico fechado para facilitar a extração da saliva por compressão manual do *swab*. Uma gota do conteúdo foi colocada diretamente sobre o cristal do acessório *Attenuated Total Reflectance* (ATR) de um espectômetro *Agilent*, modelo *Cary 630*. Para minimizar interferências espectrais, os espectros foram restringidos à faixa de 1300 a 1800 cm^{-1} , visando eliminar a influência de bandas

associadas a moléculas presentes no leite, usando água deionizada como fundo (Reis *et al.*, 2024). Neste momento, foram descartadas amostras de saliva devido à quantidade insuficiente do conteúdo para medição do aparelho. A coleta de saliva em lactentes apresentou certa dificuldade devido a pouca salivagem antes da segunda etapa da fase oral, aonde o lactente leva partes do corpo ou objetos a boca e os primeiros sinais de dentição resultando em amostras inadequadas e subsequente descarte antes mesmo das análises iniciadas.

Posteriormente, todos os espectros foram normalizados pelo método (filtro 1) SNV para padronização dos dados (Rios *et al.*, 2021).

A fim de reduzir ruídos espectrais, aplicou-se a Transformada Inversa de Fourier (IFFT) com frequência de corte de 10 Hz (filtro 2), suficiente para atenuar ruídos aleatórios e preservar informações relevantes das bandas vibracionais. A IFFT permite manipular o espectro no domínio da frequência, possibilitando a eliminação de componentes indesejáveis antes da reconversão ao domínio do tempo (Yang *et al.*, 2022). Neste momento houve o descarte de mais amostras aonde não se conseguiu eliminar a influência do leite tornando os espectros impróprios para análise, restando 27 amostras (14 amostras GSC e 13 amostras SC).

Para equilibrar o número de amostras por grupo, realizamos um processo de *upsampling*. Nesse processo, dois espectros aleatórios de cada grupo foram selecionados e uma média foi calculada para gerar um espectro adicional. Esse procedimento foi repetido até que cada grupo tivesse 20 espectros (Ribeiro *et al.*, 2024).

A análise de PCA, é uma técnica de AM, que foi aplicada com o objetivo de reduzir a dimensionalidade dos dados e eliminar redundâncias, preservando o máximo de variância possível. A PCA transforma os dados iniciais em novas variáveis ortogonais (componentes principais), obtidas a partir da decomposição dos autovalores e autovetores da matriz de covariância. Em apoio a dispersão os *loadings*, coeficientes que indicam a contribuição das variáveis originais para cada componente, foram analisados para identificar quais grupos funcionais possuem maior potencial de separação entre os grupos. Realizamos uma análise visual das três primeiras (PC1, PC2 e PC3) componentes principais para avaliar o potencial de separação entre os grupos de amostras (Mohsin *et al.*, 2019).

Para a etapa de treinamento e validação dos modelos, foram testados vários classificadores distintos. O selecionado por performance de acurácia foi o algoritmo SVM-Quadrático, uma técnica de AM (algoritmo matemático) voltada para classificação e regressão. O SVM-Quadrático busca encontrar o hiperplano que separa os grupos com a maior margem possível, maximizando a distância entre os pontos mais próximos de cada grupo, conhecidos

como vetores de suporte, o que torna o modelo robusto para a discriminação entre os grupos (Liu *et al.*, 2020).

A validação dos modelos foi realizada utilizando a técnica LOOCV, adequada para conjuntos de dados reduzidos. Na LOOCV, cada amostra é usada como teste enquanto o restante é utilizado para treino, repetindo o processo N vezes (onde N é o número de amostras), maximizando o uso dos dados disponíveis (Allegretta *et al.*, 2020). Por fim, os resultados dos modelos foram analisados por meio de uma matriz de confusão, permitindo avaliar o desempenho do protocolo desenvolvido em termos de acurácia e robustez.

5 RESULTADOS e DISCUSSÕES

A caracterização da amostra obtida através da ficha de coleta de dados (APÊNDICE C), registrou informações detalhadas sobre suas propriedades.

No grupo sífilis congênita 71,43% (n=10) foram do sexo feminino e no grupo controle 46,15% (n=6) foram do sexo feminino.

Tabela 2. Caracterização da amostra final

CARACTERÍSTICAS	SÍFILIS CONGÊNITA	CONTROLE
Idade Gestacional (semanas) M±DP	38,4±2,6	38,6±2,0
Idade na coleta (dias de vida) M±DP	9,0±14,3	96,2±107,9
Idade Materna (anos) M±DP	24,1±5,5	26,6±7,6

M: média; DP: desvio-padrão

O *swab* com ponta de *rayon* estéril foi escolhido como método de coleta por se mostrar mais eficiente na captação de saliva, absorvendo o conteúdo da cavidade oral sem causar lesões, dor e soltar partículas que pudessem interferir na análise das amostras.

O método de captação da saliva por capilar e pipeta descartável não foi bem aceito pelos responsáveis pela possibilidade de causar lesões e dor, e não possibilitaram uma maior coleta de conteúdo salivar, já que, antes da fase oral (dentição) a produção de saliva é diminuída nos lactentes.

Após a preparação do material, as amostras foram medidas uma única vez. A Figura 1 apresenta o espectro médio de cada grupo.

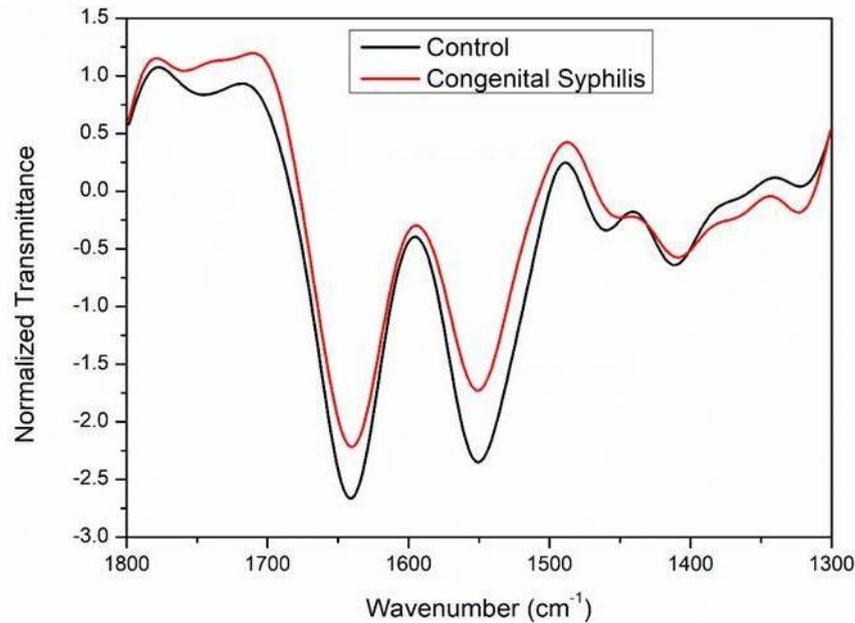


Figura 1. Espectros FTIR médios para grupos de sífilis congênita (linha vermelha) e controle (linha preta). Os espectros foram normalizados por SNV e suavizados por IFFT com um corte em 10 Hz.

Os espectros médios de FTIR para controle e sífilis congênita, Figura 1, exibem as mesmas bandas vibracionais dentro da faixa espectral analisada para ambos os grupos. Diferenças sutis na intensidade relativa das bandas menores são observadas, sugerindo mudanças nos modos vibracionais das moléculas na amostra. Essas alterações nos modos vibracionais podem estar associadas à presença de novas moléculas nas amostras, como biomarcadores resultantes da resposta imune, ou podem indicar mudanças físico-químicas no ambiente, incluindo variações no pH e na concentração (Brito *et al.*, 2022; Pacher *et al.*, 2024). Embora essas características possam não ser suficientes para determinar o diagnóstico, elas certamente podem contribuir para a diferenciação do grupo em um estudo de análise multivariada.

As principais bandas em torno de 1640 e 1550 cm^{-1} são geralmente atribuídas aos grupos Amida I e Amida II de moléculas de proteína, como IgG (imunoglobulinas) (Brito *et al.*, 2022; Pacher *et al.*, 2024; Loo *et al.*, 2010). As pequenas variações de intensidade observadas na Figura 1 são provavelmente atribuíveis a diferenças de concentração entre amostras de saliva de SC e controle, em vez de representar uma marca registrada diagnóstica, pois exibem intensidades relativas semelhantes. A banda em 1640 cm^{-1} corresponde às vibrações de

alongamento C=C e C=O, enquanto a banda em 1550 cm^{-1} está associada ao alongamento de NO e à curvatura de NH, principalmente ligadas às proteínas IgG, que desempenham um papel significativo na resposta imune à sífilis, apesar das similaridades espectrais observadas em suas bandas.

As quatro bandas menores observadas na faixa de 1500 a 1300 cm^{-1} , juntamente com a banda de 1750 cm^{-1} GSC, parecem mudar para energia mais alta e exibir mudanças sutis na intensidade relativa quando comparadas aos espectros de FTIR do GC. A banda de 1750 cm^{-1} e 1400 cm^{-1} é atribuída ao alongamento C=O, comumente associado ao grupo Amida I encontrado em proteínas, ácidos graxos, fosfolipídios e lipídios. A banda de 1450 cm^{-1} é atribuída à curvatura em tesoura CH e COO alongamento simétrico, geralmente relacionado à Amida II em aminoácidos, proteínas e lipídios. O pequeno ombro em torno de 1375 cm^{-1} pode ser atribuído ao alongamento simétrico COO, curvatura simétrica CH de aminoácidos e proteínas, como IgG, IgA e IgM. Finalmente, a banda de 1330 cm^{-1} pode ser atribuída ao alongamento do CN e à flexão do OH dos grupos Amida II (Larios *et al.*, 2021; Marangoni-Ghoreyshi *et al.*, 2023). Algumas dessas bandas (1450 , 1400 e 1375 cm^{-1}) também podem estar associadas a citocinas, que são importantes na resposta imune à sífilis (Vasquez-Zapien *et al.*, 2022).

Em resumo, os espectros FTIR médios de ambos os grupos exibem diferenças claras, como antecipado. A espectroscopia FTIR fornece informações vibracionais moleculares detalhadas que refletem a composição das amostras. A resposta imune à sífilis é notavelmente complexa, envolvendo mecanismos inatos e adaptativos que introduzem uma ampla gama de novas moléculas no sistema biológico. Essas descobertas foram demonstradas usando amostras de saliva, apesar de sua natureza altamente diluída, que ainda contém uma variedade diversa de moléculas (Paiva; Folds; Baseman, 1978; Salazar *et al.*, 2007). A sífilis altera significativamente a composição molecular da saliva, conforme evidenciado pela presença e quantificação do DNA de *T. pallidum* e proteínas associadas na literatura (Wang *et al.*, 2021; Mulder Van Staden *et al.*, 2022).

Para enfatizar as diferenças de FTIR entre os dois grupos, os dados espectrais de cada amostra foram resumidos usando análise de componentes principais (PCA). O gráfico de pontuação PC1 \times PC2 \times PC3, mostrado na Figura 2, é responsável por 88,8% da variância dos dados e ilustra como amostras individuais se correlacionam entre si, formando clusters distintos. A separação entre esses clusters destaca as diferenças entre os grupos.

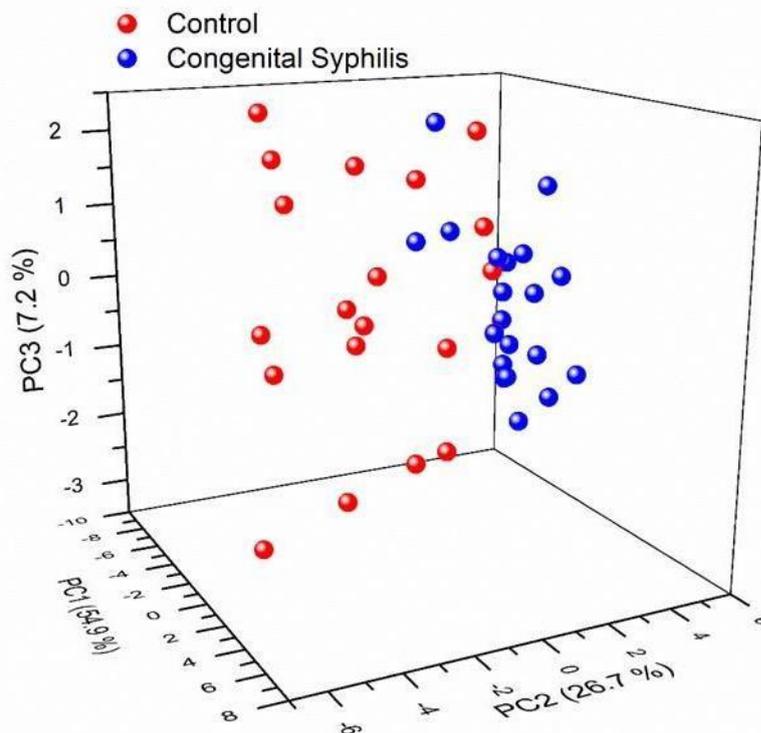


Figura 2. Gráfico de dispersão das três primeiras componentes principais (CP) para as amostras de sífilis (esfera azul) e controle (esfera vermelho).

Uma observação adicional notável diz respeito à variância do grupo: o GC exibe maior dispersão no gráfico 3D, provavelmente refletindo a alta variabilidade nas características inatas entre os indivíduos. Embora esses indivíduos não estejam infectados com *T. pallidum*, eles podem apresentar outras condições imunológicas. Por outro lado, o grupo infectado por *T. pallidum* (GSC) forma um cluster mais coeso e compacto, indicando menor variância em comparação ao GC. Essa análise visual inicial é fundamental para avaliar a variância das amostras e seu potencial para uma discriminação eficiente em modelos de aprendizado de máquina.

Para investigar mais a fundo a correlação entre os espectros FTIR originais e a separação de agrupamento, os gráficos de carga para os três primeiros componentes principais (PCs), mostrados na Figura 3, destacam os principais números de onda que contribuem para a variância dos dados. Essas contribuições podem ser positivas ou negativas em todo o intervalo espectral. Um exame detalhado dos gráficos de carga revela que as sete bandas vibracionais identificadas nos espectros FTIR contribuem significativamente para a variância capturada pelos três primeiros PCs. A maior variância está associada às bandas Amida I em 1640 e 1550 cm^{-1} . Além disso, as bandas menores desempenham um papel mais proeminente em PC2 e PC3, com a

banda de 1700 cm^{-1} mostrando uma contribuição particularmente forte para PC3. Coletivamente, essas contribuições são cruciais para agrupar as amostras e diferenciar os grupos, conforme demonstrado na Figura 2.

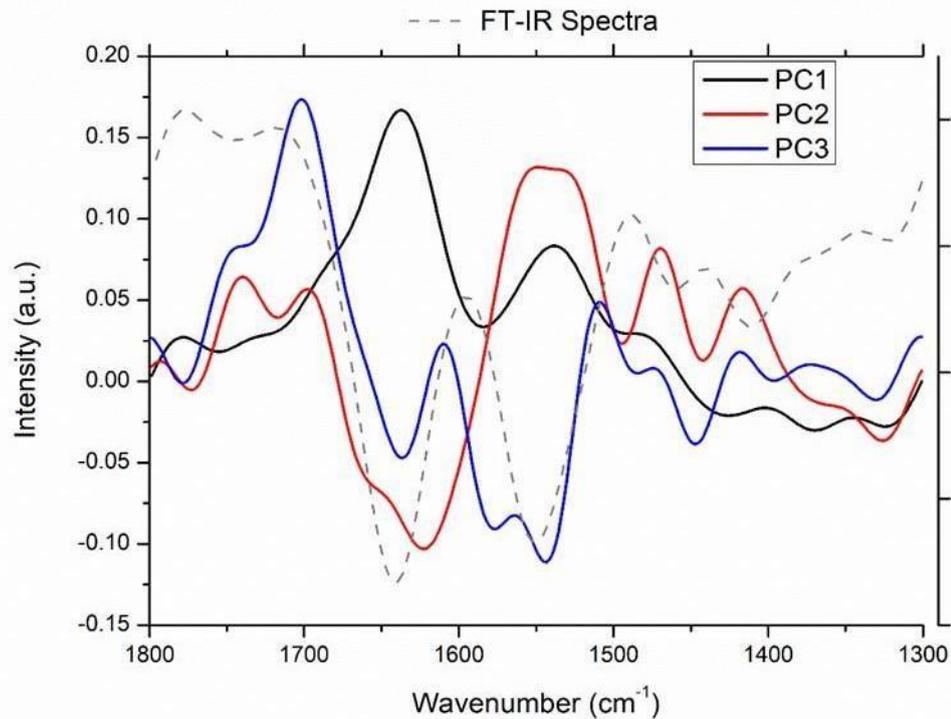


Figura 3. Gráficos dos *loadings* das três primeiras componentes principais (CP), destacando as bandas vibracionais mais relevantes.

Além da tendência de separação observada entre os grupos na Figura 2, os clusters não apresentam um limite claro, com algumas amostras se sobrepondo na mesma região.

Para obter uma classificação de amostra mais precisa, aplicamos algoritmos de aprendizado de máquina baseados em modelos de Máquina de Vetor de Suporte (SVM). A SVM identifica um hiperplano de separação entre os dois grupos e, com base na distribuição no gráfico de pontuação, selecionamos uma função quadrática para definir esse limite. O desempenho da SVM Quadrática foi avaliado usando o método de validação cruzada leave-one-out (LOOCV). Um processo de busca em grade foi conduzido para otimizar o número de componentes principais (PCs) e avaliar várias opções de classificação de SVM, incluindo kernels lineares, quadráticos, cúbicos e gaussianos (Ciocci *et al.*, 2024). Outros classificadores, como K-Nearest Neighbors (KNN), Análise Discriminante Linear e Quadrática e Árvore de Decisão, também foram testados; no entanto, eles demonstraram desempenho inferior. A configuração que produziu o melhor desempenho de classificação durante a validação cruzada leave-one-out (LOOCV) foi o modelo SVM quadrático usando os cinco primeiros PCs.

Aumentar o número de PCs como variáveis latentes no modelo resultou em um declínio na precisão, sugerindo *overfitting*. Os cinco primeiros componentes principais foram usados como variáveis de entrada para o SVM, que coletivamente representaram 95,83% da variância cumulativa nos dados.

O desempenho do modelo é resumido na matriz de confusão apresentada na Figura 4.

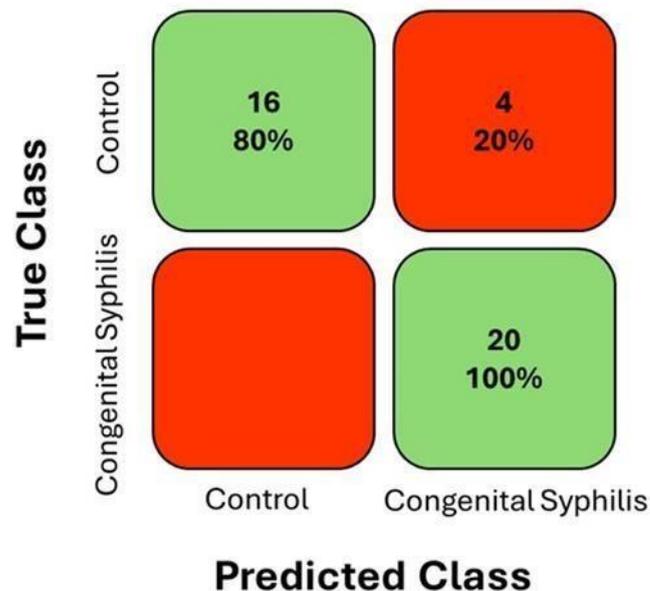


Figura 4. Matriz de confusão para treinamento e validação com LOOCV e o classificador SVM Quadrático.

Os resultados demonstram 90% de precisão, 100% de sensibilidade e 80% de especificidade, com uma taxa de erro consistente principalmente devido a diagnósticos falso-positivos, destacando o potencial deste método como uma ferramenta de triagem. A abordagem provou ser robusta, não gerando diagnósticos falso-negativos para sífilis, garantindo a identificação confiável de casos positivos. Embora quatro amostras do GC tenham sido classificadas erroneamente como positivas para sífilis, esta não é uma grande preocupação, pois o objetivo principal é usar algoritmos de FTIR e AM como ferramenta de triagem. Em um ambiente clínico, resultados falso-positivos podem levar à confirmação por meio de técnicas de referência, enquanto diagnósticos negativos fornecem alta certeza. Portanto, este método se mostra promissor como uma ferramenta de triagem rápida para sífilis com coleta de amostra minimamente invasiva, auxiliando na identificação precoce de casos positivos que requerem investigação clínica adicional.

Apesar de não terem sido encontrados na literatura estudos que buscassem biomarcadores de SC na saliva, através do uso de FTIR + AM, alguns autores trazem pesquisas

de biomarcadores para sífilis em lesões de pele, sangue, líquido, urina, com descobertas que ainda carecem de validação. Sansão *et al.* (1990) investigaram a resposta imune em neonatos com SC e grupo controle sugerindo um papel da atividade das células B em SC. Da Silva *et al.* (2024) avaliaram a acurácia do FTIR associado a AM via saliva para triagem de diabetes e periodontite, aonde foi possível classificar pacientes saudáveis em uma faixa de 78 a 93% de precisão. Para câncer oral, Rekha *et al.* (2016) utilizou a técnica de FTIR na saliva, encontrando uma precisão diagnóstica de 93,1%. Biworo *et al.* 2018, investigaram sepse neonatal na saliva de 60 RNs e grupo controle, usando o FTIR, encontrando danos as proteínas na sepse. Yunato *et al.* 2019 também identificaram danos proteicos em neonatos com sepse, através da espectroscopia FTIR de saliva. Rodrigues *et al.* 2019 estudaram padrões espectrais de FTIR na saliva de mulheres com síndrome da boca ardente, encontrando aumento das taxas de ácido nucleico e tiocianato em relação a mulheres saudáveis. A assinatura FTIR de saliva na covid-19 foi desenvolvida através do FTIR por Kazmer *et al.* 2022, fornecendo informações bioquímicas amplas e mostrando a resposta fisiopatológica à infecção.

Em relação ao tempo necessário para realizar o procedimento (90 min coleta e análise), material utilizado (*swab*, espectômetro, computador) e pessoal especializado (pode ser feito por pessoa treinada), custos (média R\$ 1,50 cada exame) a técnica se mostra superior ao exame padrão ouro (VDRL), que leva de 24h a 7 dias para sair o resultado e custa em média R\$ 20,00. E tem a vantagem de não ser invasivo, facilitando a coleta e a aceitação e de poder ser feito no local de coleta estando disponível um aparelho espectômetro portátil.

Para a área clínica, o protocolo traz eficiência, rapidez e confiabilidade, possibilitando um início de tratamento precoce, evitando danos maiores ao lactente e diminuindo o tempo de internação e conseqüentemente os custos hospitalares. Além disso, os diagnósticos baseados em saliva podem ser particularmente úteis em cenários nos quais os métodos diagnósticos tradicionais não estão disponíveis ou não são viáveis, como áreas remotas ou com recursos limitados.

Biomarcadores na saliva de crianças com SC ainda não foram investigados e, apesar das crescentes tentativas de identificar novos biomarcadores da sífilis, os dados disponíveis na literatura, não sustentam o uso clínico na tomada de decisões. Para a evolução nessa área, biomarcadores de SC, específicos para *T. pallidum*, devem ser identificados e estudados para desfechos clinicamente significativos. Porém apesar dessas limitações, biomarcadores não específicos já podem ser usados como complemento no diagnóstico e manejo da doença.

Este é, até aonde sabemos, o primeiro relatório sobre o uso potencial de espectros de FTIR de saliva para um teste de triagem minimamente invasivo para sífilis congênita. Portanto,

é necessário validar e melhorar as realizações deste estudo. Pesquisas futuras devem se concentrar na expansão do tamanho da amostra por meio de estudos multicêntricos para melhor generalização, aprimorando técnicas de pré-processamento para melhorar a qualidade do sinal e testando modelos alternativos de aprendizado de máquina para otimizar o desempenho da classificação. A validação independente com conjuntos de dados externos e a exploração de biomarcadores específicos por meio de métodos complementares como proteômica podem fortalecer as descobertas. Estudos longitudinais devem avaliar a estabilidade dos biomarcadores espectrais, enquanto comparações diretas com os atuais testes diagnósticos padrão-ouro estabelecerão a relevância clínica. O desenvolvimento de ferramentas fáceis de usar para análise em tempo real, a realização de análises de custo-benefício e a exploração do potencial do FTIR para triagem de múltiplas doenças apoiarão ainda mais sua integração na prática clínica.

6 CONCLUSÃO

As amostras coletadas, divididas em dois grupos — controle e sífilis congênita — demonstraram que, apesar da ausência de marcadores específicos evidentes, houve diferenças nos padrões espectrais entre os grupos, sugerindo potencial separação. A técnica complementar de PCA apoiou esses achados, corroborando a análise visual inicial e destacando a variância entre as amostras. As cargas enfatizaram ainda mais as principais bandas vibracionais que contribuem para a separação, reforçando as diferenças observadas entre os grupos. Na validação do protocolo, os resultados mostraram uma precisão de 90%, com uma taxa de erro consistente principalmente em diagnósticos falso-positivos, garantindo alta confiabilidade na identificação de casos negativos.

Pode-se concluir, que o protocolo proposto possui confiabilidade diante dos testes mencionados e aplicados, podendo ser um potencial modelo de diagnóstico rápido, sensível, específico, fácil de usar e menos custoso para diagnosticar a sífilis congênita precoce.

Um resumo da análise e precisão é ilustrado na Figura 5.

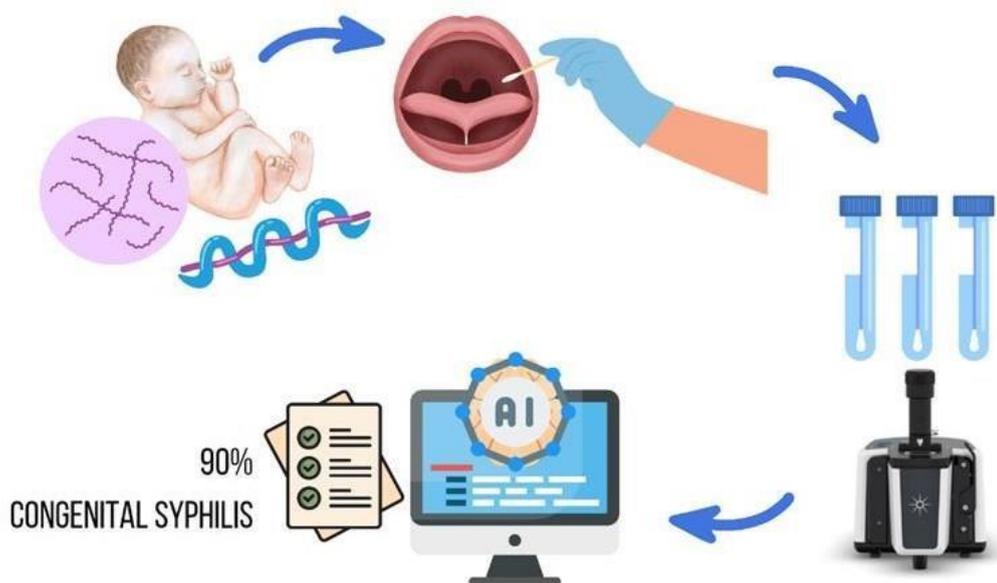


Figura 5. Resumo ilustrativo dos procedimentos do estudo, análise e resultado da precisão.

REFERÊNCIAS

- AHMED, S.; ALBAHRI, J.; SHAMS, S.; SOSA-PORTUGAL, S.; LIMA, C.; XU, Y.; MCGALLIARD, R.; JONES, T.; PARRY, C. M.; TIMOFTE, D.; CARROL, E. D.; MUHAMADALI, H.; GOODACRE, R. **Rapid classification and differentiation of sepsis related pathogens using FT-IR spectroscopy.** *Microorganisms*. v. 12. n. 7. p. 1415. 2024. doi: 10.3390/microorganisms12071415. PMID: 39065183; PMICD: PMC 11279078.
- AL-KELANI, M.; BUTHELEZI, N. **Advancements in medical research: exploring Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy for tissue, cell, and hair sample analysis.** *Skin Res Technol*. v. 30. n. 6. e13733. 2024. doi: 10.1111/srt.13733. PMID: 38887131; PMCID: PMC 11182784.
- ALLEGRETTA, I.; MARANGONI, B.; MANZARI, P.; PORFIDO, C.; TERZANO, R.; DE PASCALE, O.; SENESI, G. S. **Macro-classification of meteorites by portable energy dispersive X-ray fluorescence spectroscopy (pED-XRF), principal component analysis (PCA) and machine learning algorithms.** *Talanta*. v. 212. 120785. 2020.
- ANDRADE, A. L. M. B.; MAGALHÃES, P. V. V.; MORAES, M. M.; TRESOLDI, A. T.; PEREIRA, R. M. **Diagnóstico tardio da sífilis congênita: uma realidade na atenção à saúde da mulher e da criança no Brasil.** *Ver. Paul. Pediatr*. v. 36. n. 3 p. 376-381. 2018. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1984-0462/2018;36;3;00011>.
- AVELLEIRA, J. C. R.; BOTTINO, G. **Sífilis: diagnóstico, tratamento e controle.** *Anais Bras. Dermatol*. v. 81. n. 2. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abd/v8/n2/v81n02a02.pdf>>. Acesso em: 17 mar. 2023.
- BAKER, M. J.; HUSSAIN, S. R.; LOVERGNE, L.; UNTEREINER, V.; HUGHES, C.; LUKASZEWSKI, R. A.; THIÉFIN, G.; SOCKALINGIM, G. D. **Developing and understanding biofluid vibrational spectroscopy: a critical review.** *Chemical Society Reviews*. v. 45. p. 1803-1818. 2016. doi: 10.1039/C5CS00585J.
- BERNARDESHI, C.; GRANGE, P. A.; JAWIER, M.; GRESSIER, L.; DION, P. L.; BENHADDOU, N.; BIANCHI, A.; LASSAU, F.; AVRIL, M. F.; BATTEUX, F.; DUPIN, N. **Treponema pallidum induces systemic TH17 na TH1 cytokine responses.** *Nov. 2012. v. 22. p. 797-8.* doi: 10.1684/ejd.2012.1841.
- BEZERRA, L. F.; SOUZA, D. M. N. de A.; LINHARES, J. M. de O. T.; ROCHA, L. F.; FARINHA, N. F. G.; OLIVEIRA, R. S. de.; MOURA, T. M.; ROCHA, C. H. R da. **A abordagem clínica e terapêutica da sífilis congênita: uma revisão de literatura.** *Ver. Med Saúde Brasília*. v. 9, n. 2, p. 307-321. 2020.
- BIWORO, A.; AZIZI, N.; PADELIA, R.; RAHARJO, M.; AZIMA, O.; SUHARTONO, E. **Anti-metalotoxix Properties of kelokai (Stenochlaena Palustris) leaves extract againts cadmuem-induced liver tissue danage.** *Asian J. Pharm. Clin. Res. Nov. 2018. v. 11. p. 43-46.* doi: 10.22159/ajpcr:2018.v1153.30028.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. **Diretrizes para controle de sífilis congênita: manual de bolso.** 2. ed – Brasília – Ministério da Saúde, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Manual técnico para diagnóstico de sífilis.** Brasília – Ministério da Saúde, 2016.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas para atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis - Brasília – Ministério da Saúde.** 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde e Ambiente. Departamento de Doenças de HIV/AIDS, Tuberculose, Hepatites Virais e Infecções Sexualmente Transmissíveis. **Boletim Epidemiológico - Sífilis 2024.** Número especial/out. 2024. ISSN 2358-9450. Disponível em: <http://www.gov.br/aids/pt.br/central-de-conteudo/boletins-epidemiologicos/2024/boletim_sifilis_2024-e.pdf/view>. Acesso em 06 de novembro 2024.
- CAMERON, J. M.; BUTLER, H. J.; PALMER, D. S.; BAKER, M. J. **Biofluid spectroscopic disease diagnostics: a review on the processes and spectral impact of drying.** *J. Biophotonics*. v. 11. n. 4. p. e201700299. Abr. 2018.
- CIOCCIA, G.; WENCESLAU, R.; RIBEIRO, M.; SENESI, G. S.; CABRAL, J. S.; NICOLODELLI, G.; CENA, C. R.; MARANGONI, B. **Probabilistic-based identification of gunshot residues (GSR) using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) and Support Vector Machine (SVM) algorithm.** *Microchem J*. v. 207, p. 112142. 2024.

COOPER, J. M.; SÁNCHEZ, P. J. **Congenital syphilis**. *Seminars in perinatology*. Semin Perinatol. v. 42. n. 3. p. 176-184. 2018. doi: <https://doi.org/10.1053/j.semperi.2018.02.005>.

COSTA, C. C. **Elaboração, validação e efeitos de intervenção educativa voltada ao controle da sífilis congênita**. 2016. 271 f. Tese (Doutorado em Enfermagem) - Faculdade de Farmácia, Odontologia e Enfermagem, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

COSTA, R. S. de L.; ARAÚJO, A. de S.; ITANI, A. P. B. **Consequences of congenital syphilis for the newborn: a review study**. *Revista Ciência (In) Cena*. On-line ISSN 2317-0816. v. 1 n. 16. Salvador - Bahia. 2022.

DA SILVA, S. M. S. D.; FERREIRA, C. L.; RIZZATO, J. M. B.; TOLEDO, G. D. S.; FURUKAWA, M.; ROVAI, E. S.; NOGUEIRA, M. S.; CARVALHO, L. F. D. C. E. S. **Infrared spectroscopy for fast screening of diabetes and periodontitis**. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. v. 46. p. 104106. 2024. doi: [10.1016/j.pdpdt.2024.104106](https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2024.104106).

DAS CHAGAS E SILVA DE CARVALHO, L. F.; DE LIMA MORAIS, T. M.; NOGUEIRA, M. S. **Providing potential solutions by using FT-IR spectroscopy for biofluid analysis: clinical impact of optical screening and diagnostic tests**. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. v. 44. p.103-153. 2023. doi: [10.1016/j.pdpdt.2023.103753](https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2023.103753).

DE BRITO, E. C. A.; FRANCA, T.; CANASSA, T.; WEBER, S. S.; PANIAGO, A. M. M.; CENA, C. **Paracoccidioidomycosis screening diagnosis by FTIR spectroscopy and multivariate analysis**. *Photodiagnosis Photodyn Ther*. v. 39, p. 102921. 2022.

DE LIMA, M. P.; DANTAS, R. V. F.; MENDES, J. L.; NETO, R. E. da C.; JÚNIOR, J. A. de L.; DE SOUZA, S. L. X. **Salivary biomarkers for the diagnosis and monitoring of oral and systemic diseases**. *Rev. cuba. estomatol*. v. 57. n. 1. E2139. 2020.

DEL RUE, C.; SPEECKAERT, R.; OYAERT, M.; KERRE, T.; ROTTEY, S.; COOPMAN, R.; HUVENNE, W.; DE BRUYNE, S.; SPEECKAERT, M. M. **Infrared spectroscopy: a new frontier in hematological disease diagnosis**. *Int J Mol Sci*. v. 24. n. 23. p. 17007. 2023. doi: [10.3390/ijms242317007](https://doi.org/10.3390/ijms242317007).

DEL-VALLE, M.; SANTOS, M. O. DOS.; SANTOS, S. N. DOS.; CASTRO, P. A. A. DE.; BERNARDES, E. S.; ZEZELI, D. M. **The impact of scan number and its preprocessing in micro-FTIR imaging when applying machine learning for breast cancer subtypes classification**. *Vibrational Spectroscopy*. v. 117. 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2021.103309>.

DHAKAL A.; SBAR E. **Jarisch-Herxheimer Reaction**. In: StatPearls. Treasure Island (FL): Stat Pearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 32491752.

DOMINGUES, C. S. B.; DUARTE, G.; PASSOS, M. R. L.; SZTAJNBOK, D. C. dos N. **Protocolo brasileiro para infecções sexualmente transmissíveis 2020: sífilis congênita e criança exposta à sífilis**. *Epidemiol. Serv. Saúde*. v. 30. 2021. doi: <https://doi.org/10.1590/S1679-4974202100005.esp1>.

DOUGAN, J. A.; FAULDS, K. **Surface enhanced Raman scattering for multiplexed detection**. *Analyst*. v. 137. p. 545-554. 2012. doi: <https://doi.org/10.1039/C1AN15755H>.

FERREIRA, L. J. M. **Infecção por treponema pallidum: análise sorológica e pesquisa de DNA**. 2013. 84 f. Tese de mestrado – Unidade de doenças sexualmente transmissíveis do instituto de higiene e medicina tropical. Universidade Nova Lisboa. Lisboa, 2013. Disponível em: <https://run.unl.pt/bistrean/10362/963311/Ferreira%20Lino%20TM%202013.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2023.

FREYNE, B. M.; NOURSE, C. F.; WALLS, T. F. **Congenital Syphilis: controversies and questions: a global perspective**. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. v. 42. n. 5. e166-e169. 2023. doi: [10.1097/INF.0000000000003808](https://doi.org/10.1097/INF.0000000000003808).

GÉLI, V.; NABET, N. **Saliva, a molecular reflection of the human body? implications for diagnosis and treatment**. *Cell Stress*. v. 27. n. 8. p. 59-68. 2024. doi: [10.15698/cst2024.05.297](https://doi.org/10.15698/cst2024.05.297).

- GILMOUR, L. S.; WALLS, T. **Congenital syphilis: a review of global epidemiology.** Clin Microbiol Rev. v. 36. n. 2. e0012622. 2023. doi: 10.1128/cmr.00126-22.
- HUMBERTO, J. S. M.; PAVANIN, J. V.; ROCHA, M. J. A.; MOTTA, A. C. F. **Cytokines, cortisol, and nitric oxide as salivary biomarkers in oral lichen planus: a systematic review.** Braz Oral Res. v.32. n. 82. p. 1-11. 2018.
- HERAUD, P.; CHATCHAWAL, P.; WONGWATTANAKUL, M.; TIPPAYAWAT, P.; DOERIG, C.; JEANANAIKOON, P.; PEREZ-GUAITA, D.; WOOD, B. R. **Infrared spectroscopy coupled to cloud-based data management as a tool to diagnose malaria: a pilot study in a malaria-endemic country.** Malar J. v. 16. n.18. p.348. 2019. doi: 10.1186/s12936-019-2945-1.
- HU, W. L.; REN, H.; XU, B. F.; ZHANG, J. P.; ZHANG, R. L.; WANG, Q. Q.; ZHANG, T. T. **Evaluation of IL-17^a, IL-17F, IL-23R, VDR, CCL2, CCL5, CCR2, and CCR5 gene polymorphisms and expression.** In: chinese individuals with syphilis. J Cell Biochem. Dec. 2018. v. 119. p. 10151-10164. doi: 10.1002/jcb.27352. Epub 2018.
- KAZMER, S. T.; HARTEL, G.; ROBINSON, H.; RICHARDS, R. S.; YAN, K.; VAN HAL, S. J.; CHAN, R.; HIND, A.; BRADLEY, D.; ZIESCHANG, F.; RAWLE, D. J.; LE, T. T.; REID, D. W.; SUHRBIER, A.; HILL, M. **M. Pathophysiological response to SARS-CoV-2 infection detected by infrared spectroscopy enables rapid and robust saliva screening for COVID-19.** 2022. Biomedicines, v. 10. p. 351. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10020351>.
- LARIOS, G.; RIBEIRO, M.; ARRUDA, C.; OLIVEIRA, S. L.; CANASSA, T.; BAKER, M. J.; MARANGONI, B.; RAMOS, C.; CENA, C. **A new strategy for canine visceral leishmaniasis diagnosis based on FTIR spectroscopy and machine learning.** J Biophotonics. v. 14, n. 11, p. e202100141. 2021.
- LEAL, L. B.; NOGUEIRA, M. S.; CANEVARI, R. A.; CARVALHO, L. F. C. S. **Vibration spectroscopy and body biofluids: literature review for clinical applications.** Photodiagnosis Photodyn. Ther. v. 24. p. 237-244. Dez. 2018.
- LEVINSON, W. **Microbiologia médica e imunológica.** 13. ed. São Paulo: AMGH, 2016. cap. 24. p. 196-203.
- LIMA, B. G. C. **Mortalidade por sífilis nas regiões brasileiras em 1980-1995.** Jor Bra Pat Med Lab. v. 38. n. 4. p. 267-271. 2002.
- LINS, S. D M. **Epidemiologia da sífilis gestacional e congênita no extremo septentrional da Amazônia. 2014.** 72f. Tese de mestrado – Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde. Universidade Federal de Roraima. Boa Vista, 2014. Disponível em: <http://www.bdtf.ufr.br/tde_arquivos/6/TDE-2014-07-14T120900Z-166/Publico/CynthiaDantasdeMacedoLins.pdf>. Acesso em: 06 mar. 2023.
- LIU, J.; CHENG, H.; LV, X.; ZHANG, Z.; ZHENG, X.; WU, G.; TANG, J.; MA, X.; YUE, X. **Use of FT-IR spectroscopy combined with SVM as a screening tool to identify invasive ductal carcinoma in breast cancer.** Optik. v. 204. 164225. 2020.
- LOO, J. A.; YAN, W.; RAMACHANDRAN, P.; WONG, D. T. **Comparative human salivary and plasma proteomes.** J Dent Res. v. 89, n. 10, p. 1016-23. 2010.
- LORENZ, Z. W. M. D.; NIJHAR, S. B. S.; CAUFIELD-NOLL, C. M. A-S.; GHANEM, K. G. M. D.; HAMILL, M. M. **The utility of biomarkers in the clinical management of syphilis: a systematic review.** Sexually Transmitted Diseases. v. 50. n. 8. p. 472-478. 2023. doi: 10.1097/OLQ.0000000000001813.
- LUKOSE, J.; PAVITHRAN, M. S.; MITHUN, N.; BARIK, A. K.; PAI, K. A.; UNNIKISHNAN, V. K.; GEORGE, S. D.; KARTHA, V. B.; CHIDANGIL, S. **Photonics of human saliva: potential optical methods for the screening of abnormal health conditions and infections.** Biophysical Reviews. v. 13. p. 359-385. 2 Jun. 2021. doi: 10.1007/5/255021-00807-8.
- LUO, Z.; DING, Y.; YUAN, J.; WU, Q.; TIAN, L.; ZHANG, L.; Li, B; Mou, J. **Predictors of seronegative conversion after centralized management of syphilis patients in shenzhen, china.** Front Public Health. v. 9. e755037. p. 1-7, 2021. doi: 10.3389/fpubh.2021.755037.

- MADI, J. M.; BALDISSEROTTO, F. D. G.; ESTIVALET, F. F.; ALMEIDA, F. O. de.; KAMPF, F. L.; FACHINELLO, G. Z. **Sífilis no ciclo gestacional: revisão das atuais tendências epidemiológicas, motivadas pelas diferentes evoluções de 3 casos relatados.** Rev. Cient. AMECS. v. 8. n. 1. p. 47-54. 1999.
- MAITRA, I.; MORAIS, C. L. M.; LIMA, K. M. G.; ASHTON, K. M.; BURY, D.; DATE, R. S.; MARTIN, F. L. **Attenuated total reflection Fourier-transform infrared spectral discrimination in human tissue of oesophageal transformation to adenocarcinoma.** Journal of personalized medicine. aug. 2023. v. 13. p. 1277. doi: 10.3390/jpm13081277.
- MARANGONI-GHOREYSHI, Y. G.; FRANCA, T.; ESTEVES, J.; MARANNI, A.; PEREIRA, P. K. D.; CENA, C.; LEAL, C. R. B. **Multi-resistant diarrheagenic *Escherichia coli* identified by FTIR and machine learning: a feasible strategy to improve the group classification.** RSC Adv. v. 13, n. 36, p. 24909-24917. 2023. doi: 10.1039/d3ra03518b. PMID: 37608796; PMCID: PMC10440836.
- MARTINEZ-CUAZITL, A.; VAZQUEZ-ZAPIEN, G. J.; SANCHEZ-BRITO, M.; LIMON-PACHECO, J. H.; GUERRERO-RUIZ, M.; GARIBAY-GONZALEZ, F.; DELGADO-MACUIL, R. J.; DE JESUS, M. G. G.; CORONA-PEREZGROVAS, M. A.; PEREYRA-TALAMANTES, A.; MATA-MIRANDA, M. M. **ATR-FTIR spectrum analysis of saliva samples from COVID-19 positive patients.** Sci Rep. v. 7. n. 11. e19980. 2021. doi: 10.1038/s41598-021-99529-w.
- MOHSIN, G. F.; SCHMITT, F. J.; KANZLER, C.; HOEHL, A.; HORNEMANN, A. **PCA-based identification and differentiation of FTIR data from model melanoidins with specific molecular compositions.** Food Chemistry. v. 281. p. 106-113. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.12.054>.
- MOSELEY, P.; BAMFORD, A.; EISEN, S.; LYALL, H.; KINGSTON, M.; THOME, C.; PIIFERA, C.; RABIE, H.; PRENDERGAST, A. J.; KADAMBARI, S. **Ressurgence of congenital syphilis: new strategies against na old foe.** Lancet. 2023. doi: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(23\)00314-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(23)00314-6).
- MULDER V. S. S.; DE VILLIERS, C.; ALWAN, J.; MOLOI, M.; MAHLANGU, S. **Omanifestations of syphilis: report of four cases.** Pathogens. v. 11, n. 6, p. 612. 2022.
- NETO, J. C.; SILVA, L. H. S. de B.; DOS SANTOS, R. V. **Fatores epidemiológicos da ocorrência de sífilis no Brasil: uma visão panorâmica da última década.** Unit-Al Bio. Maceió. p. 1-13. 2020.
- NEWTON, J.; SILENCE, C.; BOETES, J.; COHEN, B. A. **Mucocutaneous manifestations of congenital syphilis in the neonate: a review of a surging disease.** Pediatr Dermatol. v. 40. n. 2. p. 238-241. 2023. doi: 10.1111/pde.15228. Epub 2023 Dec 30. PMID: 36583308.
- OLIVEIRA, V. D. S.; RODRIGUES, R. L.; CHAVES, V. B.; DOS SANTOS, T. S.; DE ASSIS, F. M.; TERNES, Y. M. F.; DE AQUINO, É. C. **High-risk clusters and temporal trends in congenital syphilis infection in Brazil.** Rev Panam Salud Publica. v. 6. n. 44. e75. 2020. doi: 10.26633/RPSP.2020.75. PMID: 32818032; PMCID: PMC7425818.
- OSBAK, K. K.; VAN RAEMDONCK, G. A.; DOM, M.; CAMERON, C. E.; MEEHAN, G. J.; DEFORCE, D.; OSTADE, X. V.; KENYON, C. R.; DHAENENS, M. **Candidate *Treponema pallidum* biomarkers uncovered in urine from individuals with syphilis using mass spectrometry.** Future Microbio. Oct. 2018. v. 13. p. 1497-1510. doi: 10.2217/fmb-2018-0182. Epub 2018 oct 12. PMID: 30311792; PMCID: PMC6367768.
- PACHER, G.; FRANCA, T.; LACERDA, M.; ALVES, N. O.; PIRANDA, E. M.; ARRUDA, C.; CENA, C. **Diagnosis of cutaneous leishmaniasis using ftir spectroscopy and machine learning: an animal model study.** ACS Infect Dis. v. 10, n. 2, p. 467-474. 2024.
- PAIXÃO, E. S.; FERREIRA, A. J. F.; DOS SANTOS, I. O.; RODRIGUES, L. C.; FIACCONE, R.; SALVI, L.; OLIVEIRA, G. L. DE; SANTANA, J. G.; CARDOSO, A. M.; TELES, C. A. DE S. S.; SOARES, S. A.; AMARAL, E.; SIMEETH, L.; BARRETO, M. L.; ICHIHARA, M. Y. **Mortality in children under 5 years of age with congenital syphilis in Brazil: a nationwide cohort study.** PLoS Med. v. 20. n. 4. e1004209. 2023. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1004209>.
- PAVIA, C. S.; FOLDS, J. D.; BASEMAN, J. B. **Cell-mediated immunity during syphilis. A review.** Sex Transm Infect. v. 54, p. 144-150. 1978.

PEELING, R. W.; MABEY, D.; CHEN, X. S.; GARCIA, P. J. **Syphilis**. *Lancet*. v. 22. n.4. p. 336-346. 2023. doi: 10.1016/50140-6736(22)02348-0.

REIS, W.; FRANCA, T.; CALVANI, C.; MARANGONI, B.; SILVA, E. C.; NOBRE, A.; NETTO, G.; MACEDO, G.; CENA, C. **Enhancing early identification of high-fertile cattle females using infrared blood serum spectra and machine learning**. *Nature Scientific Reports*. v. 14. 19446. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-024-70211-1>.

RIBEIRO, M. C.; CABRAL, J.; NICOLODELLI, G.; SENESI, G. S.; CAIRES, A. R. L.; GONÇALVES, D. A.; MENEGATTI, C.; MILORI, D.; CENA, C.; MARANGONI, B. **Discrimination of maize transgenic and non-transgenic varieties by laser induced spectroscopy (LIBS) and machine learning algorithms**. *Microchemical Journal*. v. 203. 110898. 2024.

REKHA, P.; ARUNA, P.; BRINDHA, E.; KOTEESWARAN, D.; BAIUDAVID, M.; GANESAN, S. **Near-infrared raman spectroscopy characterization of salivary metabolites in the discrimination of normal from oral premalignant and malignant conditions**. *J. Raman Spectrosc.* v. 47. p. 763-772. Apr. 2016. doi: 10.1002/jrs.4897.

RIOS, T. G.; LARIOS, G.; MARANGONI, B.; OLIVEIRA, S. L.; CENA, C.; RAMOS, C. A. N. **FTIR spectroscopy with machine learning: a new approach to animal DNA polymorphism screening**. *Science Direct*. v. 261. n. 15. 2021. doi: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120036>.

RODRIGUES, L. M.; ALVA, T. D. M.; DA SILVA MARTINHO, H.; ALMEIDA, J. D. **Analysis of saliva composition in patients with burning mouth syndrome (BMS) by FTIR spectroscopy**. *Vibrational Spectroscopy*. v. 100. p. 195-201. Jan. 2019. doi: 10-1016/j.vibspec.2018.12.002.

SALAZAR, J. C.; CRUZ, A. R.; POPE, C. D.; VALDERRAMA, L.; TRUJILLO, R.; SARAVIA, N. G.; RADOLF, J. D. **Treponema pallidum elicits innate and adaptive cellular immune responses in skin and blood during secondary syphilis: a flow-cytometric analysis**. *J Infect Dis*. v. 195, n. 6, p. 879-87. 2007.

SAMSON, G. R.; BEATTY, D. W.; MALAN, A. F. **Immune studies in infants with congenital syphilis**. *Clinical and experimental immunology*. fev. 1990. v. 81. p. 315-8. doi: 10.1111/j.1365-2249.1990.tb03337.x. PMID: 2143709; PMCID: PMC1535036.

SANKARAN, D.; PARTTRIDGE, E.; LAKSHMINRUSIMHA. **Congenital syphilis – na illustrative review**. *Children (Basel)*. v. 29. n.10. 2023. doi: 10.3390/children10081310. PMID: 37628309.

SARACENI, V.; GUIMARÃES, M. H. F. S.; THEME, M. M. F.; LEAL, M. do C. **Mortalidade perinatal por sífilis congênita: indicador de qualidade da atenção à mulher e à criança**. *Cad. Saúde Pública*. v. 21. n. 4. p. 1244-1250. 2005.

SCOTT, D. A.; RENAUD, D. E.; KRISHNASAMY, S.; MERIÇ, P.; BUDUNELI, N.; ÇETINKALP, S.; LIU, K. Z. **Diabetes-related molecular signatures in infrared spectra of human saliva**. *Diabetol Metab Syndr*. Jul. 2010. v. 2. p. 48-57. doi: 10.1186/1758-5996-2-48. PMID: 20630088; PMCID: PMC2914662.

STAFFORD, I. A.; WORKOWSKI, K. A.; BACHMANN, L. H. **Syphilis complicating pregnancy and congenital syphilis**. *N Engl J Med*. v. 18. n. 3. p. 242-253. 2024. doi: 10.1056/NEJMra2202762.

STARY, G.; KLEIN, I.; BRUGGEN, M-C.; KOHLHOFER, S.; BRUNNER, P. M.; SPAZIERER, D.; MULLAVER, L.; PETZELBAUER, P.; STINGL, G. **Host defense mechanisms in secondary syphilitic lesions: a role for IFN-gamma-/IL-17-producing CD8+T cells?** *The American Journal of Pathology*. Abr. 2010. v. 177. p. 2421-2432. doi: 10.2353/ajpath.2010.100277.

STUANI, V. T.; RUBIRA, C. M. F.; SANT'ANA, A. C. P.; SANTOS, P. S. S. **Salivary biomarkers as tools for oral squamous cell carcinoma diagnosis: a systematic review**. *Head Neck*. v. 39. n. 4. p. 797-811. 2017.

TABBASUM, S.; MAJEED, M. I.; NAWAZ, H.; RASHID, N.; TAHIRA, M.; MOHSIN, A.; ARIF, A.; HAQ, A. U.; SALEEM, M.; DASTGIR, G.; BATOOL, F.; BASHIR, S. **Surface-enhanced raman spectroscopy for**

comparison of serum samples of typhoid and tuberculosis patients of different stages. Photodiagnosis Photodyn Ther. v. 35. e102426. 2021. doi: 10.1016/j.pdpdt.2021.102426.

TONG, M. L.; LIU, D.; LIU, L. L.; LIN, L. R.; ZHANG, H. L.; TIAN, H. M.; YANG, T. C. **Identification of Treponema pallidum specific protein biomarkers in syphilis patient serum using mass spectrometry.** Future Microbiol. Sep. 2021. v16. p. 1041-1051. doi: 10.2217/fmb-2021-0172.

TUDOR, M. E.; AL ABOUD, A. M.; LESLIE, S. W.; GOSMAN, W. **Syphilis.** In: StatPearls [Internet]. Treasure nIsland (FL): StatPearls Publishing; 2023. Jan. PMID: 30521201.

VACCARI, A. **Epidemiologia, clínica e evolução de recém-nascidos com sífilis congênita.** Dissertação-Mestrado. Porto Alegre – RS. 2011.

VAN VOORHIS, W. C.; BARRETT, L. K.; KOELLE, D. M.; NASIO, J. M.; PLUMMER, F. A.; LUKEHART, S. A. **Primary and secondary syphilis lesions contain mRNA for Th1 cytokines.** The Journal of Infections Diseases. Feb. 1996. v. 173. p. 491-5. doi: 10.1093/infdis/173.2.491.

VAZQUES-ZAPIEN, Com, G. J.; MARTINEZ-CUAZITIL, A.; SANCHES-BRITO, M.; DELGADO-MACUIL, R. J.; ATRIANO-COLORADO, C.; GARIBAY-GONZALES, F.; SANCHES-MONROY, V.; LOPEZ-REYES, A.; MATA-MIRANDA, M. M. **Comparison of the Immune Response in Vaccinated People Positive and Negative to SARS-CoV-2 Employing FTIR Spectroscopy.** Cells. v.11, n. 23, p. 3884. 2022.

VERNACCIO, L. S. **Manual de Neonatologia.** 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2010.

WALKER, G. J.; WALKER, D. G. **Congenital syphilis: a continuing but neglected problem.** Semin Fetal Neonatal Med. v. 12. n. 3. p. 198-206. 2007. doi: 10.1016/j.siny.2007.01.019.

WANG, C.; HU, Z.; ZHENG, X.; YE, M.; LIAO, C.; SHANG, M.; GONG, W.; GUAN, Z.; LU, H.; GU, X.; SHI, M.; ZHOU, P. **A new specimen for syphilis diagnosis: evidence by high loads of Treponema pallidum DNA in saliva.** Clin Infect Dis. v. 2. n. 73. e3250-e3258. 2021. doi: 10.1093/cid/ciaa1613.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Implementing the global health sector strategies on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections, 2022-2030: report on progress and gaps.** Geneva: WHO, 2024. ISBN 978-92-4-009492-5(electronic version), 978-92-4-009493-2 (print version).

YANG, S. B.; MOREIRA, J.; LI, Z. **Predicting crude oil properties using fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and data-driven methods.** Digital Chemical Engineering. v. 3. 100031. 2022. doi: https://doi.org/10.1016/j.dche.2022.100031.

YUNANTO, A.; ISKANDAR, I.; UTAMA, A. A.; MUTHMAINNAH, N.; SUHARTONO, E. **Early detection of neonatal sépsis using Fourier transformation infrared spectroscopy (FTIR).** In: AIP Conference Proceedings. AIP Publishing. v. 2108. nº 1. Jun. 2019.

YOSHIZAWA, J. M.; SCHAFER, C. A.; SCHAFER, J. J.; FARRELL, J. J.; PASTER, B. J.; WONG, D. T. W. **Salivary Biomarkers: toward Future Clinical and Diagnostic Utilities.** Clin Microbiol Rev. v. 26. n. 4. p. 781-91. 2013.

ZAMORA-OBANDO, H. R.; GODOY, A. T.; AMARAL, A. G.; MESQUITA, A. de S.; SIMÕES, B. E. S.; REIS, H. O.; ROCHA, I.; DALLAQUA, M.; BAPTISTÃO, M.; FERNANDES, M. C. V.; LIMA, M. F.; & SIMIONATO, A. V. C. **Molecular biomarkers of human disease: fundamental concepts, research models and clinical applications.** Química Nova. v. 45. n. 9. p. 1098–1113. Set. 2022.

ZHU, A.; HAN, H.; ZHAO, H.; HU, J.; JIANG, C.; XIE, F.; WANG, F. **Increased frequencies of Th17 and Th22 cells in the peripheral blood of patients with secondary syphilis.** FEMS Immunol Med Microbiol. dec. 2012. v. 66. p. 299-306. doi: 10.1111/j.1574-695x.2012.01007.x. Epub 2012 Jul. 31.

ZÜRCHER, C.; HUMPEL, C. **Saliva: a challenging human fluid to diagnose brain disorders with a focus on Alzheimer's disease.** Neural Regen Res. v. 18. n. 12. 2606-2610. 2023. doi: 10.4103/1673-5374.373675. PMID: 37449596; PMCID: PMC10358690.

APÊNDICE A – TCLE para o responsável pelo participante da pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o Responsável pelo Participante da Pesquisa

Pais/representantes legais, sua criança está sendo convidada a participar desta pesquisa, que tem como título “Análise espectroscópica da saliva e de lesões cutâneas de crianças com sífilis congênita precoce”, desenvolvida pela pesquisadora Daniele de Almeida Soares Marangoni. A pesquisa tem como objetivo central analisar materiais biológicos por meio de espectroscopia em crianças nascidas vivas com diagnóstico de sífilis congênita de 0 a 2 anos de idade. Esta pesquisa se justifica porque poderá se tornar fonte de informação e contribuir como ferramenta para o diagnóstico precoce e tratamento adequado da sífilis congênita e na elaboração de novos estudos sobre a patologia e suas características, bem como auxiliar os profissionais da área da saúde na assistência de qualidade às crianças, visando demonstrar a relação existente entre os aspectos avaliados com a doença.

É voluntária a participação da criança, ou seja, ela não é obrigatória, e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não que ela participe, bem como retirar a sua anuência a qualquer momento. Nem você e nem ela terá prejuízo algum caso decida não consentir a participação ou desistir. Contudo, a participação dela é muito importante para a execução da pesquisa. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações prestadas por você.

Qualquer dado que possa identificar o participante será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre a participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

Se sua criança apresentar sífilis ou outras infecções congênitas (toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples), a participação dela consistirá em passar por um exame físico, especialmente para avaliar as lesões de pele. Será necessário que a criança esteja sem roupa ou apenas com fralda, para que as características das lesões de pele sejam inspecionadas e anotadas. Além disso, a pele das crianças será fotografada com um aparelho celular por partes do corpo, apenas no local específico onde apresentar a lesão de pele, sem a identificação do todo [(partes específicas da cabeça e face (olhos, nariz, boca, bochechas, testa, orelhas), pescoço, braços, antebraços, mãos, tórax, abdômen, costas, coxas, pernas, e pés)]. Partes íntimas (vagina, pênis e nádegas) não serão fotografadas, mas características das lesões de pele nessas regiões serão anotadas. As fotografias possibilitarão análise detalhadas das características das lesões de pele, mas só serão realizadas se houver a sua autorização. Além disso, serão coletadas amostras de saliva e das lesões de pele da criança. Isto será realizado com auxílio de cotonete estéril comercial (*swab*), seguindo as instruções do fabricante. Para coletar a saliva, o cotonete será colocado na boca da criança, passando por toda a cavidade oral, de forma firme, porém gentil. Para coletar amostras das lesões de pele, o cotonete será passado sobre uma das lesões de pele da criança, localizada no rosto, tórax, abdômen, membros inferiores ou membros superiores, preferencialmente a de maior tamanho, por pelo menos 3 vezes, de forma firme, porém gentil. As avaliações duram cerca de 20 minutos. As amostras coletadas serão armazenadas em freezer por 2-3 dias para análise e serão logo em seguida descartadas em local adequado.

Se sua criança não apresentar sífilis ou outras infecções congênitas, a participação dela consistirá apenas em passar pelas coletas de saliva e de amostras das lesões de pele, o que durará cerca de 10 minutos.

Você poderá acompanhar sua criança em todas as avaliações. Toda a orientação possível e necessária será dada a você pela pesquisadora durante as avaliações e você poderá tirar qualquer dúvida sobre os procedimentos sempre que achar necessário.

A pesquisa ocorrerá no próprio setor onde sua criança esteja recebendo atendimento no Hospital Universitário Maria A. Pedrossian (HUMAP), durante o período de permanência dela no hospital. O momento da coleta de dados será agendado antes com você.

Ao término da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, sob guarda e responsabilidade da pesquisadora responsável, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução CNS no 466/2012.

Rubrica da Mãe/representante legal

Rubrica da Pesquisadora

As avaliações serão indolores e não oferecem riscos à dignidade sua e da criança. Há risco de que a criança chore durante as avaliações, como geralmente ocorre em crianças durante avaliações do exame físico por pessoas desconhecidas e em novas situações. Para minimizar este risco, a criança será avaliada com ofertas de brinquedos sonoros e luminosos atrativos para a idade se houver necessidade. Também há risco de choro pelo incômodo com a introdução e fricção do cotonete (*swab*) na boca e nas lesões de pele para coleta de amostras. Para minimizar este risco, a pesquisadora passará o cotonete no local de forma gentil e terá o cuidado de realizar a coleta em momentos em que a criança não tenha passado por avaliação anterior recente. Caso o choro ocorra, a avaliação será imediatamente interrompida e a criança acalmada e acolhida; havendo persistência, será marcada outra data/horário para a avaliação em concordância com você. Também há risco mínimo da criança cair do local de exame durante as avaliações. Isto será minimizado pelo uso de leitos com grades; além disso, a criança será avaliada sob a supervisão direta e próxima da pesquisadora. Se por alguma eventualidade a criança cair, a avaliação será interrompida para que ela seja acalmada e, se houver necessidade, será imediatamente encaminhada e atendida pela equipe de saúde, sem prejuízos de qualquer espécie a vocês.

Ainda que mínimo, poderá ocorrer risco de quebra de sigilo dos dados, para o qual serão tomadas medidas de atualização de *softwares* e *drives*, backup e acesso controlado aos dados e amostras, sendo este de exclusividades das pesquisadoras.

Em caso de gastos decorrentes da sua participação e da criança na pesquisa, vocês serão ressarcidos. Em caso de eventuais danos a vocês decorrentes da participação na pesquisa, vocês serão indenizados.

Você poderá interromper ou desistir da participação da criança na pesquisa a qualquer momento. Você poderá tirar qualquer dúvida sobre os procedimentos sempre que achar necessário. As informações coletadas nessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo dessas informações em todas as fases da pesquisa. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação; eles serão agrupados aos dos demais participantes, não sendo expostos quaisquer dados de identificação pessoal. Se por acaso utilizarmos seus dados para estudo de caso específico, seu nome e da criança serão informados apenas pelas letras iniciais. Todas as informações só poderão ser utilizadas para análise de dados, estatísticos, científicos ou didáticos, sendo garantidos o sigilo de identidade e a sua privacidade e da criança.

O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é que você será orientada sobre como estimular as crianças para minimizar possíveis prejuízos do desenvolvimento. A comunidade envolvida também poderá se beneficiar indiretamente, pois os resultados poderão guiar o diagnóstico acurado da sífilis congênita e estratégias públicas voltadas ao atendimento das crianças com sífilis congênita precoce.

Os resultados desta pesquisa serão divulgados em revistas científicas, e em palestras dirigidas ao público-alvo e equipe hospitalar no próprio hospital. Você será informada do resultado do estudo por meio de relatório enviado pelo celular ou em retorno ao hospital, conforme sua preferência, até o final da pesquisa. Os dados deste estudo não serão utilizados em outras pesquisas.

Este termo é redigido em duas vias, sendo uma do responsável pelo participante da pesquisa e outra do pesquisador.

Em caso de dúvidas quanto à participação da pessoa pela qual você é responsável, você pode entrar em contato com a pesquisadora responsável através do e-mail daniele.soares@ufms.br, e do telefone (67) 99163-5949, ou por meio do endereço Av. Marquês de Pombal, 2520, casa 349 – Tiradentes, Campo Grande – MS, CEP 79041-080.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (CEP/UFMS), localizado no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, prédio das Pró-Reitorias 'Hércules Maymone' – 1º andar, CEP: 79070900. Campo Grande – MS; e-mail: cepconep.propp@ufms.br; telefone: 67-3345- 7187; atendimento ao público: 07:30-11:30 no período matutino e das 13:30 às 17:30 no período vespertino.

O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma, o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Rubrica da Mãe/representante legal

Rubrica da Pesquisadora

[] marque esta opção se você CONCORDA que durante a participação da sua criança nesta pesquisa seja realizada coleta de dados por meio de fotografia.

marque esta opção se você NÃO CONCORDA que durante a participação da sua criança nesta pesquisa seja realizada coleta de dados por meio de fotografia.

Nome e assinatura do pesquisador

_____, ____ de ____ de ____
Local e data

Nome e assinatura do responsável pelo participante da pesquisa

_____, ____ de ____ de ____
Local e data

APÊNDICE B – TCLE para o participante de pesquisa

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido para o Participante da Pesquisa

Mãe/representante legal, você e sua criança estão sendo convidados a participar desta pesquisa, que tem como título “Análise espectroscópica da saliva e de lesões cutâneas de crianças com sífilis congênita precoce”, desenvolvida pela pesquisadora Daniele de Almeida Soares Marangoni. A pesquisa tem como objetivo central analisar materiais biológicos por meio de espectroscopia em crianças nascidas vivas com diagnóstico de sífilis congênita de 0 a 2 anos de idade. Esta pesquisa se justifica porque poderá se tornar fonte de informação e contribuir como ferramenta para o diagnóstico precoce e tratamento adequado da sífilis congênita e na elaboração de novos estudos sobre a patologia e suas características, bem como auxiliar os profissionais da área da saúde na assistência de qualidade às crianças, visando demonstrar a relação existente entre os aspectos avaliados com a doença.

É voluntária a sua participação na pesquisa, ou seja, ela não é obrigatória, e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não que ela participe, bem como retirar a sua anuência a qualquer momento. Você não terá prejuízo algum caso decida não consentir sua participação, ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para a execução da pesquisa. Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações prestadas por você.

Qualquer dado que possa identificar o participante será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e o material será armazenado em local seguro. A qualquer momento, durante a pesquisa, ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre a participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

Sua participação consistirá em responder uma ficha de coleta de dados, com informações de identificação pessoais, renda familiar, escolaridade materna e informações sobre gestação e nascimento da criança. Caso você não possa ler e/ou escrever, a ficha poderá ser aplicada em formato de entrevista, em sala reservada com a presença apenas sua e da pesquisadora. Além disso, as respostas não serão comentadas, só se você desejar e solicitar. Você terá a liberdade de não responder as questões, sem que isso lhe cause qualquer prejuízo ou à criança. A ficha pode demorar cerca de 5 minutos para ser respondida.

A pesquisa ocorrerá no próprio setor onde sua criança esteja recebendo atendimento no Hospital Universitário Maria A. Pedrossian (HUMAP), durante o período de permanência dela no hospital. O momento da coleta de dados será agendado antes com você.

Ao término da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, sob guarda e responsabilidade da pesquisadora responsável, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução CNS no 466/2012.

A aplicação da ficha de coleta de dados não oferece riscos a sua dignidade. Poderá haver risco de constrangimento a você ao preencher ou responder a ficha, devido a algumas questões particulares, como renda, gravidez e uso de drogas. Para minimizar este risco, você poderá preencher essa parte do questionário sozinha. Se você não conseguir ler e/ou escrever, o questionário poderá ser aplicado em formato de entrevista, em sala reservada com a presença apenas sua e das pesquisadoras. Além disso, as respostas do questionário não serão comentadas, exceto se você desejar e solicitar. Você também terá a liberdade de não responder as questões, sem que isso lhe cause qualquer prejuízo ou à criança.

Ainda que mínimo, poderá ocorrer risco de quebra de sigilo dos dados, para o qual serão tomadas medidas de atualização de *softwares* e *drives*, backup e acesso controlado aos dados, sendo este de exclusividades das pesquisadoras.

Em caso de gastos decorrentes da sua participação e da criança na pesquisa, vocês serão ressarcidos. Em caso de eventuais danos a vocês decorrentes da participação na pesquisa, vocês serão indenizados.

Rubrica da Mãe/representante legal Rubrica da Pesquisadora

Você poderá interromper ou desistir da participação na pesquisa a qualquer momento. Você poderá tirar qualquer dúvida sobre os procedimentos sempre que achar necessário. As informações coletadas nessa pesquisa serão confidenciais e asseguramos o sigilo dessas informações em todas as fases da pesquisa. Os dados não serão divulgados de forma a possibilitar sua identificação; eles serão agrupados aos dos demais participantes, não sendo expostos quaisquer dados de identificação pessoal. Se por acaso utilizarmos seus dados para estudo de caso específico, seu nome e da criança serão informados apenas pelas letras iniciais. Todas as informações só poderão ser utilizadas para análise de dados, estatísticos, científicos ou didáticos, sendo garantidos o sigilo de identidade e a sua privacidade e da criança.

O benefício relacionado com a sua colaboração nesta pesquisa é que você será orientada sobre como estimular sua criança para minimizar possíveis prejuízos do desenvolvimento. A comunidade envolvida também poderá se beneficiar indiretamente, pois os resultados poderão guiar o diagnóstico acurado da sífilis congênita e estratégias públicas voltadas ao atendimento das crianças com sífilis congênita precoce.

Os resultados desta pesquisa serão divulgados em revistas científicas, e em palestras dirigidas ao público-alvo e equipe hospitalar no próprio hospital. Você será informada do resultado do estudo por meio de relatório enviado pelo celular ou em retorno ao hospital, conforme sua preferência, até o final da pesquisa. Os dados deste estudo não serão utilizados em outras pesquisas.

Este termo é redigido em duas vias, sendo uma do responsável pelo participante da pesquisa e outra do pesquisador.

Em caso de dúvidas quanto à participação da pessoa pela qual você é responsável, você pode entrar em contato com a pesquisadora responsável através do e-mail daniele.soares@ufms.br, e do telefone (67) 99163-5949, ou por meio do endereço Av. Marquês de Pombal, 2520, casa 349 – Tiradentes, Campo Grande – MS, CEP 79041-080.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS (CEP/UFMS), localizado no Campus da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, prédio das Pró-Reitorias 'Hércules Maymone' – 1º andar, CEP: 79070900. Campo Grande – MS; e-mail: cepconep.propp@ufms.br; telefone: 67-3345- 7187; atendimento ao público: 07:30-11:30 no período matutino e das 13:30 às 17:30 no período vespertino.

O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma, o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

Nome e assinatura do pesquisador

_____, _____ de _____ de _____

Local e data

Nome e assinatura do responsável pelo participante da pesquisa

_____, _____ de _____ de _____

Local e data

APÊNDICE C – Ficha de coleta de dados

Ficha de Coleta de dados

INFORMAÇÕES GERAIS

1. Pesquisadora: Deise Cristina Dal'Ongaro Nº amostra _____
 2. Data: ____/____/____ 3. Setor/Local: _____

DADOS MATERNOS

1. Nome/código: _____
 2. Data de nascimento: ____/____/____ 3. Número de consultas no pré-natal: _____
 4. Doenças associadas na gestação: () Diabetes () Hipertensão () Outras _____
 5. Uso de drogas na gestação: () Sim () Não Mês gestacional: _____
 6. Tabagismo na gestação: () Sim () Não Mês gestacional: _____
 7. Etilismo na gestação: () Sim () Não Mês gestacional: _____
 8. Medicamentos na gestação: () Sim () Não Mês gestacional: _____
 9. Quais: _____
 10. Infecções na gestação: () toxoplasmose () rubéola () sífilis () HTLV () HIV
 () citomegalovírus () zika () herpes () hepatite () outra
 Qual: _____ Período gestacional: _____
 11. Fez tratamento para a infecção: () Sim () Não () Incompleto
 12. Qual infecção: _____ Em que período: _____
 13. Que medicação usou: _____
 14. VDRL: 1º titulação _____ Data ____/____/____ 2º titulação _____ Data ____/____/____
 3º titulação _____ Data ____/____/____ Parto _____ Data ____/____/____
 15. Outros exames para sífilis: _____ Não fez exames ()
 16. Que sintomas teve: _____
 17. O parceiro fez tratamento: Não () Sim () Desconhece ()
 18. Teve sífilis antes da gestação: Não () Sim () Não sabe ()
 19. Outras informações: _____

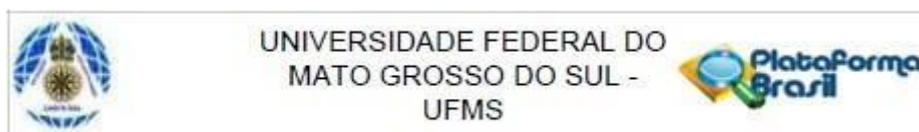
DADOS SOCIODEMOGRÁFICOS:

1. Idade materna: _____ 2. Estado civil: _____ 3. Escolaridade: _____
 4. Número de filhos: _____ 5. Abortos: _____ 6. Profissão: _____
 7. Endereço residencial: _____
 8. Telefone Celular: _____ 9. Telefone II: _____
 10. Renda familiar/Número de residentes na casa: _____/_____

DADOS DA CRIANÇA:

1. Nome/código: _____
 2. Data de nascimento: ____/____/____ 3. Idade: _____
 4. Diagnóstico/Fator de risco: _____ Hígida (sem fator de risco) ()
 7. Apgar 1/5': ____/____ 8. Idade gestacional: _____
 9. Intercorrências perinatais: () Intubação/ventilação mecânica () oxigenoterapia
 () Sofrimento fetal () Icterícia () Parada cardiorrespiratória () convulsão
 () outros: _____
 10. Tempo de hospitalização neonatal _____
 11. Tipo de aleitamento: () materno exclusivo () fórmula () misto
 12. Exames realizados: () RX ossos longos () LCR () VDRL () hemograma
 () USG () Tomografia () PCR () outros: _____
 13. Alterações encontradas: _____
 14. Peso: _____ Estatura: _____ P. cefálico: _____ P. torácico: _____
 15. Fez tratamento para sífilis: Não () Sim () Em andamento ()
 16. Medicação, dose, via: _____

ANEXO A – Parecer substancial do Comitê de Ética



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise espectroscópica da saliva e de lesões cutâneas de crianças com sífilis congênita precoce

Pesquisador: Daniele de Almeida Soares Marangoni

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 71599223.1.0000.0021

Instituição Proponente: Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - UFMS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

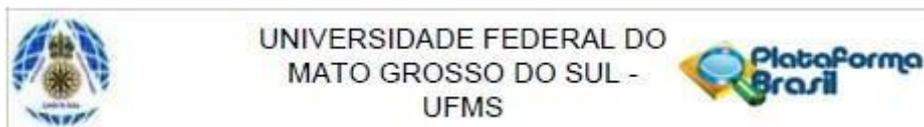
DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 6.235.347

Apresentação do Projeto:

Conforme as informações apresentadas no cadastramento da Plataforma Brasil a pesquisadora apresenta que "A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível (IST) curável, com tratamento acessível e barato. A gestante infectada por transmitir ao feto, caracterizando a sífilis congênita, que pode não ser evidente inicialmente. O uso da espectroscopia, onde um feixe de luz interage com a amostra biológica, tem sido utilizado com resultados promissores para diagnóstico de uma série de doenças. Entretanto, o diagnóstico da sífilis congênita utilizando essa tecnologia rápida e de baixo custo ainda não foi investigado. Além disso, é de valiosa importância continuar avaliando como a doença se apresenta atualmente, particularmente referentes às lesões cutâneas, que são uma das principais manifestações clínicas da sífilis congênita. Objetivo: Analisar materiais biológicos por meio de espectroscopia em crianças nascidas vivas com diagnóstico de sífilis congênita de 0 a 2 anos de idade. Metodologia: Participarão da pesquisa crianças de 0 a 24 meses de idade, de ambos os sexos, e suas mães, nascidas ou admitidas para tratamento da sífilis congênita no Hospital Universitário Maria Aparecida Pedrossian (HUMAP). Para fins de controle, participarão crianças de 0 a 24 meses de idade, sem sífilis congênita, sendo um grupo de crianças hígdas e um grupo de crianças que apresentem diagnóstico de outras infecções congênitas, a saber: toxoplasmose, citomegalovírus, herpes simples. A amostragem será de conveniência, esperando-se uma amostra total de até 600 crianças (200 com sífilis congênita, 200 hígdas, 200 com outras infecções congênitas), e suas mães, no período de 2023 a 2028. Primeiramente, será

Endereço: Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros ç Prédio das Pro-Reitorias çHércules Maymoneç ç 1º andar
Bairro: Pioneiros **CEP:** 70.070-900
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** cepconep.propp@ufms.br



Biorepositório / Biobanco	MATERIALBIOLoGICO.pdf	07/07/2023 11:27:32	Daniele de Almeida Soares Marangoni	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciaHUMAP.pdf	03/07/2023 14:56:12	Daniele de Almeida Soares Marangoni	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CAMPO GRANDE, 11 de Agosto de 2023

Assinado por:
Fernando César de Carvalho Moraes
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Costa e Silva, s/nº - Pioneiros - Prédio das Pró-Reitorias - Hércules Maymone - 1º andar
Bairro: Pioneiros **CEP:** 70.070-900
UF: MS **Município:** CAMPO GRANDE
Telefone: (67)3345-7187 **Fax:** (67)3345-7187 **E-mail:** cepconep.propp@ufms.br

ANEXO B – Submissão do artigo na Revista Scientific Reports

24/03/2025, 16:43

Yahoo Mail - Scientific Reports - Receipt of Manuscript 'Potential Use of...'

Scientific Reports - Receipt of Manuscript 'Potential Use of...'

De: Scientific Reports (srep@nature.com)

Para: deisedalongaro@yahoo.com.br

Data: segunda-feira, 27 de janeiro de 2025 às 01:25 AMT

Ref: Submission ID 32c958f8-afca-4f6b-bed7-6678235ced77

Dear Dr Dal'Ongaro,

Please note that you are listed as a co-author on the manuscript " Potential Use of Saliva Infrared Spectra and Machine Learning for a Minimally Invasive Screening Test for Congenital Syphilis in Infants", which was submitted to Scientific Reports on 27 January 2025 UTC.

If you have any queries related to this manuscript please contact the corresponding author, who is solely responsible for communicating with the journal.

Kind regards,

Peer Review Advisors
Scientific Report

