



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
CAMPUS PASSO FUNDO
CURSO DE MEDICINA**

MARIA EDUARDA LÊMES MORA

**PREVALÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM MULHERES ATENDIDAS
PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

PASSO FUNDO, RS

2021

MARIA EDUARDA LÊMES MORA

**PREVALÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM MULHERES ATENDIDAS
PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso de Graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul/Campus Passo Fundo-RS.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jossimara Poletini

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Caroline Rizzi

Coorientadora: Prof.^a Ms.^a Daniela Augustin Silveira

PASSO FUNDO, RS

2021

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Mora, Maria Eduarda Lêmes

PREVALÊNCIA DE CHLAMYDIA TRACHOMATIS EM MULHERES
ATENDIDAS PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS) / Maria
Eduarda Lêmes Mora. -- 2021.

88 f.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jossimara Polettini

Coorientadores: Prof.^a Dr.^a Caroline Rizzi, Prof.^a
Ms.^a Daniela Augustin Silveira

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Medicina, Passo Fundo, RS, 2021.

1. Chlamydia trachomatis. 2. Reação em Cadeia da
Polimerase. 3. Infecções Sexualmente Transmissíveis
(IST). 4. Saúde da Mulher. I. Polettini, Jossimara,
orient. II. Rizzi, Caroline, co-orient. III. Silveira,
Daniela Augustin, co-orient. IV. Universidade Federal da
Fronteira Sul. V. Título.

MARIA EDUARDA LÊMES MORA

**PREVALÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM MULHERES ATENDIDAS
PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)**

Trabalho de Curso de Graduação apresentado como requisito parcial para a obtenção do grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul/Campus Passo Fundo-RS.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Jossimara Poletini

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Caroline Rizzi

Coorientadora: Prof.^a. Ms.^a. Daniela Augustin Silveira

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi defendido e aprovado pela banca em:

____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Jossimara Poletini – UFFS
Orientadora

Prof.^a Dr.^a Márcia Guimarães da Silva

Prof.^o Dr. Gustavo Olszanski Acrani

A Deus por me tratar com misericórdia e graça, por me cercar com todo seu amor e por tornar possível esse trabalho. Aos meus pais, irmão, toda a minha família e amigos, que estiveram presentes em todos os momentos e por todo o incentivo, amor e dedicação a mim! Admiro-os e serei eternamente grata.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pois foi minha fortaleza e minha rocha firme, na qual me apoiei e descansei durante toda a realização desse projeto.

Aos meus familiares, Sonia, Ivanor, Lucas, Simone, Bernardo e Davi por todo suporte, por acreditarem em mim e por me apoiarem, mesmo em meio ao choro. Amo-os para sempre.

A minha orientadora Prof^a. Dra. Jossimara Poletini, pelo empenho, dedicação, carinho e suporte nesse período, cujo tempo e esforço sempre se fizeram presentes e sem a qual esse trabalho não seria possível.

As minhas coorientadoras Prof^a Dra. Caroline Rizzi, e Prof^a. Ms^a. Daniela Augustin Silveira pelas madrugadas de respostas e correções, por todo empenho, incentivo e dedicação a mim e a esse trabalho e pela perfeita orientação.

Aos meus pastores queridos Iane e Davi pela cobertura espiritual, orações, cuidado, amor e dedicação.

As minhas amigas Aline, Daianne, Krisla e Letícia por todo suporte e incentivo quando mais precisei.

As minhas amigas e família em Passo Fundo Eduarda, Luíza, Tayla e Patrícia pelos conselhos, parceria e suporte, não somente durante o trabalho, mas em toda a faculdade.

A Dra. Márcia Guimarães da Silva pela gentileza e carinho ao doar materiais para que esse estudo pudesse se realizar.

Aos professores Gustavo, Ivana, Shana e Renata pelo apoio e auxílio na elaboração deste trabalho.

Ao Hospital São Vicente de Paulo pela significativa parceria e por conceder acesso aos ambulatórios. As enfermeiras Fernanda e Andressa por toda ajuda e suporte. As professoras e ginecologistas Andreia, Giovana e Silvane por toda colaboração, ensinamentos e parceria.

A minha tia Simone por sempre acreditar em mim e me dar todo suporte e incentivo para continuar.

A todos os voluntários e todos aqueles que, de forma direta ou indireta, fizeram parte e contribuíram para a realização deste trabalho.

“ Ainda que a minha carne e o meu coração desfaleçam, Deus é a fortaleza do meu coração e a minha herança para sempre”. (BÍBLIA, Salmos 73:26).

RESUMO

Trata-se de um Trabalho de Curso (TC) realizado como requisito parcial para obtenção de grau de Bacharel em Medicina da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), campus Passo Fundo - RS. O presente Trabalho de Curso foi estruturado de acordo com o Manual de Trabalhos Acadêmicos da UFFS e está em conformidade com o Regulamento do TC do curso de graduação de Medicina. Este trabalho é intitulado “PREVALÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM MULHERES ATENDIDAS PELO SISTEMA ÚNICO DE SAÚDE (SUS)” e foi desenvolvido pela acadêmica Maria Eduarda Lêmes Mora sob orientação da Prof.^a Dr.^a Jossimara Polettini e coorientação da Prof.^a Dr.^a Caroline Rizzi e da Prof.^a Ms.^a Daniela Augustin Silveira. Esse volume é composto por três partes, sendo a primeira, o projeto de pesquisa, desenvolvido no componente curricular (CCR) de Trabalho de Curso I, no primeiro semestre letivo de 2020. A segunda parte, desenvolvida durante o segundo semestre letivo de 2020, inclui um relatório descritivo das atividades realizadas, abrangendo a coleta de dados através de aplicação de questionários e processamento de amostras de conteúdo vaginal e cervical de pacientes atendidas no ambulatório de ginecologia da UFFS, no município de Passo Fundo/RS. A terceira parte inclui um artigo científico com a compilação dos resultados obtidos, atividade realizada no CCR Trabalho de Curso III, no primeiro semestre letivo de 2021. Com o presente estudo foi possível determinar a prevalência de alterações nos exames de microbiota vaginal em pacientes do município de Passo Fundo/ RS, no período de novembro de 2020 a julho de 2021. Pode-se ainda avaliar o grupo etário mais acometido pelas alterações, e estudar a prevalência da *Chlamydia trachomatis* juntamente com os fatores sociodemográficos, ginecológicos e comportamentais associados à presença da bactéria.

Palavras-chave: *Chlamydia trachomatis*. Epidemiologia. Infecções Sexualmente Transmissíveis. Saúde da Mulher

ABSTRACT

This is a Final Term Paper carried out to as a partial requirement to obtain a Bachelor of Medicine degree from the Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus de Passo Fundo, RS. This Final Term Paper was structured in accordance to the Academic Works Manual of the Universidade Federal da Fronteira Sul and is in compliance with the TC regulation of the undergraduate medical course. This work is entitled “PREVALENCE OF *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* IN WOMEN ATTENDED BY THE BRAZIL’S UNIFIED PUBLIC HEALTH SYSTEM (SUS)” and was developed by the academic Maria Eduarda Lêmes Mora under the supervisor of Prof.^a Dr.^a Jossimara Poletini and co-supervision by Prof.^a Dr.^a Caroline Rizzi and Prof.^a Ms.^a Daniela Augustin Silveira. This volume consists of three parts, the first being the research project, developed in the curricular component (CCR) of Course Work I (TCI), in the first academic semester of 2020. The second part, developed during the second academic semester of 2020, includes a descriptive report of the activities carried out, including data collection through the application of questionnaires and processing of samples of vaginal and cervical content from patients seen at the gynecology outpatient clinic of UFFS, in the city of Passo Fundo / RS. The third part includes a scientific article with the compilation of results obtained, na activity carried out in CCR Trabalho de Curso III, in the first academic semester of 2021. With the present study it was possible to determine the prevalence of changes in vaginal microbita exams in patients from Passo Fundo / RS, from November of 2020 to July of 2021. One can also assess the age group most affected by the changes, and study the prevalence of *Chlamydia trachomatis* together with the sociodemographic, gynecologics and behavioral factors associated with the presence of the bacterium.

Keywords: *Chlamydia trachomatis*. Epidemiology. Sexually Transmitted Infections. Women’s Health.

LISTA DE SIGLAS

CDC	Center for Disease Control and Prevention
WHO	World Health Organization
IST	Infecções Sexualmente Transmissíveis
UFFS	Universidade Federal da Fronteira Sul
HSVP	Hospital São Vicente de Paulo
LGV	Linfogranuloma Venéreo
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HPV	Papiloma Vírus Humano
MOMP	Proteína Principal da Membrana Externa
DIP	Doença Inflamatória Pélvica
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
SUS	Sistema Único de Saúde
ATP	Trifosfato de Adenosina
CCI	Câncer Cervical Invasivo
DFA	Teste Fluorescente Direto
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
LE	Teste de Esterase de Leucócitos
NAAT	Tecnologia de Amplificação de Ácidos Nucleicos
NCSP	Programa Nacional Inglês para Triagem de Clamídia
DNA	Ácido Desoxirribonucleico

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	11
2	DESENVOLVIMENTO	12
2.1	PROJETO DE PESQUISA	12
2.1.1	Resumo	12
2.1.2	Tema	13
2.1.3	Problema	13
2.1.4	Hipóteses	14
2.1.5	OBJETIVOS	15
2.1.5.1	Objetivo Geral	15
2.1.5.2	Objetivos Específicos	15
2.1.6	JUSTIFICATIVA	15
2.1.7	REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1.8	METODOLOGIA	29
2.1.8.1	Tipo de estudo	29
2.1.8.2	Local e período de realização	29
2.1.8.3	População e amostragem	29
2.1.8.4	Variáveis e instrumentos de coleta de dados	30
2.1.8.5	Processamento, controle de qualidade e análise de dados	31
2.1.8.6	Protocolos laboratoriais	32
2.1.8.7	Tratamento, controle de cura e seguimento	34
2.1.8.8	Aspectos éticos	34
2.1.9	Recursos	36
2.1.10	Cronograma	36
2.1.11	REFERÊNCIAS	38
2.1.12	ANEXO A	42
2.1.13	ANEXO B	44
2.1.14	ANEXO C	50
2.2	RELATÓRIO DE PESQUISA	55
2.2.1	ANEXO D	57
3	ARTIGO CIENTÍFICO	63
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	86

1 INTRODUÇÃO

Em todo o mundo, cerca de 1 milhão de infecções sexualmente transmissíveis (IST) ocorrem todos os dias e mais de 30 bactérias, vírus ou parasitas têm sido identificados como transmissíveis sexualmente. Dentre esses, as infecções causadas pelo papilomavírus humano (HPV) e pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), ainda são incuráveis, mas algumas IST como clamídia, gonorreia, sífilis e tricomoníase possuem cura. A *Chlamydia trachomatis* é a principal causa de IST bacteriana globalmente, sendo uma doença frequentemente assintomática em 70% a 80% dos casos, e que pode causar danos reprodutivos e infertilidade em muitas das 50 milhões de mulheres que a adquirem a cada ano. (WHO, 2018; MALHOTRA, 2013; TORTORA, BERDELL; FUNKE, 2017).

Segundo O'Connell e Ferrone (2016), a *C. trachomatis* é um patógeno intracelular obrigatório identificado morfológicamente como gram-negativa, a qual possui um ciclo de desenvolvimento único entre os micro-organismos, sendo transmitida como corpo elementar, que adere e é fagocitado por uma célula hospedeira, infectando células oculares, genitais e respiratórias. Com base na variação antigênica da principal proteína da membrana externa (MOMP) da bactéria, 15 sorotipos de *C. trachomatis* já foram identificados. Os sorotipos de A-C estão associados ao tracoma, os de D-K são ligados às infecções urogenitais e os de L1-L3 representam cepas que causam linfogranuloma invasivo venéreo (LGV). Os sorotipos de clamídia possuem tropismo específico para epitélios e mucosa. A infecção por *C. trachomatis* manifesta-se principalmente como uretrite em homens e endocervicite em mulheres.

Globalmente, a infecção é mais prevalente em mulheres jovens e homens (14-25 anos), sendo que a *World Health Organization* (WHO) estimou em 2012 uma prevalência global de clamídia em 4,2% entre as mulheres de 15 a 49 anos. Os casos geralmente são assintomáticos ou quando possuem sintomas presentes, estes são brandos. No entanto, algumas consequências clínicas significativas podem decorrer dessa infecção, principalmente nas infecções crônicas. Em muitas mulheres a infecção por clamídia pode levar à doença inflamatória pélvica (DIP), resultando em sequelas reprodutivas, como gravidez ectópica, infertilidade e dor pélvica crônica. (O'CONNELL; FERONE, 2016; NEWMAN et al. 2015).

As células e mediadores imunes da resposta inata atuam na patogênese da doença. Além disso, faz-se uma resposta adaptativa com anticorpos e células T CD4+, contudo

estas são ineficientes, levando à cronificação da infecção. A falta de sintomas agudos contribui para a alta prevalência da bactéria, sendo que, a quantificação da prevalência e incidência de infecções sexualmente transmissíveis é importante para planejar intervenções e recursos. (NEWMAN, 2015; DARVILLE 2013).

Conforme descrito por Darville (2013), o diagnóstico e o tratamento precoces são essenciais para evitar a progressão da doença. A cultura de células é considerada o padrão-ouro para o diagnóstico, mas é uma técnica muito cara e difícil de ser realizada. Assim, os métodos de diagnóstico molecular que são altamente sensíveis e específicos, tornaram-se as técnicas mais avançadas e utilizadas no diagnóstico da doença.

Os antibióticos são eficazes no combate às infecções por clamídia, sendo que a recomendação atual do *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) para o tratamento é doxiciclina por 7 dias ou azitromicina em dose única. No entanto, a prevenção com o uso de preservativos é sobremaneira importante. (O'CONNELL; FERONE, 2016; BRASIL, 2015).

Seguindo o contexto acima, logo, o presente estudo tem como objetivo principal descrever e analisar a prevalência dessa infecção, a qual é crescente e ainda gera consequências prejudiciais a muitas mulheres em todo o mundo, necessitando de rastreio e diagnóstico rápidos e eficazes. De forma adicional, descrever as características ginecológicas, sociodemográficas e comportamentais das mulheres atendidas no ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS). Ainda, detectar a positividade de DNA clamidiano nas amostras por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e, assim, ofertar um diagnóstico preciso às pacientes.

2 DESENVOLVIMENTO

2.1 PROJETO DE PESQUISA

2.1.1 Resumo

As infecções do trato genital inferior estão associadas a comorbidades da vida reprodutiva e saúde genital da mulher, incluindo infertilidade, doença inflamatória pélvica, vulvovaginites e cervicites. Assim, evidencia-se a importância da detecção de infecções, bem como a implantação de um tratamento adequado. Dessa forma, o objetivo do presente projeto é determinar a prevalência de infecção por *Chlamydia trachomatis* e avaliar sua relação com fatores sociodemográficos, ginecológicos e comportamentais em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Trata-se de estudo quantitativo, transversal, descritivo e analítico com amostra não probabilística, composta por

conveniência, a qual será formada por pacientes atendidas no ambulatório de ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), Campus Passo Fundo, submetidas ao exame citológico Papanicolau (estimativa de 300 pacientes). O estudo será realizado no período de novembro de 2020 a julho de 2021. Serão incluídas no estudo mulheres com idade igual ou superior a 18 anos até 64 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina e/ou que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais que são submetidas ao exame especular. Todas as mulheres envolvidas no estudo serão previamente informadas quanto à finalidade da pesquisa, assinarão o termo de consentimento livre e esclarecido e responderão a questionário estruturado para o presente projeto. Durante a consulta ginecológica, amostras do colo uterino serão coletadas pelo método de citologia em meio líquido e submetidos à coloração de Papanicolau para determinação das lesões precursoras do câncer do colo uterino. As células remanescentes no meio líquido serão submetidas à extração de DNA total utilizando-se reagentes comerciais. A presença de *C. trachomatis* será avaliada pelo método molecular de RT-PCR, utilizando-se iniciadores específicos para detecção do DNA bacteriano. Os dados serão avaliados de acordo com os resultados dos testes ginecológicos encontrados, a análise estatística será realizada de acordo com os pressupostos determinados pelos resultados e o nível de significância adotado será de 5%. O estudo atenderá aos princípios éticos, tendo aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS. As participantes da pesquisa serão submetidas a aplicação de um questionário sociodemográfico, comportamental e de saúde para a coleta de dados, antes de passar pela consulta. As amostras serão coletadas diretamente das pacientes durante o exame ginecológico. Dessa forma, o estudo permitirá um levantamento de informações que proporcionará planejar e executar medidas de promoção e prevenção de saúde, considerando a positividade da população para os patógenos estudados.

2.1.2 Tema

Chlamydia trachomatis em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

2.1.3 Problema

Qual a prevalência de *Chlamydia trachomatis* detectada por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) em mulheres que consultam no ambulatório de

ginecologia e obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo, RS?

Quais as características sociodemográficas e comportamentais dessas mulheres?

Quais os fatores sociodemográficos e comportamentais que podem ser associados à infecção por *Chlamydia trachomatis*?

A infecção por *Chlamydia trachomatis* tem relação com alguma outra infecção nessas mulheres? Qual a coinfeção mais frequente?

A maioria das mulheres com infecção por *Chlamydia trachomatis* é sintomática ou assintomática?

A dificuldade de engravidar, uma das consequências da infecção por *Chlamydia trachomatis*, está presente nas mulheres assintomáticas? Qual a frequência?

2.1.4 Hipóteses

A prevalência de *Chlamydia trachomatis* varia entre 2 a 30%, de acordo com a população estudada.

A maior parte das mulheres possui idade entre 25 e 35 anos, a maioria é branca, sabe ler e escrever, teve até 9 anos de estudo, não tem companheiro, exerce atividade remunerada, possui renda familiar mensal de até 3 salários mínimos, estão em período sexualmente ativo, possuem múltiplos parceiros, não têm o hábito de usar camisinha e a maioria faz contracepção.

Os fatores sociodemográficos associados à infecção por *Chlamydia trachomatis* são a idade, a raça/cor, se sabe ler e escrever e quantos anos de estudo possui, se tem ou não companheiro e a renda familiar. Já os fatores comportamentais associados a infecção por *Chlamydia trachomatis* são atividade sexual, se fuma ou não, hábito de não usar camisinha, contracepção e se já teve alguma infecção por *Chlamydia trachomatis*.

A infecção clamidiana tem relação com outras infecções ou alterações de microbiota vaginal, sendo a infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) a mais frequente.

A maioria das mulheres com infecção por *Chlamydia trachomatis* são assintomáticas.

A dificuldade de engravidar é evidenciada em mulheres com infecção clamidiana, tendo baixa frequência.

2.1.5 OBJETIVOS

2.1.5.1 Objetivo Geral

Determinar a prevalência de *Chlamydia trachomatis* por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

2.1.5.2 Objetivos Específicos

Descrever as características sociodemográficas e comportamentais das mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS).

Analisar e descrever os fatores sociodemográficos e comportamentais associados à infecção por *Chlamydia trachomatis*.

Relacionar as possíveis coinfeções apresentadas por mulheres com a infecção por clamídia e determinar qual a mais prevalente.

Verificar qual a porcentagem de mulheres sintomáticas e assintomáticas com infecção por *Chlamydia trachomatis*.

Determinar qual a porcentagem de mulheres que autorreferem dificuldade para engravidar que apresentam infecção por *Chlamydia trachomatis*.

2.1.6 JUSTIFICATIVA

O estudo da *Chlamydia trachomatis* é essencial devido às diversas manifestações clínicas da doença, à alta prevalência, sua capacidade de infecção (ambos os gêneros e várias faixas etárias), seus mecanismos de evasão do sistema imune e suas sequelas. (MORENO et al., 2015).

Além disso, os estudos sobre a prevalência de *C. trachomatis* no Brasil possuem discrepância entre os resultados e ainda são escassos. Não existe uma pesquisa sobre a prevalência da bactéria na cidade de Passo Fundo e região, o que mostra a importância dos futuros resultados no sentido de promoção de saúde às mulheres que utilizam o Sistema Único de Saúde (SUS). Da mesma maneira, esse estudo justifica-se ao beneficiar as usuárias do sistema, no que diz respeito a diagnosticar a infecção, quando assintomática, oferecer tratamento e rastrear as mulheres que possuem dificuldade para engravidar, uma vez que tal rastreio não é realizado na rotina do SUS. Adicionalmente, relacionará as características sociodemográficas e comportamentais dessas mulheres, o que poderá auxiliar nas futuras políticas de saúde pública a serem adotadas para diminuir

a transmissão desse patógeno, evitando, assim, possíveis sequelas e maiores gastos de saúde pública com o tratamento dessa infecção.

2.1.7 REFERENCIAL TEÓRICO

Infecções sexualmente transmissíveis (IST)

O termo infecções sexualmente transmissíveis (IST) refere-se a um conjunto diverso de síndromes clínicas e infecções causadas por patógenos que podem ser adquiridos e transmitidos através da atividade sexual. As IST estão entre os problemas de saúde pública mais comuns em todo o mundo, sendo uma das principais causas de doenças agudas, infertilidade, incapacidade a longo prazo e morte. Além disso, mais de 1 milhão de IST são adquiridas todos os dias em escala global. (CDC, 2015; WHO, 2019; MORENO *et al*, 2015).

As IST são causadas por mais de 30 agentes etiológicos (vírus, bactérias, fungos e protozoários), que podem ser transmitidos de uma pessoa a outra por contato sexual e, ocasionalmente, por via sanguínea. A transmissão ainda pode acontecer, via vertical, da mãe para a criança durante a gestação, durante o parto ou pela amamentação. Além do mais, as IST causam condições urogenitais agudas, como cervicite, uretrite, vaginite e ulceração genital, sendo que alguns agentes etiológicos também infectam o reto e a faringe. A clamídia, por exemplo, pode causar complicações sérias a curto e longo prazo, incluindo lesões pélvicas, doença inflamatória, gravidez ectópica, infertilidade, doença crônica, dor pélvica e artrite. Dentre as IST, algumas possuem altas taxas de incidência e prevalência, apresentam complicações mais graves em mulheres, e estão implicadas no aumento do risco de aquisição do vírus da imunodeficiência humana (HIV). (BRASIL, 2015; PIAZZETTA, 2011).

Um fator relevante nesse contexto é que a maioria das pessoas infectadas por uma IST é assintomática. Isso faz com que as intervenções de prevenção possam contribuir para a diminuição da incidência desses agravos. Essas infecções afetam principalmente jovens, homossexuais, profissionais do sexo e populações sem acesso aos serviços de saúde. Deve-se levar em conta, ainda, que a duração e a transmissibilidade da infecção são inversamente proporcionais ao acesso para que se efetue o tratamento. Outrossim, pessoas com infecções sexuais frequentemente sofrem estigma, estereotipagem, vulnerabilidade, vergonha e violência de gênero. (BRASIL, 2015; PIAZZETTA, 2011).

A cada ano, estima-se que 500 milhões de pessoas sejam infectadas por uma das IST curáveis (gonorreia, clamídia, sífilis e tricomoníase). O número total de novos casos das quatro ISTs curáveis, segundo a Organização Mundial de Saúde (2008), no ano de 2008, em adultos entre as idades de 15 a 49 anos, foi estimado em 498,9 milhões. Além do mais, no mesmo ano, das 498,9 milhões totais, aproximadamente 100 milhões eram infecções por *Chlamydia trachomatis*. (MORENO et al., 2015).

Chlamydia trachomatis

As clamídias são bactérias gram-negativas, que fazem interação simbiótica com diversos organismos e são patógenos intracelulares obrigatórios, pois incapazes de sintetizar trifosfato de adenosina (ATP), necessitam de uma fonte exógena de energia. Estão classificadas no grupo das eubactérias, na ordem Chlamydiales, com dois gêneros e quatro espécies: *C. trachomatis*, *Chlamydophila psittaci*, *Chlamydophila pneumoniae* e *Chlamydophila abortus*. Algumas espécies patogênicas para animais podem ser transmitidas ao homem. (MORENO et al., 2015; ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL, 2016).

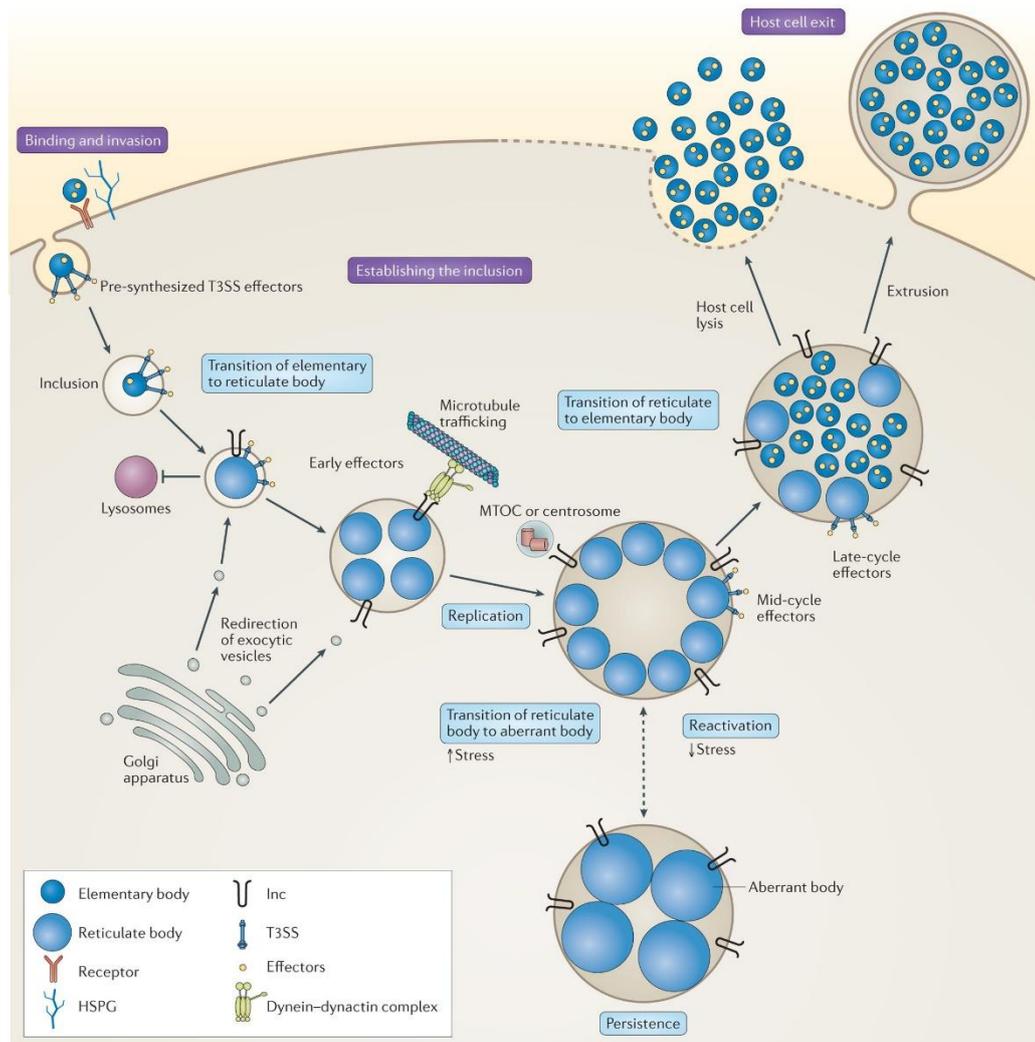
Conforme descrito por Moreno *et al.* (2015), a *C. psittaci* é patogênica para aves e mamíferos; a *C. pneumoniae* provoca doenças respiratórias; a *C. abortus* pode provocar abortos em humanos; a *C. trachomatis* apresenta vários sorotipos que causam diversas doenças: sorotipos A, B, Ba e C (tracoma); D, E, F, G, H, I, J, K (infecções oculogenitais) e L1, L2 e L3 (linfogranuloma venéreo). Em particular, a *C. trachomatis* pode acometer vários órgãos e tecidos do organismo, tais como aparelho geniturinário, faringe, conjuntiva ocular, pulmões, fígado, articulações e outros. As cepas oculares (sorotipos A, B, Ba e C) causam o tracoma hiperendêmico ou conjuntivite granulomatosa (doença inflamatória ocular crônica), cuja transmissão se dá de forma direta. Já as cepas genitais constituem-se, em sua maioria, nos sorotipos de D-K, transmitidos principalmente por contato sexual, tendo como manifestações da doença as uretrites, vulvovaginites e cervicites. Portanto, como esta é a forma mais frequente de transmissão, as infecções genitais são prevalentes em pessoas sexualmente ativas, sendo predominante em pessoas com múltiplos parceiros. (MORENO et al., 2015).

Aspectos microbiológicos da *Chlamydia trachomatis*

Em relação aos aspectos microbiológicos da bactéria, todas as clamídias compartilham um ciclo de desenvolvimento no qual alternam entre 2 formas: o corpo

elementar infeccioso extracelular (não é capaz de replicação) e o corpo reticulado intracelular não infeccioso (é capaz de replicação). Os corpos elementares e os reticulados são morfologicamente e funcionalmente distintos, sendo que os corpos elementares sobrevivem no ambiente extracelular severo, pois sua parede celular lhes confere resistência. Embora já tenham sido considerados metabolicamente inativos, os corpos elementares contêm uma abundância de proteínas necessárias para o seu metabolismo, que são utilizadas após sua entrada nas células hospedeiras e que são responsáveis por direcionar a sua diferenciação para corpos reticulados. (ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL, 2016; MORENO et al., 2015).

A *C. trachomatis* possui tropismo pelas células epiteliais e da mucosa, bem como é transmitida como corpo elementar, que adere e é fagocitado por uma célula hospedeira. Uma vez dentro da célula hospedeira, os corpos elementares são internalizados em um vacúolo e sofrem uma transformação metabólica, resultando em uma diferenciação para corpos reticulados em cerca de 6 a 8 horas após a infecção. Os corpos reticulados, então, se dividem por fissão binária junto aos vacúolos ou compartimentos ligados à membrana, denominadas inclusões. Após aproximadamente 36 horas e desenroladas várias rodadas de replicação, há novamente uma diferenciação, em que os corpos reticulados se condensam em corpos elementares, a inclusão se rompe e os corpos elementares são liberados para infectar as células adjacentes (vizinhas) ou serem transmitidos a outros hospedeiros. Um aspecto exclusivo da inclusão clamidial reside em sua habilidade de resistir à fusão dos lisossomos, fazendo com que não sejam degradadas. O mecanismo dessa resistência, contudo, ainda é desconhecido. O meio intracelular apesar de fornecer nutrientes, serve ainda de proteção contra a defesa imune do hospedeiro. O ciclo de desenvolvimento pode ser interrompido de forma reversível por diversos fatores, incluindo privação de nutrientes, exposição a citocinas do hospedeiro e antibióticos. (ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL, 2016; MORENO et al., 2015).



Nature Reviews | Microbiology

Figura1: The life cycle of *Chlamydia trachomatis*. ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL. Chlamydia cell biology and pathogenesis. Nature Reviews Microbiology, v. 14, n. 6, p. 385–400, 2016.

Referente à resposta imune, a *C. trachomatis* codifica abundantemente uma proteína chamada proteína principal da membrana externa (MOMP ou OmpA) que é exposta à superfície da bactéria, atuando como antígeno. Após a invasão das células hospedeiras, estas reconhecem antígenos da *C. trachomatis* através de diversos receptores, como os de superfície celular, endossômicos e citosólicos. A ativação desses receptores desencadeia a secreção e liberação de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, que recrutam mais células de defesa (neutrófilos) e iniciarão uma resposta inata. Os antígenos específicos da *C. trachomatis* são apresentados às células T CD4 e T CD8, as quais os reconhecerão e estarão associadas à imunidade protetora contra essa infecção. Após isso, as imunoglobulinas IgA, IgM e IgG são ativadas e serão responsáveis pela produção de anticorpos anticlamidiais neutralizantes, os quais terão

como alvo principal as proteínas de superfície da bactéria. Os anticorpos não são suficientes para proteger os seres humanos da reinfecção, embora eles possam ajudar a controlar a liberação dos novos corpos reticulados, impedindo-os de infectar células vizinhas ou um novo hospedeiro. Raramente os anticorpos ajudam a proteger contra a ascendência da bactéria evitando as doenças do trato superior. Contudo, a indução e persistência do patógeno provoca uma resposta inflamatória crônica, embora necessária para a eliminação da bactéria e resolução natural da infecção, pode resultar em fibrose, cicatrização e outras sequelas. Essa cronicidade da infecção nas mulheres indica uma resolução com baixo desempenho, bem como a resposta adaptativa também é ineficaz em relação à proteção contra reinfecção. (ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL, 2016; DARVILLE, 2013; STONE, 2016; O'CONNELL; FERONE, 2016; WONG, 2019).

Quase todas as cepas de *C. trachomatis* abrigam um plasmídeo que lhes confere as propriedades de virulência de maior adesão, captação e ativação do receptor imune inato. Ademais, o patógeno desenvolveu vários mecanismos para manipular as respostas imunes visto que, em algumas condições, consegue impedir a sua própria degradação. A persistência do patógeno envolve, por exemplo, a formação de inclusões intracitoplasmáticas e síntese de aminoácidos induzida por citocinas, a paralisia de neutrófilos, a evasão da fagocitose, a inibição da apoptose das células hospedeiras e a supressão da apresentação do antígeno. Além disso, a infecção por clamídia, pode tornar a produção de IFN branda ou neutralizar produtos gênicos que estão envolvidos na imunidade celular, por exemplo. (ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL, 2016; DARVILLE, 2013; STONE, 2016; O'CONNELL; FERONE, 2016; WONG, 2019).

Fisiopatologia, fatores de risco, quadro clínico e coinfeções

Os processos patológicos desencadeados na infecção por *C. trachomatis* envolvem o microambiente vaginal, que é composto por um ecossistema complexo e dinâmico, sendo que seu conteúdo é constituído por água, colesterol, lipídeos, mucina, carboidratos, aminoácidos, proteínas e sais inorgânicos. As bactérias predominantes na vagina são os lactobacilos, que produzem o ácido láctico, mantendo o pH ácido da vagina, o qual inibe o crescimento dos microrganismos não residentes, reduzindo a biovulnerabilidade do trato genital superior a patógenos. O estrogênio (hormônio sexual feminino) é responsável pela manutenção dessa microbiota, promovendo a produção de glicogênio pelas células do epitélio vaginal, o qual nutre os lactobacilos. Outras bactérias, como estreptococos, anaeróbios e gram-negativas, também são encontradas na vagina,

porém em menor quantidade. Qualquer alteração desse equilíbrio favorece a proliferação de agentes patogênicos. (TACHEDJIAN; O'HANLON; RAVEL, 2018; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Nesse sentido, os sorotipos D-K de *C. trachomatis*, ao infectar mulheres, se manifestam como cervicites, uretrites e úlceras genitais. Cerca de 15 a 40% das infecções ascendem ao trato genital superior, podendo gerar sequelas graves, as quais incluem doença inflamatória pélvica, infertilidade e gravidez ectópica. A *C. trachomatis* é um dos principais agentes etiológicos da cervicite mucopurulenta, que consiste na inflamação da mucosa endocervical (epitélio colunar do colo uterino). Em torno de 70 a 80% das cervicites são assintomáticas. Nos casos sintomáticos, os sintomas são brandos e as principais queixas são corrimento vaginal, sangramento intermenstrual, dispareunia (dor durante o ato sexual) e disúria (dor ao urinar). Alguns sinais podem estar presentes no exame físico, como dor à mobilização do colo uterino, conteúdo mucopurulento no orifício externo do colo, colo uterino friável e sangramento ao toque da espátula ou swab. (ELWELL; MIRRASHIDI; ENGEL2016; BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2015).

Um dos principais fatores de risco associados a infecção clamidiana é a vaginose bacteriana, que consiste no desequilíbrio da microbiota bacteriana vaginal, tendo sua etiologia ainda desconhecida. A vaginose bacteriana apresenta-se como uma mudança notável na microbiota vaginal para um estado disbiótico, marcado por uma diversidade de microrganismos e um aumento da carga de anaeróbios aerotolerantes e estritos, incluindo *Gardnerella vaginalis*, *Mobiluncus*, *Aptopobium vaginae* e outras bactérias exigentes, como *Megasphaera*, *Sneathia*, e *Clostridiales spp.* (TACHEDJIAN; O'HANLON; RAVEL, 2018; TORTORA; FUNKE; CASE, 2017).

Um aspecto importante da infecção clamidiana é a possibilidade de coinfeção com outros patógenos, que pode aumentar a resposta do hospedeiro e provocar piores condições clínicas. Nesse contexto, a infecção por clamídia ainda facilita a transmissão do HIV, sendo que a possível inter-relação entre infecção pelo HIV e *C. trachomatis* inclui os danos epiteliais que a infecção clamidiana provoca, os quais podem facilitar a penetração nas células e, por sua vez, as alterações imunológicas causadas pelo vírus favorecem a infecção por clamídia. A *C. trachomatis* pode apresentar coinfeção com outras IST, sendo comumente associada a *Neisseria gonorrhoeae*. Em indivíduos com gonorreia, existe um risco 15 a 40% maior de adquirir clamídia. Há evidências científicas da associação de *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* aos seguintes fatores: mulheres sexualmente ativas com idade inferior a 25 anos, nova parceria sexual, múltiplas parcerias

sexuais, parcerias com IST, história prévia ou presença de outra IST, e uso irregular de preservativo. (BRASIL, 2015; BALA, 2011).

Além do HIV e *N. gonorrhoeae*, a clamídia apresenta coinfeção com o Papilomavírus Humano (HPV). O papilomavírus humano (HPV) de alto risco também é transmitido sexualmente, sendo que as evidências atuais sugerem que ter uma infecção por *C. trachomatis* pode aumentar o risco de infecção por HPV, persistência de HPV ou progressão para lesões cervicais de alto grau entre mulheres HPV-positivas. O HPV é a causa central do câncer do colo do útero, e os tipos de alto risco estão associados a maiores chances de desenvolvimento da doença. Contudo, apenas uma pequena proporção de mulheres infectadas com HPV progride para câncer cervical invasivo (CCI). Assim, o desenvolvimento do CCI depende de outros cofatores que atuam em conjunto com o HPV, como a *C. trachomatis*, por exemplo. A *C. trachomatis* está ligada à atipia e à neoplasia cervical, pois a infecção tem natureza assintomática, persistência se não tratada, indução de metaplasia e inflamação crônica. Além disso, uma infecção por HPV pode também aumentar o risco de infecção clamidiana incidente. (SMITH et al., 2002; HARDER et al., 2016).

Diagnóstico de *Chlamydia trachomatis*

Quanto aos métodos diagnósticos da clamídia, eles podem ser clínicos ou laboratoriais. O diagnóstico clínico de pacientes pode representar um método enganoso, pois 70-80% das mulheres infectadas não apresentam sintomas. Já no diagnóstico laboratorial, os métodos sensíveis e específicos confiáveis tornaram-se essenciais. O diagnóstico laboratorial da clamídia consiste nos seguintes métodos: ensaios específicos (cultura de células, teste fluorescente direto [DFA], ELISA [ensaio imunoenzimático] e métodos moleculares de detecção do DNA bacteriano, como a Reação em Cadeia da Polimerase - PCR) e testes não específicos (teste de esterase de leucócitos [LE]), os testes rápidos e a sorologia). (MALHOTRA et al., 2013).

Em relação aos ensaios específicos têm-se a cultura celular, na qual o patógeno é isolado, considerada o método definitivo ou “padrão ouro”, pois é 100% específico para o diagnóstico de clamídia. O cultivo celular, entretanto, é tecnicamente difícil, trabalhoso e caro, e não foi amplamente adotado como teste de rotina para detecção de *C. trachomatis*. Já o teste fluorescente direto identifica corpos elementares em esfregaços por meio de anticorpos monoclonais, com vantagem considerável ao adicionar fluorescência ao exame direto da amostra. Esta metodologia é uma das técnicas de

diagnóstico mais úteis, rápida e simples (tempo de resposta de cerca de 30 min), porém demanda conhecimento para a interpretação microscópica. O ensaio de ELISA serve para a detecção de antígenos da *C. trachomatis*. É adequado para laboratórios que não fazem cultivo celular. Contudo, o ELISA tem baixa sensibilidade quando comparado ao DFA e aos testes moleculares. A citologia é um teste de diagnóstico facilmente disponível, simples e não muito caro, ademais não requer precauções quanto ao armazenamento e transporte. Os métodos Giemsa, imunofluorescência e coloração com iodo são mais comumente usados para detectar a inclusão de clamídia celular, porém a especificidade depende do observador. (MALHOTRA et al., 2013; GEISLER et al., 2001; BLACK et al., 2002; GAYDOS et al., 2004; SCHACHTER, 2001).

Já, no tocante aos testes rápidos para *C. trachomatis*, eles não requerem equipamentos sofisticados, podem ser realizados durante a consulta médica e são concluídos em cerca de 30 minutos. Os resultados são qualitativos e, porém, quando comparados à PCR, possuem menor sensibilidade e especificidade. (SAISON, 2007; MALHOTRA et al., 2013).

Segundo Malhotra et al. (2013), quanto aos testes sorológicos, eles geralmente não são úteis no diagnóstico de *C. trachomatis*, pois os anticorpos produzidos possuem vida longa e o resultado positivo do teste não irá fazer a distinção de uma infecção prévia da atual.

Nas últimas décadas os testes moleculares, baseados na tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) tem sido o avanço mais importante no campo do diagnóstico de clamídia. Os métodos moleculares são elaborados em testes baseados no reconhecimento direto de sequências de DNA e RNA. A sonda de DNA disponível comercialmente para a detecção de *C. trachomatis* é o teste PACE 2 48 (*Probe Assay Chemiluminescence Enhanced*) para amostras endocervicais e uretrais. O princípio do método emprega sondas de DNA quimioluminescente que reconhece uma sequência específica de rRNA 16S da clamídia. Os NAAT são os testes mais sensíveis para a triagem e diagnóstico de infecções por clamídia e gonococos do trato genital. No caso de infecções clamidiais, o NAAT é de 20 a 30% mais sensível do que os demais testes e possui 100% de especificidade. Dentre tais tecnologias destaca-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os genes amplificados para o diagnóstico de *C. trachomatis* são MOMP, os genes plasmidiais, gene da fosfolipase e as sequências do rRNA 16S e 23S. (MALHOTRA et al., 2013; GEISLER et al., 2001; BLACK et al., 2002; GAYDOS et al., 2004; SCHACHTER, 2001)

O NAAT é a técnica de escolha para diagnóstico e rotina de *Chlamydia trachomatis*, devido a sua sensibilidade e especificidade superiores aos testes convencionais. A metodologia do NAAT consiste em amplificação de sequências de DNA ou RNA da *C. trachomatis* utilizando o PCR. O espécime de escolha varia de acordo com a síndrome presente no paciente. Nos casos de infecção genitourinária ou rastreamento em mulheres, o esfregaço vaginal é a amostra de escolha. Nas mulheres submetidas à citologia com espéculo (para avaliação de endocervicite ou esfregaço de Papanicolau de rotina), o PCR pode também ser realizado na amostra endocervical. Nos casos de amostra de urina de primeira micção, o PCR também é aceitável, mas pode detectar até 10% menos infecções (sensibilidade abaixo do ideal) quando comparadas com as outras amostras – vaginal e endocervical – por isso deve ser utilizada somente quando estas não estiverem disponíveis. (LANJOUW *et al.*, 2015; HSU; MARRAZZO; BLOOM, 2019).

Caso o NAAT não esteja à disposição como meio de detecção, em locais com recursos limitados, pode-se lançar mão dos testes rápidos para o diagnóstico de infecção clamidiana. Se estes não forem passíveis de realização, o diagnóstico clínico baseado nos sinais e sintomas da paciente deve ser feito. Deve-se atentar ainda, que as pacientes com a síndrome genitourinária por clamídia devem ser tratadas empiricamente até o retorno dos resultados dos testes diagnósticos. (HSU; MARRAZZO; BLOOM, 2019).

No diagnóstico laboratorial, a coleta e transporte corretos é fundamental para a precisão nos testes de diagnóstico. Demonstrou-se que a sensibilidade e a especificidade dos testes de diagnóstico para *C. trachomatis* estão diretamente ligados à adequação da amostra, considerando o local de amostragem, sendo que amostras de colo de útero e uretra apresentam maiores índices de recuperação do patógeno. O swab endocervical, vaginal, vulval, uretral, retal e urina de primeira captura são as amostras comuns coletadas das pacientes do sexo feminino. As células hospedeiras que abrigam o organismo devem ser incluídas na amostra, quando usadas as técnicas que envolvem a visualização direta do organismo e/ou análises moleculares. (WARD; RIDGWAY, 1999; MALHOTRA *et al.*, 2013).

Em referência a quais pacientes devem ser testados para infecção por *C. trachomatis*, conforme descrevem Hsu, Marrazzo e Bloom (2019), qualquer paciente sexualmente ativo com sinais e sintomas consistentes com as síndromes clínicas associadas à infecção clamidiana deve ser submetido a testes de diagnóstico para *C. trachomatis*. Contudo, em razão da maior parte das infecções por clamídia se apresentarem como assintomáticas, o rastreamento de rotina com NAAT deve ser

oferecido aos pacientes sexualmente ativos com alto risco de infecção e complicações, incluindo: mulheres com 24 anos ou menos, grávidas ou com múltiplos parceiros sexuais, mulheres com infecção gonocócica documentada, bem como homens que fazem sexo com homens (HSH) e indivíduos com HIV sexualmente ativos e de qualquer idade. Os pacientes que tiverem exposição potencial ou conhecida de clamídia (dentro de 1 a 2 semanas) devem também ser submetidos ao teste diagnóstico e tratados empiricamente. Em pacientes com sintomas persistentes, com diagnóstico positivo para clamídia, os sintomas geralmente são decorrentes de reinfecções, devendo-se questionar a paciente sobre nova infecção e sobre o tratamento do parceiro.

Tendo em vista reduzir a transmissão de doenças e prevenir as sequelas a longo prazo, diversos países estabeleceram o controle de *C. trachomatis* em larga escala por meio de programas de triagem ou rastreamento. O desenvolvimento de estratégias de triagem e tratamento direcionados demanda uma compreensão detalhada da história natural de infecções genitais por *Chlamydia trachomatis*, incluindo o conhecimento dos fatores de risco para infecção. O Teste anual (de rastreamento) de *C. trachomatis*, segundo as diretrizes clínicas em muitos países, é recomendado para todas as mulheres sexualmente ativas (<25 anos de idade). Para as mulheres com diagnóstico positivo para clamídia, os testes devem ser repetidos em 3 a 6 meses. A triagem anual tem como principal justificativa a detecção e tratamento precoces para prevenir ou interromper a morbidade do trato reprodutivo, particularmente nas mulheres. Nesse mesmo cenário, conforme orienta a CDC (2015), os testes de triagem anuais são recomendados para mulheres sexualmente ativas com idade <25 anos, bem como a triagem de mulheres >25 anos com risco aumentado de infecção (novo parceiro sexual, múltiplos parceiros sexuais, parceiro sexual com IST). Os programas de rastreamento de clamídia demonstraram reduzir as taxas de doença inflamatória pélvica (DIP) em mulheres. Além disso, as taxas de reinfecção atingem o pico em 2–5 meses após a infecção inicial, apoiando a recomendação do CDC de que qualquer pessoa diagnosticada com infecção por *C. trachomatis* deve ser testada novamente dentro de 3-12 meses de tratamento. O Programa Nacional Inglês de Triagem de Clamídia (NCSP) recomenda o reteste anual ou na mudança de parceiro sexual para todos os indivíduos sexualmente ativos <25 anos e, em 2013, passou a incluir recomendações de reteste cerca de três meses após um teste positivo. (LANJOUW *et al.*, 2015; HARDER *et al.*, 2016)

No Brasil, segundo os protocolos do Ministério da Saúde, embora um estudo multicêntrico nacional de 2011 observou elevada prevalência (9,8%; IC 95% 8,5-11,1)

de infecção por clamídia em parturientes jovens entre 15 e 24 anos de idade, e recomendou que a triagem no pré-natal fosse adotada nesse grupo no Brasil, justificou-se a não triagem com base nos critérios de risco para a identificação de *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*, nos quais, mulheres com queixa de corrimento vaginal têm sensibilidade e especificidade muito baixas. Quanto aos testes diagnósticos adotados no país, a coloração pelo método de Gram tem uma sensibilidade de apenas 30%, não sendo indicada. O diagnóstico laboratorial da cervicite causada por *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* pode ser feito por meio do NAAT. A imunofluorescência direta tem leitura subjetiva, exigindo bom treinamento dos profissionais e microscópio, sendo que a sensibilidade está muito abaixo do esperado. (BRASIL, 2015).

Epidemiologia

A prevalência da infecção por clamídia varia de acordo com a população estudada. Como na maioria das IST, a incidência e a prevalência são maiores entre os jovens e diminuem proporcionalmente com a idade. A prevalência de *C. trachomatis* em mulheres do Reino Unido varia de 8,4% em jovens de 16 a 17 anos a 0,8% em mulheres de 30 a 44 anos. (MORENO *et al.*, 2015; PRICE, 2016).

De acordo com o CDC (2009), nos Estados Unidos, a infecção por *C. trachomatis* é de notificação compulsória e acaba por ser a mais prevalente dentre as IST de origem bacteriana. Além do mais, quase dois terços dos mais de 2 milhões de casos notificados em 2018 foram entre adolescentes e adultos jovens, com idade de 15 a 24 anos. Entre 2013 e 2016, a prevalência geral de clamídia entre as pessoas de 14 a 39 anos foi de 1,7% e nas mulheres sexualmente ativas de 14 a 24 anos a prevalência foi de 4,3%. (CDC, 2018; PHILIPS, 2019).

Quanto à epidemiologia da doença nas américas (América do Norte, América Central e América do Sul), a prevalência da infecção por *C. trachomatis*, no ano de 2008, foi estimada em 25,2% em adultos de ambos os sexos, com incidência de 26,4 milhões de casos. (WHO, 2008).

Na Colômbia, em 2016, a prevalência total de *C. trachomatis* em toda população foi de 9,2%, sendo que a prevalência em mulheres foi de 4,4% -15,4%. (KORENROMP, 2016).

No Brasil, os dados ainda são divergentes em diferentes estudos. Segundo Piazzeta (2011), a prevalência da infecção por *C. trachomatis* em Curitiba foi estimada em 10,7%, em mulheres jovens sexualmente ativas. Já em Vitória/ES, conforme Miranda

(2004), a prevalência de *C. trachomatis* foi de 8,9% em adolescentes do sexo feminino de 15 a 19 anos. Como relata Araújo (2006), a prevalência de infecção por *C. trachomatis*, em adolescentes e mulheres jovens na região central do Brasil, foi de 19,6%, sendo nas mulheres grávidas 24,4% e mulheres não grávidas 17,6%. Conforme descrito por Garcês et al (2013), a prevalência de *C. trachomatis* em estudo transversal de mulheres atendidas em ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia Geral do Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio Grande (HU-FURG), foi de 11%. Contudo, deve-se ressaltar que, conforme Korenromp et al. (2016), as tendências nas taxas de clamídia são influenciadas por mudanças na incidência da infecção, bem como mudanças nas práticas de diagnóstico, triagem e notificação. Como as infecções por clamídia são geralmente assintomáticas, o número de infecções identificadas e relatadas pode aumentar à medida que mais pessoas são rastreadas, mesmo quando a incidência é plana ou está diminuindo.

Em revisão sistemática recente, Crichton *et al.* (2015) apontaram os fatores relacionados à positividade de *C. trachomatis*, dentre os quais se destaca: associação entre menores oportunidades e/ou realização educacional, desemprego e sexo feminino. Em concordância, O'Connell e Ferone (2016) destacam que a infecção é mais frequentemente relatada em mulheres jovens do que em homens jovens. Outros fatores de casos incidentes incluem: estado civil, novo parceiro sexual, tabagismo, fatores socioeconômicos, doenças concomitantes como: gonorreia ou vaginose bacteriana e presença de papilomavírus humano carcinogênico.

Complicações da infecção clamidiana

Aproximadamente 75% das infecções por *C. trachomatis* em mulheres são assintomáticas. Por fim, ainda se estima que o risco de transmissão da infecção clamidiana em apenas uma relação sexual esteja entre 10% e 20%. (PRICE, 2016).

Devido as características silenciosas dessa infecção, a *C. trachomatis* pode ocasionar diversas complicações sendo a doença inflamatória pélvica (DIP) a mais importante, podendo resultar em gravidez ectópica, infertilidade e dor pélvica crônica. Há algumas evidências de que a infecção por clamídia possa contribuir para outras complicações obstétricas, incluindo parto prematuro e rotura prematura de membranas, além de consequências perinatais, transmitidas via vertical, como mortalidade, pneumonia neonatal e conjuntivite. (MARCOLINO *et al.*, 2008)

Tratamento

O tratamento de pessoas infectadas com *C. trachomatis* evita complicações adversas na saúde reprodutiva, e quando associada ao tratamento dos parceiros sexuais pode prevenir novas reinfecções. Este deve ser fornecido imediatamente para todas as pessoas com resultado positivo para infecção, sendo que os atrasos no tratamento estão associados a complicações. (CDC, 2015).

As diretrizes atuais da WHO (2016), também utilizadas para o tratamento de pacientes com clamídia no Brasil, fornecem nove tratamentos para infecções genitais e LGV causados por *C. trachomatis*. Dentre eles, para a infecção genital não complicada, azitromicina oral em dose única ou doxiciclina 2 comprimidos de 100g ao dia por 7 dias ou um dos antibióticos alternativos, como: tetraciclina, eritromicina e ofloxacina. No caso das gestantes, a doxiciclina é contraindicada e a escolha deverá ser a azitromicina, sendo que em casos especiais as alternativas são amoxicilina e eritromicina. O CDC (2016) recomenda a abstinência sexual por 7 dias após a administração de antibióticos em dose única ou até a conclusão de um curso de 7 dias com antibióticos, para evitar a disseminação da infecção aos parceiros. Para minimizar o risco de reinfecção, os pacientes também devem ser instruídos a se abster de relações sexuais até que todos os seus parceiros sexuais sejam tratados. Embora a medicação pare a infecção, ela não reparará nenhum dano permanente causado pela doença e repetir a infecção é muito comum. Mulheres cujos parceiros sexuais não foram tratados adequadamente correm alto risco de reinfecção. A reinfecção por clamídia aumenta o risco de complicações na saúde reprodutiva, incluindo doença inflamatória pélvica e gravidez ectópica. Idealmente, uma avaliação e reteste deve ser feita após 3 meses do tratamento, independentemente se o indivíduo em questão acredite ou não que seu parceiro foi adequadamente tratado. (WHO, 2016; CDC 2016).

A maioria das infecções pós-tratamento não resulta da falha do mesmo, mas sim da reinfecção causada pela falta de tratamento da parceria sexual ou o início da atividade sexual com um novo parceiro infectado, indicando a necessidade de melhor educação e tratamento dos parceiros sexuais. (CDC, 2015).

Idade jovem (geralmente abaixo de 25 anos) e fatores de risco comportamentais, como infecção anterior por *C. trachomatis*, falta de uso consistente de preservativos e novos ou múltiplos parceiros por ano são os principais fatores de risco para aquisição de infecção (LANJOUW, 2015).

A prevenção da infecção por *C. trachomatis* pode ser feita nos níveis primário,

secundário e terciário de saúde. O uso do preservativo é uma das principais formas de prevenção, mas intervenções para a redução do número de parcerias sexuais e mudança de estilo de vida, são comprovadamente eficazes e precisam ser incorporadas na proposta de prevenção combinada. (BRASIL, 2015).

2.1.8 METODOLOGIA

2.1.8.1 Tipo de estudo

Estudo epidemiológico, quantitativo, do tipo observacional, transversal, descritivo e analítico.

2.1.8.2 Local e período de realização

O estudo será realizado durante o período de novembro de 2020 a julho de 2021 na cidade de Passo Fundo, RS, especificamente no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e, também, no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFFS.

2.1.8.3 População e amostragem

Este estudo será um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, que será realizado no período de 01 de dezembro de 2019 a 30 de novembro de 2021.

A população do estudo será composta de mulheres com idade superior ou igual a 18 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal segundo faixa etária preconizada pelo Ministério da Saúde para realização do exame ginecológico preventivo de rotina (propõe a realização para mulheres de 25 a 64 anos, ou antes desta faixa etária, caso já tenha iniciado a atividade sexual) e/ou maiores ou iguais a 18 anos que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais que são submetidas ao exame especular. A amostra, não probabilística, composta por conveniência, será formada por pacientes atendidas no Ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo (RS), encaminhadas ao exame citológico (Papanicolau) e/ou exame especular por queixa ginecológica, que não estejam em uso de antibióticos por pelo menos 40 dias e estejam em abstinência sexual de pelo menos 72 horas. Este ambulatório faz parte do Sistema

Único de Saúde e atende pacientes via sistema SISCAN/SISCOLO. Estima-se o tamanho amostral de 300 pacientes, considerando o número de atendimento do referido ambulatório (n=1000/ano), e a prevalência de *Chlamydia trachomatis*: (5 ± 2 pontos percentuais). (DIADHIOU et al., 2019; BRASIL, 2019).

Critérios de inclusão: serão incluídas no estudo mulheres com idade superior ou igual a 18 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina e/ou que buscam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais, que não estejam em uso de antibióticos por pelo menos 40 dias e estejam em abstinência sexual de pelo menos 72 horas.

Critérios de exclusão: serão excluídas as amostras que não estiverem adequadas para análise, como material biológico ressecado na lâmina do conteúdo vaginal, DNA insuficiente para as análises moleculares.

2.1.8.4 Variáveis e instrumentos de coleta de dados

As pacientes serão convidadas a participar da pesquisa, e as que concordarem em participar do estudo e tiverem o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado (Anexo A) serão entrevistadas pela equipe de pesquisa e terão coletadas informações através de um questionário padronizado, pré-testado e pré-codificado desenvolvido especificamente para este estudo (Anexo B). As pacientes então serão atendidas pela equipe médica da UFFS, composta por residentes do programa de Ginecologia e Obstetrícia, por médicos preceptores e docentes da instituição, e serão examinadas de acordo com protocolo ginecológico padrão e submetidas ao exame citológico (Papanicolau) em sala reservada com privacidade garantida. Será considerada como variável dependente: presença de *C. trachomatis* detectadas por RT-PCR. Serão consideradas como variáveis independentes: questões sociodemográficas (idade, se sabe ler e escrever e quantos anos de estudo, completos e com aprovação, ter ou não companheiro, renda familiar) e de saúde (se é ou não fumante, idade da primeira relação sexual, atividade sexual, número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses, se usa ou não camisinha, faz uso de algum método ou não para evitar gravidez, se já teve infecção prévia por *Chlamydia trachomatis*) discriminadas no Anexo B.

A logística nesse estudo tem como objetivo programar as etapas de coleta e evitar possíveis atrasos. As coletas dos questionários e amostras endocervicais serão iniciadas em novembro de 2020. A acadêmica da equipe de pesquisa, devidamente paramentada e em segurança se deslocará ao ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da UFFS e ao

Laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular da UFFS nas terças-feiras, quinzenalmente, das 8:30 min às 17:00 h. As mulheres selecionadas serão convidadas a participar da pesquisa e caso aceitem, serão entrevistadas pela acadêmica, sendo que os cuidados necessários haverão de ser tomados, como afastamento (pelo menos 1,5 m de distância da paciente), uso de máscara facial, jaleco, avental e luvas. Neste momento (anterior à coleta de swab endocervical) será aplicado o questionário (Anexo B), em sala privada com o intuito de preservar a privacidade das pacientes e não interferir na rotina diária do ambulatório. Após isso, a paciente será submetida à consulta normal e o material endocervical será coletado.

De maneira a se discutir os achados do estudo e definir e organizar o seu andamento, serão realizadas reuniões quinzenais junto à orientadora e coorientadoras. A data e o horário serão definidos previamente, tendo as reuniões uma duração estipulada de aproximadamente 1:00 h.

Os passos seguintes à coleta e análise do material no laboratório de Bioquímica e Biologia Molecular estarão melhor explanados no item 3.8 Protocolos Laboratoriais. Neste mesmo laboratório ocorrerão as análises de RT-PCR, pela acadêmica da pesquisa com auxílio da orientadora Dr^a. Jossimara Poletini e das coorientadoras Dr^a. Caroline Rizzi e Prof^a Ms^a Daniela Augustin Silveira. Estas análises serão realizadas nas terças-feiras, quinzenalmente e posteriormente às coletas no ambulatório. Após a análise, os resultados serão registrados no questionário (Anexo B) na categoria “resultado dos testes”, e em seguida, serão registrados no sistema de banco de dados da pesquisa.

A equipe de pesquisa, juntamente com os médicos docentes da instituição e residentes entrará em contato com a paciente para agendar um retorno de modo a apresentar os resultados obtidos e realizar o encaminhamento clínico necessário.

Os resultados plotados diretamente em planilha eletrônica possibilitarão o rápido acesso a todos os resultados pela equipe coordenadora da pesquisa e análise estatística apropriada.

2.1.8.5 Processamento, controle de qualidade e análise dos dados

Os questionários e os laudos dos resultados dos exames de RT-PCR serão digitados duplamente em uma planilha eletrônica. A análise estatística descritiva consistirá de distribuição de frequências (prevalência das variáveis dependentes e proporções das variáveis independentes). Para a análise da associação das variáveis dependentes com as independentes será empregado o Teste de Qui-quadrado,

considerando-se o nível de significância estatística de 95%, ou o Teste Exato de Fisher, no caso de que não sejam atendidos os parâmetros para o Teste de Qui-quadrado.

2.1.8.6 Protocolos Laboratoriais

Durante a consulta ginecológica será realizado um exame especular não invasivo, empregando-se o espéculo bi-valvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante para afastamento das paredes vaginais. As amostras cérvico-vaginais serão obtidas pela técnica de citologia em meio líquido (CML) e esfregaço convencional. As coletas das citologias serão realizadas por um único profissional, no meio líquido com agitação manual vigorosa para liberação das células escamosas e glandulares no frasco contendo fluido preservador CellPreserv® (Kolplast) previamente identificado. As amostras serão mantidas à temperatura ambiente e transportadas ao laboratório de acordo com a rotina. As amostras serão recebidas, triadas e processadas no Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo. Para o processamento e confecção das lâminas, o material coletado em meio líquido será submetido ao processo de rotina utilizando-se o sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv e posterior coloração pelo método de Papanicolau e classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2001. (BRASIL, 2006).

Previamente à preparação das lâminas para avaliação citológica coletada em meio líquido, 1mL do conteúdo coletado será separado em microtubo para posterior extração de DNA e pesquisa de *C. trachomatis*, seguindo descrição a seguir. Esse material será enviado aos laboratórios de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo, segundo as normas de controle de qualidade interno. O volume de amostra separado do meio líquido (alíquota) será submetido à centrifugação com subsequente extração de DNA total utilizando-se o Kit NúcleoSpin® Blood para a purificação de DNA seguindo as instruções do fabricante, resultando nas seguintes etapas: antes de iniciar a preparação, deve-se checar se o *Buffer* B5 e Proteinase K estão preparados corretamente; ligar banho-maria a 70° C; colocar *Buffer* BE a 70° C; a primeira etapa (lise da amostra de DNA) consiste em numerar um tubo de 1,5mL para cada amostra, adicionar 1000µL de amostra ao tubo de 1,5mL, adicionar 25µL de Proteinase K ao tubo com amostra, adicionar 200µL de *Buffer* B3 à mistura – homogeneizar (vórtex) por 10-20 segundos e incubar a mistura a 70° C por 30 min; a etapa 2 (ajustar as condições de ligação do DNA), na qual deve ser adicionado 210µL de etanol absoluto (96-100%) – homogeneizar

(vórtex) por 10-20 segundos; a etapa 3 (blindar o DNA) baseia-se em, primeiramente numerar uma coluna com tubo coletor para cada amostra, transferir 750µL da mistura para coluna e centrifugar 1 min a 11.000 x g; a etapa 4 (lavagem da membrana de sílica) prevê na 1ª lavagem, colocar a coluna em um novo tubo coletor (2mL) – do Kit e adicionar 500µL do *Buffer* BW; centrifugar por 1 min a 11.000 x g, na 2ª lavagem - descartar o filtrado e reutilizar o mesmo tubo coletor (2mL) e adicionar 600µL do *Buffer* B5; centrifugar por 1 min a 11.000 x g; na etapa 4 (secagem da membrana de sílica), é descartado o filtrado, recolocar a coluna reutilizando o tubo coletor (2mL) e centrifugar por 1 min a 11.000 x g; na última etapa, 5 (eluir o DNA altamente puro), coloca-se a coluna em um tubo coletor de 1,5mL e adicionar 60µL/100µL do *Buffer* BE (70° C); incubar em temperatura ambiente por 1 min e após centrifugar por 1 min a 11.000 x g, após isso deve-se repetir etapa 10 (eluição e centrifugar novamente).

As amostras serão armazenadas a -20° C até sua utilização na detecção dos patógenos pela técnica de RT-PCR.

A concentração do DNA de cada amostra será estimada através de um espectrofotômetro. Tais procedimentos serão realizados no laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo, sob a supervisão dos professores Gustavo Olszanski Acrani, Jossimara Poletini, Caroline Rizzi e Daniela Augustin Silveira.

As reações de PCR serão realizadas em volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada *primer* específico na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra de DNA pesquisada. Os *iniciadores* utilizados serão: CTPL6.1 AGAGTACATCGGTCAACGA e CTPL6.2 TCACAGCGGTTGCTCGAAGCA, de 130 pares de base (pb). As incubações serão realizadas em termociclador com os parâmetros adequados. Em todas as reações realizadas será utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA específico para cada patógeno, gentilmente cedidos pela Dra. Márcia Guimarães da Silva, do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

A eficiência das amplificações será monitorada pela eletroforese da reação em gel de agarose 1,5% preparada em tampão 1X TBE (Tris/Ácido Bórico/EDTA) e corada com brometo de etídio. O tamanho dos produtos amplificados será comparado com o padrão de 50 pb e posteriormente fotografados sob transiluminação ultra-violeta.

2.1.8.7 Tratamento, controle de cura e seguimento

Nos casos positivos para *C. trachomatis*, os tratamentos serão realizados de acordo com o recomendado pelo CDC (2016). O controle de cura dessas condições será realizado 45 dias após o término do tratamento, através da reconvocação da paciente para reavaliação dos exames propostos.

2.1.8.8 Aspectos éticos

O projeto “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde” foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS sob parecer número 3.501.252, (Anexo C) atendendo à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde, juntamente com as instituições envolvidas sob termo de ciência e concordância das instituições responsáveis pelo ambulatório da UFFS, a saber: Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) e Direção do Campus Passo Fundo da UFFS.

Aos pacientes que forem convidados a participar do estudo, será apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE (Anexo A), o qual deverá ser assinado caso concordar em participar.

Os riscos deste projeto estão relacionados à coleta para o exame citológico, envolvendo possível desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento. Para minimizar estes riscos o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar a paciente será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista a paciente será encaminhada à assistência médica.

Referente à aplicação do questionário, para evitar constrangimentos, estes serão executados por profissionais/estudantes da área da saúde, sendo comunicado à paciente que esta poderá se abster de responder as perguntas. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Ademais, os riscos deste projeto envolvem a divulgação de dados de identificação das pacientes. Para minimizar os riscos de quebra de sigilo os nomes e números de documentos de identidade das pacientes não

serão divulgados em nenhum documento. Nomes e variáveis referentes a cada paciente serão substituídos por números no momento da divulgação dos resultados da pesquisa, de forma a não divulgar qualquer informação referente à amostra, que possa identificar os participantes. O arquivo contendo a planilha geral com os dados será manipulado em um único computador de uso pessoal e de responsabilidade da equipe de pesquisa. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido.

Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de infecção clamidiana permitirá ao médico uma melhor conduta de tratamento, aliviando de maneira mais eficiente os sintomas da paciente. Ademais, a pesquisa trará como benefício indireto aos participantes, avaliar a prevalência e distribuição da infecção no município de Passo Fundo, RS. Dessa forma, será possível planejar e executar medidas de promoção e prevenção de saúde que mudem a incidência e o prognóstico da doença, de modo que todas as pacientes possuam uma melhor qualidade de vida.

Importante salientar que os exames propostos pelo estudo não fazem parte dos tradicionalmente cobertos pelo Sistema de Único de Saúde. Logo, em condições normais, estas pacientes só poderiam ter acesso a eles buscando laboratórios particulares. Assim, este estudo estará proporcionando a oferta de testes de alta tecnologia a um grupo social que talvez jamais pudesse acessá-los rotineiramente, permitindo o diagnóstico precoce e específico de doenças que podem trazer grande prejuízo a estas mulheres, como alterações de fertilidade. Dessa maneira, o principal benefício deste estudo é a inclusão social no campo da saúde da mulher.

A devolutiva dos resultados da pesquisa às pacientes dos prontuários será feita de forma direta através de consulta de retorno. Ademais, uma devolutiva às instituições envolvidas por meio da entrega de uma cópia física impressa em papel das publicações científicas, como por exemplo artigos em revistas e resumos em anais de eventos nos quais serão divulgados os resultados no projeto.

A equipe de pesquisa se compromete em manter o sigilo dos dados coletados dos questionários das pacientes. Os dados serão mantidos em local seguro e reservado por um período de cinco anos ao término do estudo. Depois deste período os dados serão devidamente destruídos. O material biológico coletado em meio líquido será mantido em ultra-freezer (-70 ° C) de armazenamento adequado por um período de cinco (05) anos no laboratório de Microbiologia e Biologia Molecular da UFFS, Campus Passo Fundo.

Envio dos relatórios parciais e final para o CEP					X				
Escrita e divulgação dos resultados na forma de artigo científico							X	X	X

Fonte: Elaborado pela autora, 2020.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, R. S.C. et al. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in adolescent females and young women in central Brazil. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, Suíça, v. 25, n.6, p. 397-400, 2006.

BALA, M.; MULLICK, J. B.; MURALIDHAR, S.; KUMAR, J.; RAMESH, V.; Gonorrhoea and its co-infection with other ulcerative, non-ulcerative sexually transmitted & HIV infection in a Regional STD Centre. **Indian Journal of Medical Research**, v.133, n. 3, p.346-349, 2011. Disponível em: <<http://www.ijmr.org.in/article.asp?issn=0971-5916;year=2011;volume=133;issue=3;page=346;epage=349;aulast=Bala>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

BLACK, C. M.; MARRAZZO, J.; JOHNSON, R. E.; HOOK, E. W.; JONES, R. B.; GREEN, T. A. et al. Head to head multicenter comparison of DNA probe and nucleic acid amplification tests for *Chlamydia trachomatis* infection in women performed with an improved reference standard. **Journal of Clinical Microbiology**, v.40, p. 3757-3763, 2002. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC130858/>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT): atenção integral às pessoas com infecções sexualmente transmissíveis (IST)**. Brasília: Ministério da Saúde, 2015. Disponível em: <http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/protocolo_clinico_diretrizes_terapeutica_atencao_integral_pessoas_infecoes_sexualmente_transmissiveis.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria da Ciência, Tecnologia, Inovação e Insumos Estratégicos em Saúde. Departamento Gestão e Incorporação de Tecnologias e Inovação em Saúde. Citologia em meio líquido para rastreamento de câncer de colo de útero e lesões precursoras. Brasília: Ministério da Saúde, 2019. Disponível em: <http://conitec.gov.br/images/Consultas/2019/Relatorio_CitologiaLiquida_CancerUtero_CP59_2019.pdf>. Acesso em: 24 out. 2020.

CENTERS FOR DISEASSE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Chlamydia Treatment and Care**. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/std/chlamydia/treatment.htm>>. Acesso em: 8 abr. 2020.

CENTERS FOR DISEASSE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sexually Transmitted Disease Surveillance**, 2018. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/std/stats18/chlamydia.htm>>. Acesso em: 17 mar. 2020.

CENTERS FOR DISEASSE CONTROL AND PREVENTION (CDC). **Sexually Trnsmitted Diseases Treatment Guidelines**, 2015. Disponível em: <<https://www.cdc.gov/std/tg2015/intro.htm>>. Acesso em: 18 mar. 2020.

CRICHTON, J. et al. Socioeconomic factors and other sources of variation in the prevalence of genital chlamydia infections: A systematic review and meta-analysis.

BMC Public Health, v.15, p.729, 2015. Disponível em: <<https://www.pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>>. Acesso em: 18 mar.2020.

DARVILLE, T. Recognition and Treatment of Chlamydial Infections from Birth to Adolescence. **Advanced in Experimental Medicine and Biology**, v.764, p. 109–122, 2013. Disponível em: < https://link.springer.com/chapter/10.1007%2F978-1-4614-4726-9_8>. Acesso em: 5 abr. 2020.

DIADHIOU, M. et al. Prevalence and Risk Factors of Lower Reproductive Tract Infections in Symptomatic Women in Dakar, Senegal. **Infections and Disease: Research and Treatment**, n.12, p.1-8, 2019. Disponível em: < https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6545636/pdf/10.1177_1178633719851825.pdf>. Acesso em: 21 set. 2020.

ELWELL, C.; MIRRASHIDI, K.; ENGEL, J. *Chlamydia* cell biology and pathogenesis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 14, n. 6, p. 385–400, 2016. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro.2016.30>>. Acesso em: 5 abr. 2020.

GARCÊS, A. X. et al. Prevalência de *Chlamydia trachomatis* e fatores de risco associados à infecção detectada em amostra endocervical. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 35, n.8, p.379-383, 2013. Disponível em: < <https://www.scielo.br/pdf/rbgo/v35n8/08.pdf>>. Acesso em: 16 out. 2020.

GAYDOS, C. A.; THEODORE, M.; DALESIO, N.; WOOD, B.J.; QUINN, T. C. Comparison of three nucleic acid amplification tests for *Chlamydia trachomatis* in urine specimens. **Journal of Clinical Microbiology**, v.42, v.7, p. 3041-3045, 2004. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15243057>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

GEISLER, W.M.; SUCHLAND, R. J.; WHITTINGTON, W. L.; STAMM, W. E. Quantitative culture of *Chlamydia trachomatis*: relationship of inclusion forming units produced in culture to clinical manifestations and acute inflammation in urogenital disease. **Journal of Infectious Disease**, v. 184, n. 1, p. 1350-1354, 2001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11679929>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

HARDER, E. et al. Risk Factors for Incident and Redetected *Chlamydia trachomatis* Infection in Women: Results of a Population-Based Cohort Study. **American Sexually Transmitted Diseases Association**, v. 43, n. 2, p. 113 – 119, 2016. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26760181/>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

HSU, Katherine; MARRAZZO, Jeanne; BLOOM, Allyson. Clinical manifestations and diagnosis os *Chlamydia trachomatis* infections. **UptoDate**, 2019. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/clinical-manifestations-and-diagnosis-of-chlamydia-trachomatis-infections?search=chlamydia%20PCR&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1>. Acesso em: 17 ago. 2020.

KORENROMP, Eline. et al. Prevalence and incidence estimates for *syphilis*, *chlamydia*, *gonorrhoea*, and congenital *syphilis* in Colombia, 1995–2016. **Pan American Journal of Public Health**, Colômbia, v. 42, n. 118, p. 1-10, 2018.

MALHOTRA, M.; SOOD, S.; MUKHERJE, A.; MURALIDHAR, S.; BALA, M. Genital *Chlamydia trachomatis*: An Update. **Indian J Med Res.**, v. 138, n. 3, p. 303–316, 2013. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3818592/>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

MIRANDA, Angelica Espinosa et al. Prevalence and risk behaviors for chlamydial infection in a population-based study of female adolescents in Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 31, n.9, p.542-546, 2004. Disponível em: <<https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/647>>. Acesso em: 8 abr. 2020.

MORENO, I. L.; COLOMBO, S.; MIRANDA, S. D.; FONSECA, A. M. Doenças Causadas por Clamídias. In: FOCACCIA, R.; VERONESI, R. **Tratado de Infectologia**. 5. ed. São Paulo: Atheneu, 2015. p. 931-944.

NEWMAN, L. et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. **PLoS ONE**, v. 10, n. 12, p. 1–17, 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4672879/pdf/pone.0143304.pdf>>. Acesso em: 8 abr. 2020.

O'HANLON, D. E.; COME, R. A.; MOENCH, T. R. Vaginal pH measured *in vivo*: lactobacilli determine pH and lactic acid concentration. **BMC Microbiology**, v. 19, n. 1, p. 1–8, 2019. Disponível em : <<https://bmcmicrobiol.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/s12866-019-1388-8>>. Acesso em: 18 mar. 2020.

O'HANLON, D. E.; MOENCH, T. R.; CONE, R. A. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. **A Ploor-Reviewed Open Access Journal**, v. 8, n. 11, p. 1–8, 2013. Disponível em : <<https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0080074>>. Acesso em: 18 mar. 2020.

O'CONNELL, C. M.; FERONE, M. E. *Chlamydia trachomatis* Genital Infections. **Microbial Cell**, v.3, n.9, 2016. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5354567/pdf/mic-03-390.pdf>>. Acesso em: 5 abr. 2020.

PIAZZETTA, R. C. P. S. et al. Prevalência da infecção por *Chlamydia Trachomatis* e *Neisseria Gonorrhoea* em mulheres jovens sexualmente ativas em uma cidade do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, Rio de Janeiro, v.33, n. 11, p. 328-333, 2011. Disponível em: <<https://www.scielo.br/pdf/rbgo/v33n11/a02v33n11.pdf>>. Acesso em: 5 abr. 2020.

PHILLIPS, J. A. *Chlamydia* Infections. **Workplace Health and Safety**, v. 67, n. 7, p. 375–376, 2019. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/2165079919853590>>. Acesso em: 6 abr. 2020.

PRICE, M. J. et al. The natural history of *Chlamydia trachomatis* infection in women: a multi-parameter evidence synthesis. **Health Technol Assessment**, Reino Unido, v. 20,

n. 22, p. 11-20, 2016. Disponível em: < <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27007215/>>. Acesso 6 abr. 2020.

SAISON, F.; MAHILUM-TAPEY, L.; MICHEL, C.E.; BUTTRESS, N. D.; NADALA, B.; MAGBANUA, J. P. et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection and performance of Chlamydia rapid tests among low- and high-risk Filipino women in resource-limited settings. **Journal of Clinical Microbiology**, v.45, n.12, p.4011-4017, 2007. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17942659>>. Acesso em: 7 abr. 2020.

TAPSALL, J. W.; KINCHINGTON, M. The frequency of co-infection with *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in men and women in eastern Sydney. **Pathology**, v.28, p. 84-87, 1996. Acesso em: 4 abr. 2020.

TACHEDJIAN, G.; O'HANLON, D. E.; RAVEL, J. The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. **Microbiome**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 3–7, 2018. Disponível em: < https://www.burnet.edu.au/publications/4995_the_implausible_in_vivo_role_of_hydrogen_peroxide_as_an_antimicrobial_factor_produced_by_vaginal_microbiota>. Acesso em: 21 jun. 2020.

TORTORA, Gerard J.; BERDELL R.; FUNKE, Christine L. Doenças microbianas dos sistemas urinário e reprodutivo. In: TORTORA, Gerard J.; BERDELL R.; FUNKE, Christine L. **Microbiologia**. 12. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. p. 751-762.

WARD, M.E.; RIDGWAY G. Chlamydia. In: COLLIER, L.; BALOWS, A.; SUSSMAN A. **Topley and Wilsons microbiology and microbial infection**. 9th ed. New York: Oxford University; 1999, p. 1331–6.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Global incidence and prevalence of selected curable sexually transmitted infections**. Geneva: 2008. Disponível em: < <https://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/stisestimates/en/>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Guidelines for the management of sexually transmitted infection**. Geneva: 2003. p.89. Disponível em: < <https://www.who.int/hiv/pub/sti/pub6/en/>>. Acesso em: 12 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Sexually Transmitted Infections**. Disponível em: <[https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis))>. Acesso em: 18 mar. 2020.

WORKOWISK, Kimberly A.; BOLAN, Gail A. **Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines**. Atlanta, 2015. Disponível em: < <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr6403a1.htm>>. Acesso em: 19 ago. 2020.

ANEXO A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezada Participante,

Você está sendo convidada a participar voluntariamente da pesquisa “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde” desenvolvida por Prof. Dr. Gustavo Olszanski Acrani, da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e sua equipe de pesquisa.

O objetivo central desse estudo é avaliar a saúde das mulheres, fazer exames preventivos de câncer de colo de útero, assim como detectar o Vírus Papiloma Humano (HPV) e alterações dos microrganismos vaginais através de exames ginecológicos. Sua participação não é obrigatória e você tem plena autonomia para decidir se quer ou não participar, bem como desistir da colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação e sem nenhuma forma de penalização.

Você não receberá remuneração e nenhum tipo de recompensa nesta pesquisa, sendo sua participação voluntária. Esclarecemos também que, apenas os pesquisadores que assinam este documento, terão acesso aos dados das análises de seu exame, e todas as precauções serão tomadas para manter sigilo absoluto sobre seu nome e respectivos dados.

A equipe de pesquisa se compromete em manter o sigilo dos dados coletados dos prontuários das pacientes por meio do Termo de Compromisso Para Uso de Dados em Arquivo. A participação na pesquisa envolve responder um questionário, que levará 05 minutos, em que serão feitas perguntas a respeito de sua saúde. Em seguida será realizado o exame de ginecologia chamado Papanicolau, que será realizado por uma médica da equipe, e consiste em realizar uma raspagem leve no interior da vagina.

Existem riscos relacionados ao estudo, envolvendo um possível leve desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento. Para minimizar estes riscos, o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar você será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista você será encaminhada à assistência médica.

Outro risco possível é ficar constrangida com alguma pergunta que for feita. Para evitar constrangimentos, as perguntas serão feitas por profissionais da área da saúde, e você poderá deixar de responder as perguntas se quiser. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Para minimizar os riscos de quebra de sigilo o seu nome números de documentos de identidade não serão divulgados em nenhum documento. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido.

Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV, alterações de microrganismos vaginais são importantes para esclarecer queixas ginecológicas e, não são ofertados pelo SUS. Além disso, a relação desses exames com o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de câncer de colo do útero. Você será informada sobre o resultado do exame e será chamada para retorno médico e receberá tratamento caso for detectada alguma alteração no exame.

Ao final da pesquisa, todo material será mantido em arquivo, físico ou digital, por um período de cinco anos, e depois deste período esses dados serão destruídos. A pesquisa será desenvolvida segundo as normas da Resolução no. 466 de 12 de dezembro de 2012.

As informações e os resultados obtidos através das análises laboratoriais, poderão ser utilizados em congressos científicos ou publicados em revistas científicas, asseguramos que jamais revelaremos seu nome, instituição ou qualquer informação relacionada a sua privacidade para que você não seja identificado.

Caso concorde em participar, uma via deste termo ficará em seu poder e a outra será entregue ao pesquisador. Não receberá cópia deste termo, mas apenas uma via. Desde já agradecemos sua participação!

Este documento é elaborado em duas vias, que serão devidamente preenchidas, rubricadas todas as páginas e assinadas pelos pesquisadores e por você. Uma via deste documento ficará com os pesquisadores e a outra via ficará com você. O TCLE garante seus direitos como participante da pesquisa e nela está presente o contato e o endereço dos pesquisadores, bem como do Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS para quaisquer dúvidas que você venha a ter futuramente.

Eu, (NOME COMPLETO) _____ declaro que li (ou tive este documento lido por uma pessoa de confiança) e entendi os objetivos, riscos e benefícios de minha participação na pesquisa, bem como, tive todos os esclarecimentos que julguei necessários sobre a pesquisa repassados pelos pesquisadores. Portanto opto por livre e espontânea vontade em participar da pesquisa.

Assinatura: _____.

Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS:

Tel e Fax - (049) 2049-3745 E-Mail: cep.uffs@uffs.edu.br

Endereço para correspondência: Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS, Universidade Federal da Fronteira Sul, Bloco da Biblioteca, Sala 310, 3º andar, Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul, CEP 89815-899, Chapecó, Santa Catarina, Brasil.

Local: _____ Data: ____/____/2019

Assinatura: _____

Pesquisador Responsável: Gustavo Olszanski Acrani

Contato do Pesquisador Responsável:

Coordenador do Projeto Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) Campus Passo Fundo, ⁵⁴3335-8527

e-mail: gustavo.acrani@uffs.edu.br

ANEXO B

Instrumento: Questionário a ser aplicado via entrevista direta com as pacientes na consulta.

QUESTÕES DE IDENTIFICAÇÃO E SOCIODEMOGRÁFICAS

NQUES _ _ _

Nome do entrevistador

Data

Qual é o seu nome completo?

Você tem telefone para contato? SE NÃO, PERGUNTE SOBRE TELEFONE PARA RECADO E ANOTE DE QUEM É

Qual é a sua idade? _ _ ANOS COMPLETOS

IDADE _ _

Você se considera de que raça/cor?

RACA _

(1) Branca (2) Preta (3) Parda (4) Indígena (5) Amarela

Você sabe ler e escrever?

LER _

(0) Não

(1) Só assina o nome

ESCOLA _ _

(2) Sim. **Quantos anos de estudo, completos e com aprovação, você tem? _ _ anos**

Em relação à situação conjugal, você:

COMPAN _

(0) Não tem companheiro

(1) Tem companheiro. Há quanto tempo está com o companheiro atual? _____ (EM MESES)

TEMPCO _ _

No total, quantas pessoas, incluindo você, moram na sua casa? _

MORA _ _

Você exerce atividade remunerada?

TRAB _

(0) Não/Aposentado/Pensionista

TIPOT _ _

(1) Sim/Em benefício. **Trabalha em quê? _____**

Qual a renda total das pessoas que moram na sua casa, incluindo você?

RENDA _ _ _ _ _

Qual sua religião? _____ (0) não tem

RELI _

Você mora em Passo Fundo?

RESID _

(1) Sim. **Qual o bairro? _____**

BAIRRO _ _

(2) Não. **Qual cidade? _____**

CIDADE _ _

QUESTÕES SOBRE HÁBITOS DE VIDA E DE SAÚDE

Você sabe seu peso? _____ Kg (0) Não sei PESO ___ __

Você sabe sua altura? _____ metros (0) Não sei ALTURA __, __ __

Você fuma? FUMA__

(1) Sim (2) Não/ex-fumante

Você tem o costume de consumir bebida alcoólica? ÀS VEZES/DE VEZ EM QUANDO, CONSIDERE "SIM" BEBE__

(1) Sim (2) Não

Qual foi a idade da sua primeira menstruação? _____ (00) não lembra IDMENST__ __

Qual foi a idade da sua primeira relação sexual? _____ (00) não lembra IDSEX __ __

Você é sexualmente ativo? ATIVO__

(0) Não

(1) Sim.

Quantos parceiros sexuais você teve nos últimos 12 meses? _____ PARCE__ __

Você tem o hábito de usar preservativo/camisinha? PRESERVA__

(1) Sim, sempre (2) Sim, algumas vezes (3) Não.

Você usa algum método para evitar a gravidez?

(0) Não CONTRA__

(1) Sim. Qual? _____

Alguma vez na vida você fez exame ginecológico preventivo? PREV__

(0) Não. Por que você não fez o exame ginecológico preventivo? PQNPREV__

(1) Sim DATAPREV__ __

Quando fez seu último exame ginecológico preventivo? HÁ _____ MESES ULTPREV__

(00) mais de 3 anos

Qual foi o resultado do seu último exame ginecológico preventivo?

(1) Normal (2) Alterado (3) infecção (4) nunca fez/não lembra

Você já engravidou? GRAVIDA__

(1) Sim

Quantas vezes ficou grávida? __ __
Qual foi a idade da primeira gravidez? __ __ anos
Você tem filhos?

(0) Não.

(1) Sim. **Quantos?** __ __ filhos**Você fez parto normal?**

(0) Não

(1) Sim. **Quantos?** __ __**Você fez parto cesáreo?**

(0) Não

(1) Sim. **Quantos?** __ __

Teve alguma complicação nas gestações anteriores?

(0) Não

(1) Sim. **Qual** _____**Já tentou engravidar e não conseguiu?**

(0) Não

(1) Sim. **Por quanto tempo tentou?** _____ (EM MESES)**Sabe por que não conseguiu engravidar?**

(0) Não

(1) Sim. **Por quê?** _____**Alguma vez algum médico lhe disse que você teve:**

- **Vaginose bacteriana?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **Candidíase?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **HPV – Papilomavirus Humano?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **Sífilis?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **Alguma outra infecção genital** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
SE SIM, QUAL? _____
- **Diabetes?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **Pressão Alta** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra

NGRAVI __ __

IGRAVI __ __

FILHO __

QFILHO __ __

NORMAL __

QNORM __ __

CESAR __

QCESAR __ __

COMPLIC __

COMPANT __

CONS __

QCONS __ __

SABE __

PQNCONS __

VB __

CANDIDA __

HPV __

SIFILIS __

OUTRAINFEC __

QUALINF __

DM __

HAS __

CANCER __

LCAN __ __

- **Câncer?** (1) Sim (2) Não/ Não sabe/não lembra
- **SE SIM, em que local do corpo?** _____

Você tomou a vacina para HPV?

- (1) Sim
(2) Não. **Por quê?** _____

VACIN _____

PQNVAC _____

EXAMES CLÍNICOS

Queixas:

Leucorréia (“corrimento”): (0) Não (1) Sim QLEUCOR__

Tempo: (1) até 7 dias (2) 08-30 dias (3) + 30 dias (4) Não sabe QTEMPO __

Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe QINTEN __

Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe QASPEC__

Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe QCOR__

Odor: (0) Não (1) Sim QODOR__

Dor: (0) Não (1) Sim DOR ____

Amenorréia: (1) Sim (2) Não AMEN__

Dispareunia: (1) Sim (2) Não DISPAR ____

Prurido (1) Sim (2) Não PRURIDO__

Outra queixa: (1) Sim (2) Não **Qual?** _____ OUTRA ____

QOUTRA __

ELEUCOR__

Exame clínico:

Leucorréia: (0) Não (1) Sim EINTEN __

Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe EASPEC__

Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe ECOR__

Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe EODOR__

Odor (0) Não (1) Sim EVULV__

ENDOC__

Vulvite (0) Não (1) Sim ECTO__

ELESO__

Endocervicite (0) Não (1) Sim EOUTRO__

EOUTRO__

Ectopia (0) Não (1) Sim

Lesão (0) Não (1) Sim

Outros _____

Exames clínicos:

Whiff test: (1) positivo (2) negativo (3) não realizado WHIFF ___

Teste de Schiller/Teste com Lugol: (1) positivo (2) negativo (3) não realizado LUGOL ___

PH___

Teste pH vaginal: (1) 3,0 a 4,0 (2) 4,0 a 5,0 (3) >5,0 (4) não realizado

RESULTADOS DOS TESTES

Exame citopatológico convencional (SUS-SISCAN): _____ CITOSUS__

Exame citopatológico meio líquido: _____ CITOLIQ__

PCR para HPV: (1) positivo (2) negativo HPV___

Tipagem de HPV: (1) 16 (2) 18 (3) 6/11 (4) outro HPVTP___

PCR Tempo real: (1) positivo (2) negativo RTHPV ___

Tipagem de HPV tempo REAL: _____ RTIPO __

Exame da microbiota vaginal (Gram):

Flora 1 (0) Não (1) Sim FLORA1 __

Flora 2 (0) Não (1) Sim FLORA2 __

Vaginose Bacteriana 7e 8 (0) Não (1) Sim VB78 __

Vaginose Bacteriana 9 e 10 (0) Não (1) Sim VB910__

Candidíase (0) Não (1) Sim CAND__

Vaginose citolítica (0) Não (1) Sim VC__

Vaginite aeróbia (0) Não (1) Sim VA__

Flora 1+PMN (0) Não (1) Sim F1PMN __

Outro _____ OUTROG__

PCR para *Chlamydia trachomatis* (1) positivo (2) negativo CHLA _____

TRATAMENTO

Tratamento

RETORNO

DATA DO RETORNO: DATAR ___/___/___

Queixas:

Leucorréia ("corrimento"): (0) Não (1) Sim QLEUCOR2__

Tempo: (1) até 7 dias (2) 08-30 dias (3) + 30 dias (4) Não sabe QTEMPO2 __

Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe QINTEN2 __

Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe QASPEC2__

Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe QCOR2__

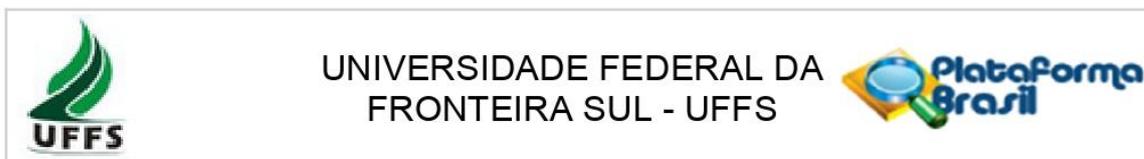
Odor: (0) Não (1) Sim QODOR2__

Dor: (0) Não (1) Sim DOR2 _____

Amenorréia: (1) Sim (2) Não	AMEN2____
Dispareunia: (1) Sim (2) Não	DISPAR2 ____
Prurido (1) Sim (2) Não	PRURIDO2____
Outra queixa: (1) Sim (2) Não Qual? _____	OUTRA2 ____ QOUTRA2____
Exame clínico:	
Leucorréia: (0) Não (1) Sim	ELEUCOR2__
Intensidade: (1) pouco (2) moderado (3) muito (4) Não sabe	EINTEN2 __
Aspecto: (1) fluido (2) pastoso (3) não sabe	EASPEC2____
Cor: (1) branco (2) amarelo (3) esverdeado (4) não sabe	ECOR2____
Odor (0) Não (1) Sim	EODOR2____
Vulvite (0) Não (1) Sim	EVULV2__
Endocervicite (0) Não (1) Sim	ENDOC2__
Ectopia (0) Não (1) Sim	ECTO2__
Lesão (0) Não (1) Sim	ELESO2__
Outros _____	EOUTRO2__
Exames clínicos:	
Whiff test: (1) positivo (2) negativo (3) não realizado	WHIFF2 ____
Teste de Schiller/Teste com Lugol: (1) positivo (2) negativo (3) não realizado	LUGOL2 ____
Teste pH vaginal: (1) 3,0 a 4,0 (2) 4,0 a 5,0 (3) >5,0 (4) não realizado	PH2____
Exame da microbiota vaginal (Gram):	
Flora 1 (0) Não (1) Sim	FLORA12 __
Flora 2 (0) Não (1) Sim	FLORA22 __
Vaginose Bacteriana 7e 8 (0) Não (1) Sim	VB782__
Vaginose Bacteriana 9 e 10 (0) Não (1) Sim	VB9102__
Candidíase (0) Não (1) Sim	CAND2__
Vaginose citolítica (0) Não (1) Sim	VC2__
Vaginite aeróbia (0) Não (1) Sim	VA2__
Flora 1+PMN (0) Não (1) Sim	F1PMN2 __
Outro _____	OUTROG2__

TRATAMENTO 2

ANEXO C



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e diagnóstico molecular de Papiloma Vírus Humano (HPV) e infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) em mulheres em atendidas na Rede Básica de Saúde.

Pesquisador: GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 17632919.0.0000.5564

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL - UFFS

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.736.932

Apresentação do Projeto:

O projeto trata de rerepresentação de protocolo de pesquisa em que haviam permanecido pendências éticas de acordo com o parecer nº 3.501.252.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Determinar a prevalência de alterações em exames citológicos de colo de útero, bem como sua relação com a infecção pelo Papiloma Vírus Humano (HPV) e outras ISTs em mulheres em idade reprodutiva e implementar um método diagnóstico molecular para HPV acessível às mulheres atendidas na Rede Básica de Saúde.

Objetivo Secundário:

Determinar a frequência de alterações patológicas em exames citológicos em mulheres em idade reprodutiva no município de Passo Fundo, RS.

Determinar os fatores sociais, demográficos e de saúde associados às pacientes com alterações citológicas.

Demonstrar a importância do meio

líquido na preservação de amostras celulares para testes adicionais com sensibilidade adequada para detecção de HPV e outras ISTs, como os

testes de PCR convencional e PCR em Tempo, uma vez que o Sistema Único de Saúde não

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural

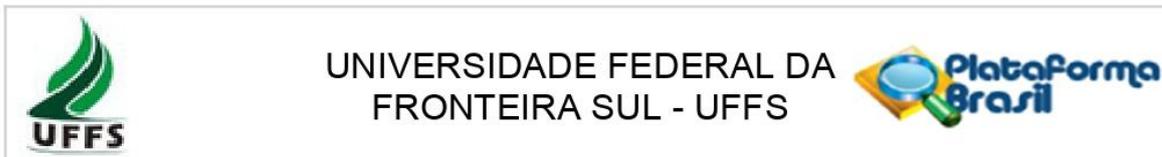
CEP: 89.815-899

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)2049-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

disponibiliza estas técnicas para a população atendida dentro do sistema. Padronizar ensaios de PCR convencional e em Tempo Real com sensibilidade adequada para detecção de HPV em amostras provenientes de exame citológico em meio líquido e demonstrar que a detecção do material genético viral pode ser uma técnica acessível para triagem da população. Detectar o material genético viral dos sorotipos mais importantes do vírus: HPVs 16 e 18 (alto risco para câncer de colo de útero) e HPVs 6 e 11 (baixo risco) por PCR convencional e Tempo Real. Avaliar a correlação entre exames citopatológicos alterados e presença de HPV detectado por PCR convencional e Tempo Real. Detectar por método molecular (PCR) os microrganismos comumente associados à flora vaginal, assim como os potenciais patógenos associados a vaginose bacteriana isolados no exame citológico. Estimar a frequência dos diferentes sorotipos de HPV na população estudada. Identificar os fatores sociodemográficos e clínicos associados ao diagnóstico positivo de HPV e de exame citológico alterado.

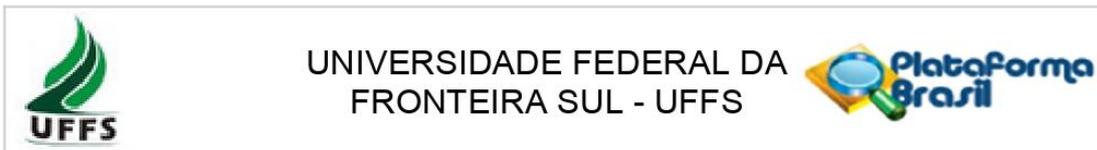
Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos deste projeto estão relacionados à coleta para o exame citológico, envolvendo possível desconforto, tontura, mal-estar e constrangimento.

Para minimizar estes riscos o procedimento de coleta será realizado por profissionais capacitados, em ambiente reservado e sem a presença de demais pessoas, permitindo a assistência necessária durante e após o procedimento. Se eventualmente os riscos se concretizarem, por exemplo, nos casos de desconforto, tonturas ou mal-estar a paciente será posicionada deitada em uma maca e será procedida a aferição de pressão arterial e acompanhamento até normalização, caso o mal-estar persista a paciente será encaminhada à assistência médica. Referente à aplicação do questionário, para evitar constrangimentos, estes serão executados por profissionais da área da saúde, sendo comunicado à paciente que esta poderá se abster de responder as perguntas. A entrevista será realizada em sala isolada, minimizando os riscos de constrangimento. Ademais, os riscos deste projeto envolvem a divulgação de dados de identificação das pacientes. Para

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECÓ
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

minimizar os riscos de quebra de sigilo os nomes e números de documentos de identidade das pacientes não serão divulgados em nenhum documento. Nomes e variáveis referentes a cada paciente serão substituídos por números no momento da divulgação dos resultados da pesquisa, de forma a não divulgar qualquer informação referente à amostra, que possa identificar os participantes. O arquivo contendo a planilha geral com os dados será manipulado em um único computador de uso pessoal e de responsabilidade da equipe de pesquisa. No caso de os riscos se concretizarem o estudo será interrompido.

Benefícios:

Como benefícios podemos relatar que o diagnóstico específico de presença de HPV e o laudo do exame citológico é um importante exame preventivo de câncer de colo do útero. A paciente incluída no estudo será informada especificamente em relação ao exato vírus que a infecta, o que permitirá ao médico um melhor tratamento, aliviando de maneira mais eficiente os sintomas deste paciente. Ademais, a pesquisa trará como benefício indireto aos participantes, avaliar a frequência de exames citopatológicos alterados, bem como sua relação com as infecções pelo Papiloma Vírus Humano, com as neoplasias de colo uterino e sua distribuição no município de Passo Fundo, RS. Dessa forma, será possível planejar e executar medidas de promoção e prevenção de saúde que mudem a incidência e o prognóstico da doença, de modo que todas as pacientes possuam uma melhor qualidade de vida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

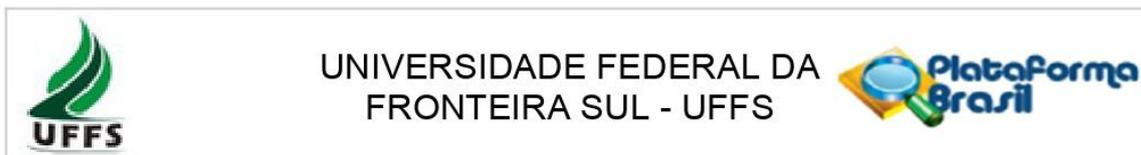
Os pesquisadores realizaram as adequações éticas, conforme apresentado em carta de pendências anexada na Plataforma Brasil, bem como realizaram as alterações nos espaços da PB.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Folha de rosto nova está adequada
 TCUDA está adequado
 TCLE novo está adequado
 Termo de Ciência da Instituição está adequado.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural CEP: 89.815-899
UF: SC Município: CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

Não há impedimentos éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

Prezado (a) Pesquisador(a)

A partir desse momento o CEP passa a ser corresponsável, em termos éticos, do seu projeto de pesquisa – vide artigo X.3.9. da Resolução 466 de 12/12/2012.

Fique atento(a) para as suas obrigações junto a este CEP ao longo da realização da sua pesquisa. Tenha em mente a Resolução CNS 466 de 12/12/2012, a Norma Operacional CNS 001/2013 e o Capítulo III da Resolução CNS 251/1997. A página do CEP/UFFS apresenta alguns pontos no documento “Deveres do Pesquisador”.

Lembre-se que:

1. No prazo máximo de 6 meses, a contar da emissão deste parecer consubstanciado, deverá ser enviado um relatório parcial a este CEP (via NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil) referindo em que fase do projeto a pesquisa se encontra. Veja modelo na página do CEP/UFFS. Um novo relatório parcial deverá ser enviado a cada 6 meses, até que seja enviado o relatório final.
2. Qualquer alteração que ocorra no decorrer da execução do seu projeto e que não tenha sido prevista deve ser imediatamente comunicada ao CEP por meio de EMENDA, na Plataforma Brasil. O não cumprimento desta determinação acarretará na suspensão ética do seu projeto.
3. Ao final da pesquisa deverá ser encaminhado o relatório final por meio de NOTIFICAÇÃO, na Plataforma Brasil. Deverá ser anexado comprovação de publicização dos resultados. Veja modelo na página do CEP/UFFS.

Em caso de dúvida:

Contate o CEP/UFFS: (49) 2049-3745 (8:00 às 12:00 e 14:00 às 17:00) ou cep.uffs@uffs.edu.br;

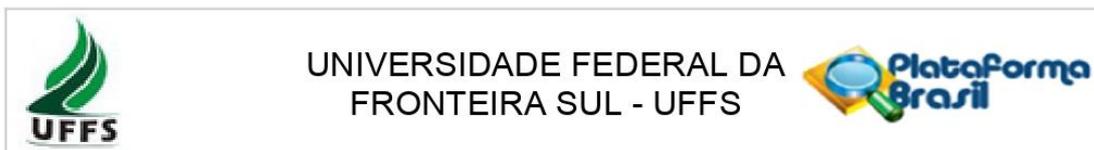
Contate a Plataforma Brasil pelo telefone 136, opção 8 e opção 9, solicitando ao atendente suporte Plataforma Brasil das 08h às 20h, de segunda a sexta;

Contate a “central de suporte” da Plataforma Brasil, clicando no ícone no canto superior direito da página eletrônica da Plataforma Brasil. O atendimento é online.

Boa pesquisa!

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar
Bairro: Área Rural **CEP:** 89.815-899
UF: SC **Município:** CHAPECO
Telefone: (49)2049-3745 **E-mail:** cep.uffs@uffs.edu.br



Continuação do Parecer: 3.736.932

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1395936.pdf	27/11/2019 20:45:36		Aceito
Outros	termo_ciencia_hsvp.pdf	27/11/2019 20:45:13	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	TCUD.pdf	19/11/2019 16:16:29	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	carta_resposta.pdf	14/11/2019 15:20:25	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	14/11/2019 15:19:54	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_completo_novo.pdf	14/11/2019 15:19:36	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Folha de Rosto	folha_rosto_nova.pdf	14/11/2019 15:18:53	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	ficha_rotina.pdf	10/07/2019 19:55:10	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito
Outros	Instrumento_coleta.pdf	10/07/2019 19:54:45	GUSTAVO OLSZANSKI ACRANI	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

CHAPECO, 30 de Novembro de 2019

Assinado por:
Fabiane de Andrade Leite
(Coordenador(a))

Endereço: Rodovia SC 484 Km 02, Fronteira Sul - Bloco da Biblioteca - sala 310, 3º andar

Bairro: Área Rural

CEP: 89.815-899

UF: SC

Município: CHAPECO

Telefone: (49)2049-3745

E-mail: cep.uffs@uffs.edu.br

2.2 RELATÓRIO DE PESQUISA

O projeto de pesquisa intitulado “Prevalência de *Chlamydia trachomatis* em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS)” tem como objetivo determinar a prevalência de *C. trachomatis* por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) em mulheres atendidas no ambulatório de Ginecologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e no ambulatório SUS do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP) para realização de exame de citologia cérvico-vaginal de rotina ou por sintomas como lecorreia/prurido/queixas menstruais.

O projeto foi redigido no componente curricular de Trabalho de Curso I, no primeiro semestre letivo de 2020, sob orientação da Prof^ª. Dr^ª. Jossimara Poletini e coorientação da Prof^ª. Dr^ª. Caroline Rizzi e Prof^ª. Ms^ª. Daniela Augustin Silveira. O presente estudo é um recorte de uma pesquisa maior intitulada “Citologia cérvico-vaginal em meio líquido e detecção de Papiloma Vírus Humano (HPV), infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) e alteração de microbiota vaginal em mulheres atendidas no Sistema Único de Saúde”, aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos (CEP) da UFFS sob parecer número 3.501.252 (Anexo C do projeto).

Referente a coleta de dados, esta foi iniciada em 01 de novembro de 2020 com previsão de término para maio de 2021, tendo sido interrompida no dia 14 de dezembro de 2020, devido a piora do quadro epidemiológico de COVID-19 no estado do Rio Grande do Sul. As amostras coletadas (11 amostras até dia 14/12/2020) foram encaminhadas ao laboratório de Bioquímica da UFFS e analisadas por RT-PCR. Durante a coleta dos questionários, foi notada a dificuldade de resposta das pacientes em uma questão específica (Você é sexualmente ativo?), tendo sido adaptada para melhor entendimento.

A coletada de dados teve retorno no dia 8 de fevereiro de 2021, na qual obteve-se mais 2 amostras (13 amostras até dia 22/02/2021), contudo, foram novamente interrompidas no dia 22 do mesmo mês devido à grande piora no quadro epidemiológico de COVID-19. Devido ao baixo fluxo de pacientes e a suspensão dos atendimentos no ambulatório de ginecologia da UFFS, uma solicitação de emenda para a inclusão de coletas no ambulatório SUS do Hospital São Vicente de Paulo foi enviado ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFFS (CEP) em 12 de fevereiro de 2021, tendo aprovação no dia 16 de fevereiro de 2021. As coletas estão previstas para retorno em março de 2021, com mais este local disponível, no intuito de aumentar o número de amostras.

As coletas foram finalmente retomadas em 10 de maio de 2021 até final de junho de 2021, tendo como resultado a amostra final de 22 participantes.

Devido ao número limitado e restrito de associações e relações somente com a detecção da *C. trachomatis*, foi incluído no estudo a pesquisa para detecção e tipagem 06/11 e 16 de Papilomavírus Humano (HPV), cuja metodologia foi referenciada no artigo científico, seção 3 deste volume, e, também, está descrita a seguir.

Para a detecção de DNA-HPV, foi empregada a técnica de PCR utilizando os iniciadores MY09 e MY11, os quais flanqueiam uma região do gene L1 do HPV, e que gera um produto amplificado de 450 pares de base (pb), seguido de Nested-PCR com os iniciadores GP5+/GP6+, que flanqueiam um fragmento interno à região anterior, de 150pb, para ampliar a sensibilidade da reação. As reações foram realizadas em volume final de 20 uL, composto por 10 uL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix (Promega); 1,0 uL de cada *primer* na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra pesquisada. As incubações foram realizadas em termociclador com os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e 95°C durante 45 segundos para desnaturação, 47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos.

Para a determinação dos tipos virais presentes nas amostras que apresentaram positividade para DNA de HPV foi empregada a técnica de PCR-multiplex, utilizando iniciadores específicos para os tipos 6 e 16. As reações foram realizadas com volume final de 20 uL, seguindo a descrição anterior.

Em todas as reações realizadas foi utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA específico para cada patógeno, gentilmente cedidos pela Dra. Márcia Guimarães da Silva, do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Os dados obtidos pelo questionário foram duplamente digitados e validados em banco criado no EpiData versão 3.1 e, em seguida, transferidos para o programa estatístico PSPP versão 3.03 para a realização das análises (ambos de distribuição livre). A partir dos dados analisados, foi feita a comparação e discussão com a literatura médica mundial, resultando na produção de um artigo científico contendo os resultados obtidos no estudo, de acordo com os moldes da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (ANEXO D).

ANEXO D - Instruções para autores: Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia

A Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia (Rev Bras Ginecol Obstet., ISSN 1806-9339), publicação mensal de divulgação científica da Federação das Sociedades de Ginecologia e Obstetrícia (FEBRASGO), é dirigida a obstetras, ginecologistas e profissionais de áreas afins, com o propósito de publicar resultados de pesquisa sobre temas relevantes no campo da Ginecologia, Obstetrícia e áreas correlatas. É aberta a contribuições nacionais e internacionais. A revista recebe submissões apenas no idioma inglês.

A revista on-line tem acesso aberto e gratuito. Instruções aos Autores Escopo e Política Todo o conteúdo do periódico, exceto onde está identificado, está licenciado sob uma Licença Creative Commons O material enviado para análise não pode ter sido submetido simultaneamente à publicação em outras revistas nem publicado anteriormente. Na seleção dos manuscritos para publicação, são avaliadas originalidade, relevância do tema e qualidade da metodologia utilizada, além da adequação às normas editoriais adotadas pela revista. O material publicado passa a ser propriedade intelectual da Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia e da Febrasgo. Avaliação dos manuscritos Os manuscritos submetidos à revista são recebidos pelo Escritório Editorial, que realiza a conferência das documentações obrigatórias, bem como analisa se as normas editoriais contidas nas Instruções aos Autores foram cumpridas. Se o processo estiver em conformidade, o manuscrito será enviado ao EditorChefe que fará uma avaliação de mérito do manuscrito submetido. Se o Editor-Chefe concluir que o trabalho está em condições científicas e técnicas favoráveis, o manuscrito será encaminhado aos Editores Associados, que, por sua vez, designarão pareceristas (processo double mind) para avaliar o trabalho. Os pareceres dos revisores e as instruções do editor serão enviados para os autores para que eles tomem conhecimento das alterações a serem introduzidas. Os autores devem reenviar o texto com as modificações sugeridas no prazo solicitado. Ao resubmeter o manuscrito, as correções solicitadas devem estar em destaque no texto (grifadas em amarelo). Em casos de não concordância com as sugestões, inclua as observações nos balões comentários. Seja assertivo e pontual com a inquirição, inclusive sustentando a hipótese com referências.

IMPORTANTE! Os Autores devem cumprir os prazos, visto que o não atendimento resultará atraso de sua publicação ou até mesmo no arquivamento do processo. Os autores podem solicitar em qualquer ponto do processo de análise e edição do texto a sustação do processo e a retirada do trabalho, exceto quando o manuscrito estiver aceito para publicação. Os conceitos e as declarações contidos nos artigos são de responsabilidade dos autores. Diretrizes Como Visão, a RBGO pretende se tornar um periódico reconhecido internacionalmente como referência de pesquisas em Ginecologia e Obstetrícia, tornando se uma das principais revistas da especialidade no ranking mundial. RBGO deverá ser em veículo científico essencial para os programas de pós-

graduação no Brasil, na divulgação da produção científica de alunos e orientadores/pesquisadores. A RBGO tem como Missão contribuir para o desenvolvimento da pesquisa brasileira em Ginecologia e Obstetrícia, assim como auxiliar os alunos de pós-graduação e jovens pesquisadores no aprimoramento de sua capacitação científica e como órgão facilitador da divulgação dos resultados de suas pesquisas, que possam contribuir para a melhoria da assistência e da qualidade de vida da mulher. Os Valores cultivados por RBGO serão sempre a inovação e o compromisso com a qualidade, em respeito à Ética na pesquisa e nas suas edições.

Ao submeter um manuscrito à RBGO anexe os documentos listados abaixo na plataforma de submissão ScholarOne. Cabe ressaltar que o não encaminhamento resultará no cancelamento do processo submetido. Documentação obrigatória para a submissão online:

- Autorização de transferência dos direitos autorais assinada por todos os autores (escaneada e anexada como documento suplementar) Modelo;
- Em conformidade com o capítulo XII.2 da Res. CNS 466/2012, no Brasil, pesquisas envolvendo seres humanos necessitam informar o número do registro referente ao Certificado de Apresentação para Apreciação Ética (CAAE) ou o número do parecer de aprovação da pesquisa (CEP/CONEP) no Comitê de Ética. Manuscritos internacionais devem apresentar a documentação ética local para seguirem no processo de submissão;
- Carta de Apresentação (Cover Letter): deverá ser redigida com o propósito de justificar a publicação. Deve-se identificar os autores, a titulação da equipe que pretende publicar, instituição de origem dos autores e a intenção de publicação;
- Página de Título;
- Manuscrito
- Página do título: no idioma inglês, com no máximo 18 palavras;
- Nome completo, sem abreviações, dos autores e o Orcid ID;
- Autor correspondente (Nome completo, endereço profissional de correspondência e e-mail para contato);
- Afiliação Institucional de cada autor. Exemplo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.
- Conflitos de interesse: os autores devem informar quaisquer potenciais conflitos de interesse seja ele político, econômico, de recursos para execução da pesquisa ou de propriedade intelectual;
- Agradecimentos: os agradecimentos ficam restritos às pessoas e instituições que contribuíram de maneira relevante, para o desenvolvimento da pesquisa. Qualquer apoio financeiro seja ele oriundo de órgãos de fomento ou empresas privadas deve ser mencionado na seção Agradecimentos. A RBGO, para os autores Brasileiros, solicita que os financiamentos das agências CNPq, Capes, FAPESP entre outras, sejam

obrigatoriamente mencionadas com o número do processo da pesquisa ou de bolsas concedidas.

- Contribuições: conforme os critérios de autoria científica do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE), o crédito de autoria deve ser fundamentado em três condições que devem ser atendidas integralmente: 1. Contribuições substanciais para concepção e delineamento, coleta de dados ou análise e interpretação dos dados; 2. Redação do artigo ou revisão crítica relevante do conteúdo intelectual e 3. Aprovação final da versão a ser publicada.

Título:

Ao escrever um artigo científico, o pesquisador deve se atentar na elaboração do título do manuscrito. O título é o cartão de visitas de qualquer publicação. Deve ser elaborado com muito cuidado e de preferência escrito apenas após a finalização do artigo. Um bom título é aquele que descreve adequadamente o conteúdo do manuscrito. Geralmente, ele não é uma frase, pois não contém o sujeito, além de verbos e objetos arranjados. Os títulos raramente devem conter abreviações, fórmulas químicas, adjetivos acessivos, nome de cidades entre outros. O título dos manuscritos submetidos à RBGO deve conter no máximo 18 palavras.

Resumo:

O resumo deve fornecer o contexto ou a base para o estudo e deve estabelecer os objetivos do estudo, os procedimentos básicos, os principais resultados e as principais conclusões. Deve enfatizar aspectos novos e importantes do estudo ou das observações. Pelo fato de os resumos serem a única parte substantiva do artigo indexada em muitas bases de dados eletrônicas, os autores devem cuidar para que os resumos reflitam o conteúdo do artigo de modo preciso e destacar. No Resumo não utilize abreviações, símbolos e referências. No caso de artigos originais oriundos de ensaios clínicos, os autores devem informar o número de registro ao término da redação.

Resumo informativo, do tipo estruturado, de artigo original:

Os resumos dos artigos originais submetidos à RBGO devem ser, obrigatoriamente, estruturados em quatro seções e conter no máximo 250 palavras: **Objetivo:** O que foi feito; a questão formulada pelo investigador. **Métodos:** Como foi feito; o método, incluindo o material usado para alcançar o objetivo. **Resultados:** O que foi encontrado, o achado principal e, se necessário, os achados secundários. **Conclusão:** O que foi concluído; a resposta para a questão formulada.

Palavras-chave:

As palavras-chave de um trabalho científico indicam o conteúdo temático do texto que representam. Dentre os objetivos dos termos mencionados considera-se como principais a identificação do conteúdo temático, a indexação do trabalho nas bases de dados e a rápida localização e recuperação do conteúdo. Os sistemas de palavras-chave utilizados

pela RBGO são o DeCS (Descritores em Ciências da Saúde – Indexador Lilacs) e o MeSH (Medical Subject Headings – Indexador MEDLINE-PubMed). Por gentileza, escolha cinco descritores que representem o seu trabalho nestas plataformas.

Corpo do manuscrito (Os manuscritos submetidos à RBGO devem possuir no máximo 4000 palavras, sendo que as tabelas, quadros e figuras da seção Resultados não são contabilizados, bem como as Referências).

Introdução:

A seção Introdução de um artigo científico tem por finalidade informar o que foi pesquisado e o porquê da investigação. É a parte do artigo que prepara o leitor para entender a investigação e a justificativa de sua realização. O conteúdo a ser informado nesta seção deve fornecer contexto ou base para o estudo (isto é, a natureza do problema e a sua importância); declarar o propósito específico, o objetivo de pesquisa ou a hipótese testada no estudo ou observação. O objetivo de pesquisa normalmente tem um foco mais preciso quando é formulado como uma pergunta. Tanto os objetivos principais quanto os secundários devem estar claros e quaisquer análises em um subgrupo pré-especificados devem ser descritas; dar somente referências estritamente pertinentes e não incluir dados ou conclusões do trabalho que está sendo relatado.

Métodos:

Métodos, segundo o dicionário Houaiss, “é um processo organizado, lógico e sistemático de pesquisa”. Método compreende o material e os procedimentos adotados na pesquisa de modo a poder responder à questão central de investigação. Estructure a seção Métodos da RBGO iniciando pelo tipo de delineamento do estudo; o cenário da pesquisa (local e a época em que se desenrolou); a amostra de participantes; a coleta de dados; a intervenção a ser avaliada (se houver) e também a intervenção alternativa; os métodos estatísticos empregados e os aspectos éticos de investigação. Ao pensar na redação do delineamento do estudo reflita se o delineamento é apropriado para alcançar o objetivo da investigação, se a análise dos dados reflete o delineamento e se foi alcançado o que se esperava com o uso daquele delineamento para pesquisar o tema. A seguir os delineamentos utilizados em pesquisa clínica ou epidemiológica e que deverão constar na seção Métodos do manuscrito enviado à RBGO:

- Estudo Transversal (Ou Seccional): Investigação para determinar prevalência; para examinar a relação entre eventos (exposição, doença e outras variáveis de interesse), em um determinado momento. Os dados sobre causa e efeito são coletados simultaneamente: por exemplo, a série de casos é comparada com os pacientes de anos anteriores.

IMPORTANTE! A RBGO aderiu à iniciativa do International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE) e da Rede EQUATOR destinadas ao aperfeiçoamento da apresentação dos resultados de pesquisas.

Estudos observacionais em epidemiologia: <http://www.equator-network.org/reporting-guidelines/strobe/>

Resultados:

O propósito da seção Resultados é mostrar o que foi encontrado na pesquisa. São os dados originais obtidos e sintetizados pelo autor, com o intuito de fornecer resposta à questão que motivou a investigação. Para a redação da seção, apresente os resultados em sequência lógica no texto, nas tabelas e nas ilustrações, mencionando primeiro os achados mais importantes. Não repita no texto todas as informações das tabelas ou ilustrações; enfatize ou resuma apenas observações importantes. Materiais adicionais ou suplementares e detalhes técnicos podem ser colocados em um apêndice, no qual estarão acessíveis, mas não interromperão o fluxo do texto. Como alternativa, essas informações podem ser publicadas apenas na versão eletrônica da Revista. Quando os dados são resumidos na seção resultado, dar os resultados numéricos não apenas em valores derivados (por exemplo, percentuais), mas também em valores absolutos, a partir dos quais os derivados foram calculados, e especificar os métodos estatísticos usados para analisá-los. Use apenas as tabelas e figuras necessárias para explicar o argumento do trabalho e para avaliar o seu embasamento. Quando for cientificamente apropriado, as análises dos dados com variáveis tais como idade e sexo devem ser incluídas. Não ultrapasse o limite de no máximo cinco tabelas, cinco quadros ou cinco figuras. As tabelas, quadros e/ou figuras devem ser inclusas no corpo do manuscrito e não contabilizam o limite solicitado de 4000 palavras.

Discussão:

Na seção Discussão enfatize os aspectos novos e importantes do estudo e as conclusões deles derivadas. Não repita detalhadamente dados ou outras informações apresentadas nas seções de introdução ou de resultados. Para estudos experimentais, é útil iniciar a discussão resumindo brevemente os principais achados, comparar e contrastar os resultados com outros estudos relevantes, declarar as limitações do estudo e explorar as implicações dos achados para pesquisas futuras e para a prática clínica. Evite alegar precedência e aludir a trabalhos que não estejam completos. Não discuta dados que não são diretamente relacionados aos resultados da pesquisa apresentada. Proponha novas hipóteses quando justificável, mas qualificá-las claramente como tal. No último parágrafo da seção Discussão informe qual a informação do seu trabalho que contribui relativamente para o avanço-novo conhecimento.

Conclusão:

A seção Conclusão tem por função relacionar as conclusões com os objetivos do estudo, mas o autor deve evitar afirmações sem embasamento e conclusões que não tenham sustentação adequada pelos dados. Em especial, os autores devem evitar fazer afirmações sobre benefícios econômicos e custos, a menos que seu original inclua análises econômicas e dados apropriados.

Referências:

Uma pesquisa é fundamentada nos resultados de outras que a antecederam. Uma vez publicada, passa a ser apoio para trabalhos futuros sobre o tema. No relato que faz de sua pesquisa, o autor assinala os trabalhos consultados que julga pertinente informar aos leitores, daí a importância de escolher boas Referências. As referências adequadamente escolhidas dão credibilidade ao relato. Elas são fonte de convencimento do leitor da validade dos fatos e argumentos apresentados. Atenção! Para os manuscritos submetidos à RBGO, os autores devem numerar as referências por ordem de entrada no trabalho e usar esses números para as citações no texto. Evite o número excessivo de referências, selecionando as mais relevantes para cada afirmação e dando preferência para os trabalhos mais recentes. Não empregar citações de difícil acesso, como resumos de trabalhos apresentados em congressos, teses ou publicações de circulação restrita (não indexados). Busque citar as referências primárias e convencionais (artigos em periódicos científicos e os livros-textos). Não empregue referências do tipo "observações não publicadas" e "comunicação pessoal". Publicações dos autores (autocitação) devem ser empregadas apenas se houver necessidade clara e forem relacionadas ao tema. Nesse caso, incluir entre as referências bibliográficas apenas trabalhos originais publicados em periódicos regulares (não citar capítulos ou revisões). O número de referências deve ser de 35, exceto para artigos de revisão. Os autores são responsáveis pela exatidão dos dados constantes das referências.

Para formatar as suas referências, consulte o Vancouver.

3 ARTIGO CIENTÍFICO

Citologia cervical em meio líquido e conteúdo vaginal: determinação de anormalidades citológicas, perfil da microbiota e detecção de *Chlamydia trachomatis* e Papilomavírus Humano.

Liquid-based cervical cytology and vaginal content: determination of cytology abnormalities, microbiota profile and *Chlamydia trachomatis* and Human Papillomavirus detection

Maria Eduarda Lêmes Mora¹, Caroline Rizzi², Daniela Augustin Silveira², Jossimara Poletini²

¹ Acadêmica, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo – RS.

² Docente, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Passo Fundo – RS.

Autor correspondente:

Maria Eduarda Lêmes Mora

mariaeduardalesmora@gmail.com

Resumo

Objetivos: determinar alterações citológicas cervicais, padrão de microbiota vaginal e detectar a presença de *Chlamydia trachomatis* e Papilomavírus Humano em mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). **Metodologia:** estudo transversal, realizado em Passo Fundo-RS de novembro de 2020 a junho de 2021 com mulheres que foram submetidas a exame especular para a coleta de conteúdo cérvico-vaginal em meio líquido para determinação de alterações citológicas por meio de coloração de Papanicolau e coleta de *swab* vaginal para avaliação de microbiota vaginal por meio de coloração de Gram e escore de Nugent. Os dados sociodemográficos e clínicos foram obtidos por questionário padronizado. A presença de *C. trachomatis* foi detectada por meio de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) e a detecção e tipagem 06 e 16 de HPV foram determinadas por PCR convencional. Os dados foram descritos em frequências e as análises de relação das variáveis foram realizadas por teste X^2 , com nível de significância de 5%. **Resultados:** Foram incluídas 22 mulheres no período do estudo, com idade média de $37,23 \pm 10,71$ anos, predominantemente brancas, que sabem ler e escrever e apresentam apenas 1 parceiro sexual no último ano. A microbiota vaginal

predominante foi a flora com padrão normal (Flora I) (40,9%). Em relação à citologia em meio líquido, a maioria das mulheres apresentou ausência de neoplasia, contudo foi determinada a lesão percussora de neoplasia cervical (NICI/LSIL), ASC-H e ASC-US, ambas em uma amostra cada (4,5%). A positividade de *C. trachomatis* foi observada em 4,5% da amostra, já a positividade de HPV apresentou-se em 42,8% das mulheres, sendo predominante o HPV do tipo 06 em 14,2% dos casos. **Conclusão:** A frequência de alterações citológicas e presença de *C. trachomatis* são baixas em mulheres com idade reprodutiva atendidas no SUS, enquanto a positividade para HPV é alta em mulheres assintomáticas, e parece associar-se às alterações de microbiota vaginal, como a vaginose bacteriana.

Palavras-chave: DNA. Saúde da Mulher. Ginecologia. Reação em Cadeia da Polimerase. Técnicas Laboratoriais Clínicas.

Abstract:

Objectives: to determine cervical cytological changes, vaginal microbiota pattern and detect the presence of *Chlamydia trachomatis* and Human Papillomavirus (HPV) in women assisted by Health Unic System (SUS) of Brazil. **Methodology:** cross-sectional study, carried out in Passo Fundo-RS from November 2020 to June 2021 with women who underwent specular examination for collection of cervical-vaginal contents in liquid medium was performed to determine cytological changes by means of Pap smear staining and vaginal swab collection for evaluation of vaginal microbiota by means of Gram staining and Nugent Score. Sociodemographic and clinical data were obtained through a standardized questionnaire. The presence of *C. trachomatis* was detected by Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and the detection and typing 06 and 16 of HPV were determined by conventional PCR. The data were obtained in frequencies and the analysis of the relationship of the variables were performed using the X^2 test, with a significance level of 5%. **Results:** Twenty-two women were included during the study period, with a mean age of 37.23 ± 10.71 years, predominantly white, who could read and write and had only 1 sexual partner in the last year. Predominant vaginal microbiota of flora with a normal pattern (Flora I) (40.9%). Regarding liquid-based cytology, most women present absence of neoplasia, however provided the percussive lesion of cervical neoplasia (NICI / LSIL), ASC-H and ASC-US, both in one sample each (4.5%) The positivity of *C. trachomatis* was observed in 4.5% of the sample, while the positivity of

HPV was presented in 42.8% of the women, with type 06 HPV being predominant in 14.2% of the cases. **Conclusion:** The frequency of cytological changes and *C. trachomatis* presence are low in women of reproductive age assisted by SUS, while HPV positivity is high and might be associated with changes in vaginal microbiota, as bacterial vaginosis.

Key-words: DNA. Women's Health. Gynecology. Polymerase Chain Reaction. Clinical Laboratory Techniques.

Introdução

A microbiota vaginal é composta por microrganismos em relação mutualística com o hospedeiro, os quais são responsáveis pela primeira linha de defesa contra a infecção por patógenos oportunistas. Ao longo da vida de uma mulher, essa microbiota é dinâmica e sofre mudanças, as quais estão associadas aos períodos reprodutivos de transição, como a puberdade e a menopausa (1).

O microambiente vaginal, ecossistema complexo, tem seu conteúdo formado por água, colesterol, lipídeos, mucina, carboidratos, aminoácidos, proteínas e sais inorgânicos. As bactérias predominantes na vagina de mulheres saudáveis em idade reprodutiva são os *Lactobacillus*, que produzem o ácido láctico, mantendo o pH ácido da vagina, o qual inibe o crescimento dos microrganismos não residentes, reduzindo a biovulnerabilidade do trato genital superior a patógenos. O estrogênio (hormônio sexual feminino) é responsável pela manutenção dessa microbiota, promovendo a produção de glicogênio pelas células do epitélio vaginal, que nutre os lactobacilos. Outras bactérias, como estreptococos, anaeróbios e gram-negativas, também são encontradas na vagina, porém em menor quantidade. Qualquer alteração desse equilíbrio, também chamado de disbiose, favorece a proliferação de agentes patogênicos (2). Nesse contexto, destaca-se maior vulnerabilidade para aquisição de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) (3).

As alterações de microbiota vaginal podem ser visualizadas sob microscopia óptica por meio da coloração de Gram, a qual identifica os morfotipos bacterianos presentes, que podem ser pontuados no escore de Nugent para estabelecer o diagnóstico de vaginose bacteriana (VB), dentre outros. Já clinicamente, a VB pode ser identificada através dos critérios de Amsel que avaliam corrimento vaginal, mau cheiro, presença de células indicadoras (*clue cells*) e pH >4,5 (1,4,5).

Com advento de técnicas de sequenciamento genético, verificou-se que a microbiota vaginal pode ser classificada em comunidades de acordo com a prevalência de diferentes espécies agrupadas pelos morfotipos. Assim, confirmou-se que a condição polimicrobiana da VB é semelhante à comunidade IV, a qual é definida por uma perda de *Lactobacillus* spp., com presença de anaeróbios estritos e pode se apresentar com sintomas clínicos associados, incluindo aumento de conteúdo, odor e irritação vaginal (1,6).

Embora a presença de uma comunidade IV possa ser assintomática em algumas mulheres, ela ainda está associada a um risco significativamente aumentado de infecção por outros microrganismos, por interferir na resposta imune e barreira à patógenos (7).

Nesse contexto, observa-se que a VB é um dos principais fatores de risco associados à infecção por *Chlamydia trachomatis* (8). Nessa infecção, a produção de interferon (IFN) γ é essencial para a eliminação da bactéria, porém, os anaeróbios e anaeróbios estritos contidos na VB, permitem que a clamídia produza triptofano, contornando assim o mecanismo de defesa de interferon do hospedeiro e estabelecendo uma infecção de longo prazo (1).

Adicionalmente à infecção clamidiana, o Papilomavirus Humano (HPV) contribui como causa mais frequente de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) em escala global (9,10). Ambos compartilham fatores de risco comuns, como idade jovem (15 a 24 anos), múltiplos parceiros sexuais e história prévia de IST, e em aproximadamente 80 – 90% das mulheres essas infecções apresentam-se como doenças assintomáticas. Ademais, a presença de infecção por *C. trachomatis* pode predispor a uma infecção por HPV com risco aumentado de mais de 2 vezes, e, inversamente, a presença de HPV também duplica o risco de infecção clamidiana, o que ressalta que o rastreamento da infecção mútua pode representar uma intervenção preventiva para resultados graves de saúde reprodutiva, como câncer cervical e infertilidade (11), ou mesmo contribuir para a persistência do vírus (10,12,13). Sabe-se que a persistência de microrganismos pode desencadear mecanismos de carcinogênese em diversos sistemas (14), portanto, com a falta de sintomas e o consequente não tratamento de ISTs, ocorre a infecção crônica e a persistência dos patógenos, cujas principais complicações são o desenvolvimento de lesões cervicais que podem progredir para malignidade e sequelas graves do trato reprodutivo (10).

Vários estudos recentes apresentaram evidências que a composição da microbiota vaginal desempenha um papel fundamental na suscetibilidade a infecções genitais

causadas por HPV e *C. trachomatis* (3,10), os quais, por sua vez, podem contribuir para alterações citológicas cérvico-vaginais.

A citologia cérvico-vaginal é um método de grande importância para o diagnóstico e prevenção das alterações citológicas compatíveis com infecção por HPV. Existem duas metodologias de coleta desse conteúdo: coleta convencional, na qual o material é distendido diretamente na lâmina, fixado imediatamente e encaminhado à coloração de Papanicolau; e a coleta em meio líquido, que tem apresentado vantagens quanto à qualidade de representação das células epiteliais a serem analisadas (15). O Sistema Único de Saúde Brasileiro (SUS) utiliza o método convencional, que apresenta alta sensibilidade, porém muitas amostras não apresentam representatividade de células epiteliais endocervicais, que são os alvos das infecções pelo HPV, apresentando assim, especificidade reduzida e menor concordância cito-histológica. Além disso, a pesquisa de outros agentes não pode ser realizada uma vez que o conteúdo coletado é descartado após disposição na lâmina (16,17).

Considera-se que o objetivo do rastreamento citopatológico é identificar as lesões precursoras do câncer de colo de útero, para detectar a probabilidade de encontrar tais doenças quando uma mulher apresenta o diagnóstico citopatológico de atipia em células epiteliais. Contudo, o exame preventivo convencional permite a visualização de alterações celulares e teciduais causadas pela infecção do vírus, mas não permite sua detecção. Assim, apenas os testes moleculares podem comprovar a presença e fazer a identificação do DNA viral (18).

Por preservar a viabilidade celular, ao contrário da citologia convencional, a citologia em meio líquido permite a identificação e detecção de HPV e de outros microrganismos, como *Lactobacillus spp.*, *Gardnerella vaginalis* e *Chlamydia trachomatis*, entre outros. Nas últimas décadas os testes moleculares, baseados na tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) tem sido o avanço mais importante no campo do diagnóstico de microrganismos. Os métodos moleculares são elaborados em testes baseados no reconhecimento direto de sequências de DNA e RNA. Dentre tais tecnologias destaca-se a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e a Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) (19).

Dessa forma, considerando a importância do rastreamento de lesões precursoras no colo do útero, bem como o papel de microrganismos no desencadeamento de tais lesões e no desbalanço imune da região cérvico-vaginal, o presente estudo tem como objetivo determinar as alterações citopatológicas, caracterizar a microbiota vaginal e

detectar a presença de HPV e *C. trachomatis*, comparando os achados com a citologia cérvico-vaginal em meio líquido, de mulheres atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS). Além disso, caracterizar sociodemograficamente e comportalmente a amostra.

Métodos

Estudo transversal, realizado no período de novembro de 2020 a junho de 2021 no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS) e no ambulatório SUS do Hospital São Vicente de Paulo (HSVP), na cidade de Passo Fundo, RS. Ambos os ambulatórios fazem parte do Sistema Único de Saúde (SUS) e atendem pacientes via sistema SISCAN/SISCOLO, Ministério da Saúde, Brasil.

A população do estudo foi composta de mulheres com idade entre 18 anos e 64 anos, não gestantes, atendidas no ambulatório para realização de exame de citologia cérvico-vaginal e/ou que buscavam atendimento por leucorreia/prurido/queixas menstruais, e que foram submetidas ao exame especular. Foram incluídas as mulheres que não estavam em uso de antibióticos por pelo menos 40 dias e as que estivessem em abstinência sexual de pelo menos 72 horas.

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UFFS sob parecer número 3.501.252, atendendo à Resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. As pacientes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e responderam a um questionário padronizado, pré-testado e pré-codificado desenvolvido especificamente para este estudo, contendo questões sociodemográficas (idade, se sabe ler e escrever e quantos anos de estudo, completos e com aprovação, ter ou não companheiro, renda familiar média) e de saúde (hábito tabagista, idade da primeira relação sexual, atividade sexual, número de parceiros sexuais nos últimos 12 meses, uso de contraceptivos, infecções genitais prévias). As pacientes foram examinadas de acordo com protocolo ginecológico padrão e submetidas ao exame citológico (Papanicolau) em sala reservada com privacidade garantida. Alternativamente ao exame convencional, amostras cérvico-vaginais foram também coletadas em meio líquido e encaminhadas para análise citológica e molecular para pesquisa dos microrganismos de interesse.

Durante a consulta ginecológica foi realizado um exame especular, empregando-se o espéculo bi-valvo de Collins esterilizado e isento de qualquer lubrificante para afastamento das paredes vaginais. As amostras cérvico-vaginais foram obtidas pela técnica de citologia em meio líquido CellPreserv® (Kolplast) e processadas no

Laboratório de Patologia do Hospital São Vicente de Paulo, seguindo protocolo padrão do sistema automatizado ThinPrep 2000 system LBC slide, com uso de lâminas CellPreserv e posterior coloração pelo método de Papanicolau. As amostras foram classificadas de acordo com a nomenclatura brasileira para laudos cervicais, adaptada do Sistema de Bethesda de 2001.

Previamente à preparação das lâminas para avaliação citológica coletada em meio líquido, 1mL do conteúdo coletado foi separado em microtubo para posterior extração de DNA e pesquisa de *C. trachomatis* e HPV. A subsequente extração de DNA total foi realizada utilizando-se o Kit NúcleoSpin® Blood (Macherey-Nagel, Düren, GE) para a purificação de DNA seguindo as instruções do fabricante. A extração do DNA das amostras estudadas foi verificada pela amplificação do gene constitutivo da β -globina, seguindo protocolo previamente descrito (20).

O DNA extraído foi armazenado a -20°C até sua utilização na detecção dos patógenos, *C. trachomatis* e HPV, pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-PCR) e PCR convencional, respectivamente.

Para a detecção de *C. trachomatis*, as corridas de RT-PCR foram realizadas em volume final de 20 μL , composto por 10 μL de 2x qPCRBIO SyGreen Mix (PCR Biosystems Inc, London, UK); 1,0 μL de cada *primer* específico na concentração de 10 μM ; água estéril q.s.p. e 2 μL de cada amostra de DNA pesquisada. Os *iniciadores* utilizados foram: CTPL6.1F 5'-AGAGTACATCGGTCAACGA-3' e CTPL6.2R 5'-TCACAGCGGTTGCTCGAAGCA-3' (21). As incubações foram realizadas em termociclador QIAquant 96 5plex (Qiagen, Hilden, GE). As reações seguiram os seguintes parâmetros: 95°C por 3min, e 40 ciclos de 95°C por 5seg e 60°C por 30seg. A curva de dissociação (*melting*) foi gerada para verificar eficiência dos iniciadores.

Nos casos positivos para *C. trachomatis*, os tratamentos foram realizados de acordo com o recomendado pelo CDC (2016). O controle de cura dessas condições foi realizado 45 dias após o término do tratamento, através da reconvocação da paciente para reavaliação dos exames propostos.

Para a detecção de DNA-HPV, foi empregada a técnica de PCR utilizando os iniciadores MY09 e MY11, os quais flanqueiam uma região do gene L1 do HPV, e que gera um produto amplificado de 450 pares de base (pb), seguido de Nested-PCR com os *iniciadores* GP5+/GP6+, que flanqueiam um fragmento interno à região anterior, de 150pb, para ampliar a sensibilidade da reação (22). As reações foram realizadas em volume final de 20 μL , composto por 10 μL de PCR Buffer 2x GoTaq® Green Master Mix

(Promega); 1,0 uL de cada *primer* na concentração de 10 uM; água estéril q.s.p. e 2 uL de cada amostra pesquisada. As incubações foram realizadas em termociclador com os parâmetros de 95°C durante 5 minutos e 95°C durante 45 segundos para desnaturação, 47,7°C durante 45 segundos para anelamento dos iniciadores e 72°C durante 1 minuto para polimerização, seguido de mais 44 ciclos idênticos ao descrito. Finalizando, a temperatura de extensão final foi de 72°C por 7 minutos.

Para a determinação dos tipos virais presentes nas amostras que apresentaram positividade para DNA de HPV foi empregada a técnica de PCR-multiplex, utilizando *iniciadores* específicos para os tipos 6/11 e 16 (23). As reações foram realizadas com volume final de 20 uL, seguindo a descrição anterior.

Em todas as reações realizadas foi utilizado um controle negativo, através da substituição do ácido nucleico por água estéril, e um controle positivo contendo DNA específico para cada patógeno, gentilmente cedidos pela Dra. Márcia Guimarães da Silva, do Laboratório de Imunopatologia da Relação Materno-Fetal, da Faculdade de Medicina de Botucatu, UNESP.

Para a determinação do padrão e das alterações de microbiota vaginal foi utilizado o esfregaço de conteúdo vaginal, as quais foram coradas com coloração de Gram e visualizadas sob microscopia óptica. A classificação do padrão de microbiota observado foi realizada por meio do Escore de Nugent (4).

Os dados dos questionários e os laudos dos resultados dos exames de PCR foram digitados duplamente em uma planilha eletrônica. A análise estatística descritiva consistiu-se de distribuição de frequências (prevalência das variáveis dependentes e proporções das variáveis independentes). Considerou-se as seguintes variáveis dependentes: citologia cervical em meio líquido e padrões de microbiota vaginal; como variáveis independentes: idade, raça, companheiro, em atividade remunerada ou não, religião, menarca, sexarca, presença de HPV e presença de *Chlamydia trachomatis*. Para a análise da distribuição das frequências das variáveis entre dois diferentes grupos foi empregado o Teste de Qui-quadrado, realizado no programa de análises estatísticas PSPP (distribuição livre), considerando-se o nível de significância estatística de 5%.

Resultados

Análise descritiva das características sociodemográficas, comportamentais e de saúde

A amostra final foi constituída de 22 participantes, com média de idade de 37,2 \pm 10,7 anos, sendo sua maioria composta por mulheres de cor da pele branca (81,8%), que

sabem ler e escrever (95,5%), que possuem companheiro (86,4%), que trabalham ou estão em benefício (68,2%) e católicas (63,6%). A caracterização sociodemográfica está disposta na Tabela 1.

Tabela 1. Caracterização de uma amostra de mulheres submetidas ao exame especular atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) em dois ambulatórios de Passo Fundo, RS, 2021 (n=22).

Características Sociodemográficas		
Variáveis	n	%
Idade		
18-44 anos (Idade Reprodutiva)	17	77,3
45-64 anos	5	22,7
Raça		
Branca	18	81,8
Não Branca	4	18,2
Sabe ler e escrever		
Sim	21	95,5
Companheiro		
Sim	19	86,4
Trabalha		
Não/Aposentado/Pensionista	7	31,8
Sim/Em benefício	15	68,2
Religião		
Católica	14	63,6

Em relação às características de saúde, listadas na Tabela 2, as participantes apresentaram peso médio de $59,6 \pm 27,2$ Kg e média de altura de $1,62 \pm 0,09$ metros. A maioria das participantes eram não tabagistas/ex-tabagistas (81,8%) e não etilistas (77,3%). Já a média de idade da menarca (primeira menstruação) foi de $13,2 \pm 1,4$ anos e da sexarca (primeira relação sexual) foi de $16,0 \pm 4,2$ anos. Quanto à atividade sexual, 95,5% das participantes relataram ser sexualmente ativas e 90,9% afirmaram possuir somente 1 parceiro sexual nos últimos 12 meses. A maior parte das mulheres (45,5%) referiu não utilizar preservativos durante as relações sexuais em comparação com os 72,7% que relataram fazer uso de algum contraceptivo. No que diz respeito ao exame preventivo cérvico-vaginal, quase a totalidade da amostra (90,9%) já o fez alguma vez na vida. Destes, cerca de um terço (27,3%) foi feita há 12 meses e teve como resultado mais frequente exame dentro da normalidade (68,2%). A maioria da amostra (72,7%) já ficou grávida, sendo que destas, apenas uma gestação (36,4%) e gestação com complicações (36,4%) foram mais comumente relatados e 72,7% das mulheres possuem filho, sendo apenas um filho relatado por 40,9% das pacientes. Quanto à via de parto, o parto normal (45,5%) apresentou-se como mais frequente.

Tabela 2. Caracterização comportamental e de saúde de uma amostra de mulheres submetidas ao exame especular atendidas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) em dois ambulatórios de Passo Fundo, RS, 2021 (n=22).

Características Comportamentais e de Saúde		
Variáveis	n	%
Hábito tabágico		
Sim	4	18,2
Não/Ex-tabagista	18	81,8
Hábito Etílica		
Sim	5	22,7
Parceiros Sexuais nos últimos 12 meses (n=21)		
1	20	90,9
2	1	4,5
Uso de Preservativo (n=20)		
Sim/ sempre	5	22,7
Sim/ algumas vezes	5	22,7
Não	10	45,5
Uso de Contraceptivo (n=21)		
Sim	16	72,7
Preventivo cérvico-vaginal anterior		
Sim	20	90,9
Resultado do último preventivo cérvico-vaginal (n=20)		
Normal	15	68,2
Alterado	1	4,5
Infecção	2	9,1
Nunca fez/não lembra	2	9,1
Gestação prévia		
Sim	16	72,7

Em relação à vacinação contra o HPV, a maioria da amostra não foi imunizada (90,9%), sendo a justificativa mais frequente a não disponibilidade da vacina para a faixa etária (27,3%).

Análise laboratorial

A citologia em meio líquido foi realizada com a coloração de Papanicolau, e observou-se ausência de neoplasia em 86,4% (19/22) da amostra. Alterações microscópicas e visualização de morfotipos característicos sugerem que 40,9% (9/22) das mulheres apresentaram algum patógeno, sendo 18,2% (4/22) *Gardnerella vaginalis* e 9,1% (2/22) *Cândida spp*; a presença de atípias em células escamosas, sem poder excluir lesão de alto grau (ASC-H) e células escamosas atípicas de significado incerto (ASC-US) foram ambas identificadas em 4,5% (1/22) da amostra; a presença de lesão pré-câncer cervical foi positiva também em 4,5% (1/22) da amostra e identificada como Neoplasia Intraepitelial Cervical de Baixo Grau (NIC I) ou Lesão Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau (LIEBG) (Figura 1).

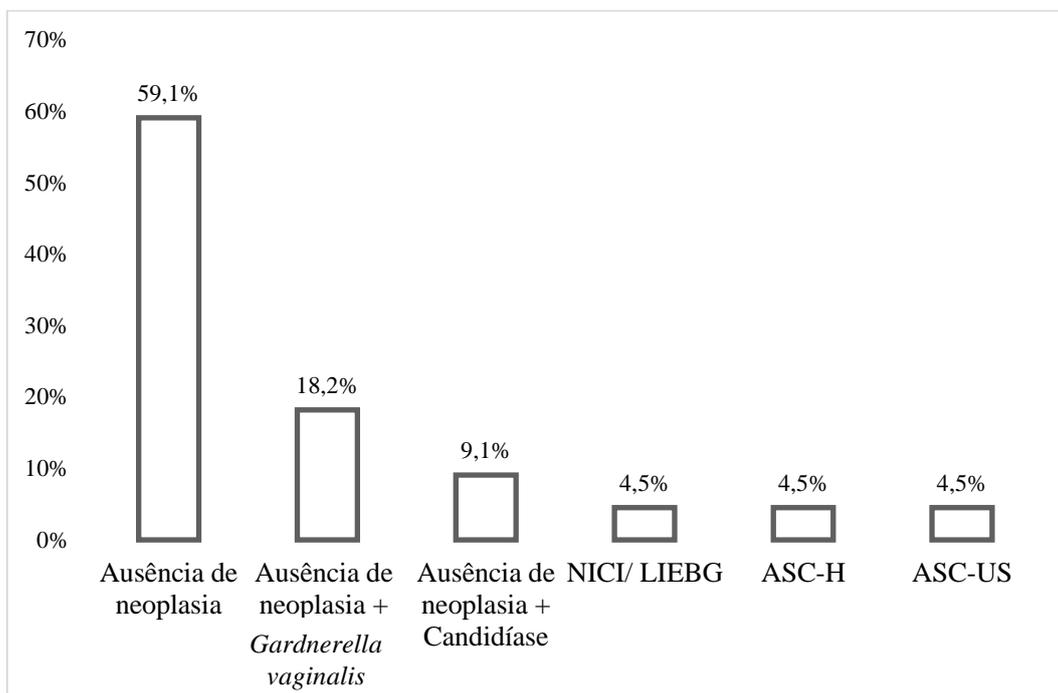


Figura 1. Porcentagem dos resultados da citologia cérvico-vaginal em meio líquido (n=22). (NIC I/LIEBG: Neoplasia Intraepitelial Escamosa de Baixo Grau; ASC-H: atipias em células escamosas, sem poder excluir lesão de alto grau; ASC-US: células escamosas atípicas de significado incerto).

O DNA total de 21 amostras foi recuperado satisfatoriamente, sendo uma excluída devido à ausência de amplificação do gene constitutivo de β -globina. A detecção de *C. trachomatis* se revelou positiva em 4,7% (1/21) das amostras analisadas. As duas curvas analisadas na reação de RT-PCR foram a de amplificação e a curva de *melting*. As curvas de amplificação se mostraram presentes para o controle positivo específico para *C. trachomatis* (Figura 2A), e as amplificações tardias e inespecíficas demonstraram a negatividade para a presença da bactéria nas 20 amostras restantes. A comparação com a curva de *melting* confirmou os resultados, visto que a temperatura do produto esperado foi a mesma entre a amostra e o controle positivo (Figura 2B).

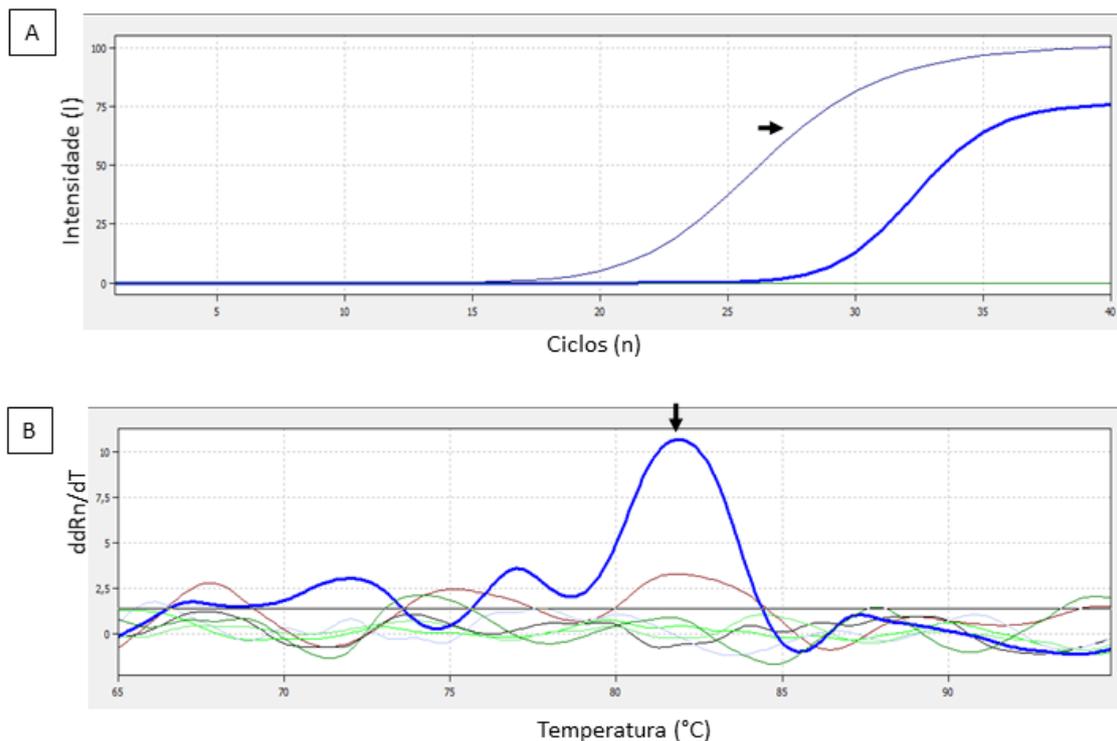


Figura 2. A) Curva de amplificação de DNA extraído de amostras clínicas de citologia cervicovaginal em meio líquido, e amplificadas com *iniciadores* específicos para *Chlamydia trachomatis*. Destaca-se a curva de amplificação do controle positivo (seta) e curva de uma amostra positiva (destaque). B) Curva de *melting* demonstra a especificidade do fragmento amplificado no controle positivo (seta) e amostra positiva. (Temperatura de *melting*: produto dos *iniciadores* CTPL.6.1F/CTPL.6.2R = 81,9°C); ddRn=fluorescência).

A presença de DNA-HPV foi detectada a partir das 21 amostras com gene constitutivo para β -globina, sendo identificado em 9 amostras (42,8%). A tipagem para o HPV 06 e HPV 16 resultou em positividade em 3 amostras (14,2%) e em 1 amostra analisada (4,7%), respectivamente. Além disso, as 5 amostras positivas restantes (23,8%) foram identificadas como outro tipo de HPV não analisado no presente estudo. A análise supracitada está disposta na Figura 3.

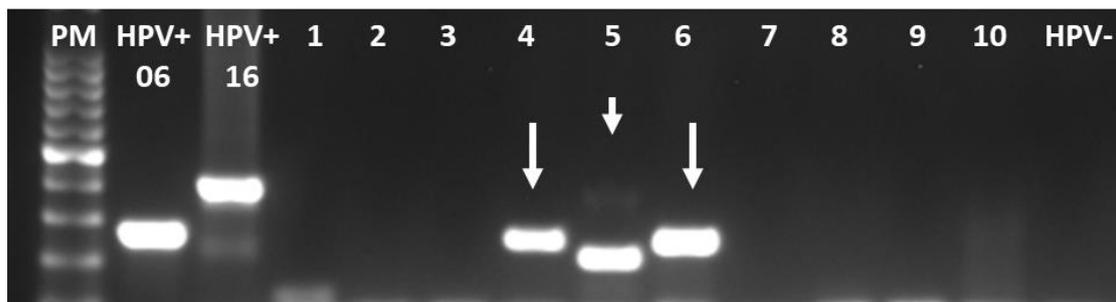


Figura 3. Eletroforese em gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídeo e visualização das bandas representativas da amplificação dos genes dos subtipos de HPV 06 e 16, sob iluminação ultravioleta. Nested-PCR para tipagem de HPV: as setas brancas indicam positividade para HPV 06 das amostras 4 e 6, e para HPV 16 na amostra 5. (PM: peso molecular 100 pares de base (bp); tamanho esperado dos produtos amplificados: HPV 06= 263pb; HPV 16 = 217 e 397pb).

Em relação à coinfeção de *C. trachomatis* e HPV, na amostra analisada, houve 0,0% de casos e a relação entre as duas infecções não teve significância estatística ($p = 0,219$).

A microbiota vaginal de 22 amostras foi determinada por meio da coloração de Gram e Escore de Nugent. Desse modo, nas amostras analisadas, a vaginose bacteriana (VB) foi evidenciada em 22,7% da amostra (5/22), dividida especificamente em VB escore 7-8 em 13,6% (3/22) e VB escore 9-10 em 9,1% (2/22) das amostras. A flora normal (Flora I) foi identificada em 40,9% (9/22) e a candidíase em 13,6% (3/22) das mulheres. Tais padrões de microbiota vaginal estão representados na Figura 4.

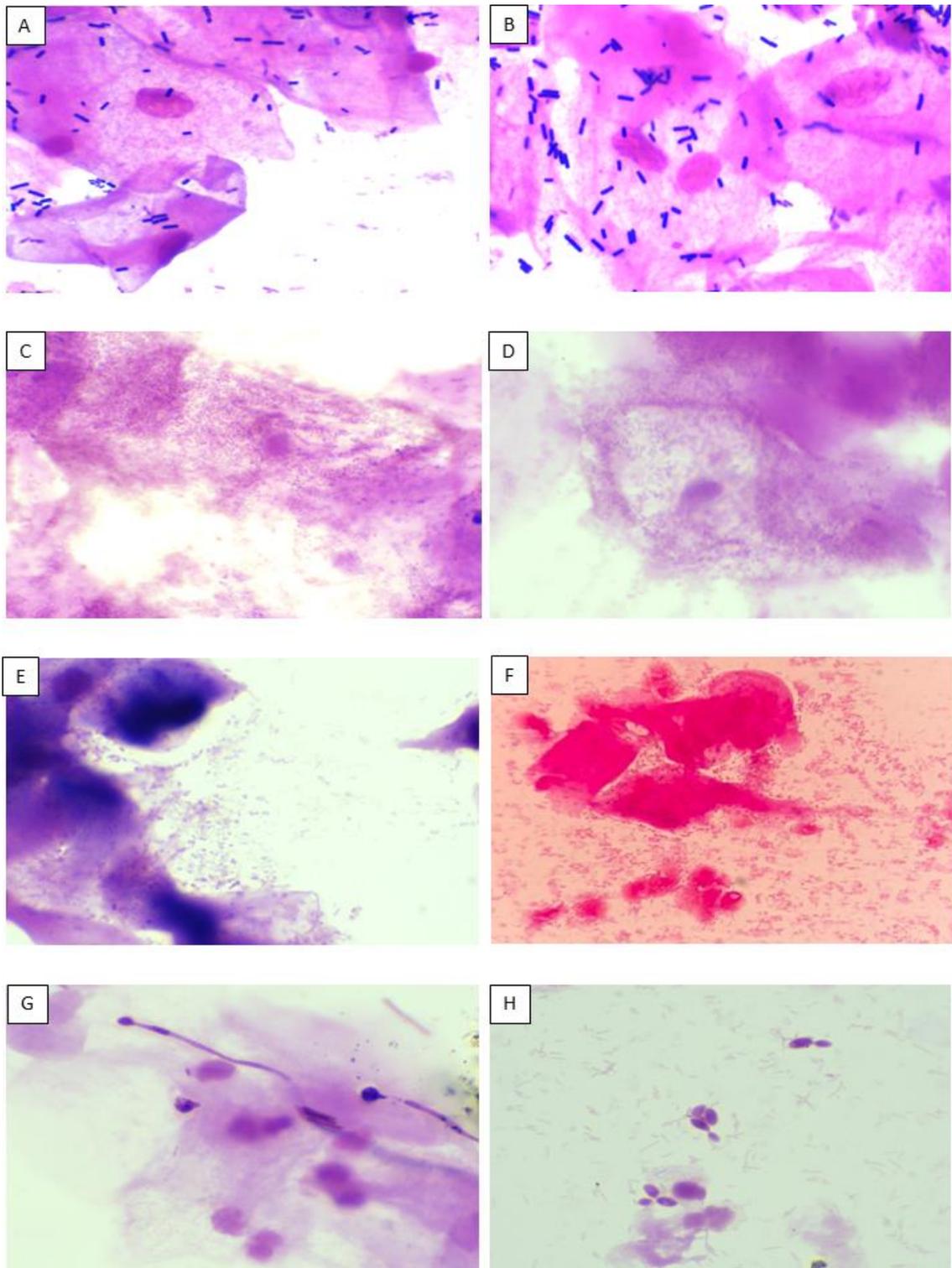


Figura 4. Fotomicrografia de esfregaço com conteúdo vaginal, satisfatórias para análise. Pesquisa de morfotipos com coloração de Gram. **A e B.** Predomínio de lactobacilos, ausência de cocos e inflamação, identificando uma Flora I (normal). **C e D.** Poucos lactobacilos, predomínio de microbiota cocácea, identificando vaginose bacteriana escore 7-8. **E e F.** Ausência de lactobacilos, predomínio de cocos e presença de *Mobiluncus* spp, identificando vaginose bacteriana 9-10. **G e H.** Presença de morfotipos fúngicos sugestivos de *Candida* spp. (Aumento 1000x).

A relação da microbiota e a infecção por HPV e a relação das alterações de microbiota e a positividade de *C. trachomatis* estão descritas na Tabela 3, sendo que a presença de vaginose bacteriana parece relacionar-se com a infecção por *C. trachomatis* ($p = 0,059$). A relação da citologia cérvico-vaginal em meio líquido com os tipos 06 e 16 do HPV está descrita na Tabela 4, a qual não apresentou significância estatística para nenhum dos achados citológicos.

Tabela 3. Distribuição da frequência da microbiota vaginal e infecção por Papilomavírus Humano (HPV) e *Chlamydia trachomatis* em mulheres submetidas ao exame especular em dois ambulatórios de Passo Fundo, RS, 2021 (n=22).

	<u>HPV (%)</u>		
	Sim	Não	p*
Flora Normal	18,2 (4/22)	22,7 (5/22)	0,779
Vaginose Bacteriana	13,6 (3/22)	9,1 (2/22)	0,323
Candidíase	0,0	13,6 (3/22)	0,121

	<u><i>Chlamydia trachomatis</i> (%)</u>		
	Sim	Não	p*
Flora Normal	0,0	40,9 (9/22)	0,394
Vaginose Bacteriana	4,5 (1/22)	18,2% (4/22)	0,059
Candidíase	0,0	13,6 (3/22)	0,121

* Teste de Qui-quadrado

Tabela 4. Distribuição da frequência da infecção por Papilomavírus Humano (HPV) e citopatológico (n=22).

	<u>HPV (%)</u>		
	Sim	Não	p*
Ausência de Neoplasia	18,2 (4/22)	40,9 (9/22)	0,245
Ausência de Neoplasia + patógenos [#]	9,1% (2/22)	18,2% (4/22)	0,658
NIC I/LIEBG	4,5% (1/22)	0,0	0,219
ASC-H	4,5% (1/22)	0,0	0,219
ASC-US	4,5% (1/22)	0,0	0,219

* Teste de Qui-quadrado

[#]*Gardnerella vaginalis* ou *Candida spp.*

Discussão

O presente estudo caracterizou alterações citológicas cervicais e padrão de microbiota vaginal de mulheres atendidas no SUS. Nesse sistema, o exame de Papanicolau ou convencional é o ofertado rotineiramente, sendo que não permite a detecção de patógenos, porém, a coleta realizada em meio líquido possibilitou a oferta adicional de pesquisa de *C. trachomatis* e HPV nessa população, o que não é disponibilizado na rede básica de saúde. Além disso, a citologia em meio líquido apresenta melhor desempenho do que os esfregaços convencionais, o que pode melhorar as estratégias de saúde pública destinadas a reduzir as lesões cervicais por meio de programas de prevenção (15). As características sociodemográficas demonstram que a média de idade das participantes esteve na faixa etária considerada como idade reprodutiva (15-44 anos), demonstrando que essa faixa etária é a principal submetida ao exame preventivo (15), e semelhante ao encontrado em análise metagenômica da coinfeção por HVP e *C. trachomatis* de Di Pietro et al. (10), a qual obteve como média de idade $34,7 \pm 9,7$ anos, o que demonstra que essa população pode ser favorecida por tais exames adicionais.

A análise da citologia em meio líquido revelou que 86,4% das mulheres tiveram ausência de neoplasia, e tal resultado é variável entre as populações, com dados entre 70% e 96,1% das citologias (24–26). No Brasil, o rastreamento de lesões precursoras do colo do útero é ofertado gratuitamente pelo SUS, o que auxilia no acompanhamento mais rotineiro e conseqüente menor número de alterações do que o observado em outros locais. No entanto, mesmo com campanhas de realização de exames e conscientização nas unidades básicas de saúde, ainda se observam frequentes alterações celulares. No presente estudo, foi encontrado 4,5% de positividade para lesão precursora do câncer cervical. Amorim et al. (24) reportaram que 13,6% das lesões intraepiteliais escamosas foram classificadas como baixo grau (LIEBG) descrita também como Neoplasia Intraepitelial Cervical (NIC I), número 3 vezes maior do que o encontrado no presente estudo. Já quanto ao resultado de ASC-H e ASC-US, o presente estudo revelou positividade em 4,5% para ambos na amostra, sendo que no estudo de Li et al. a presença de ASC-US e ASC-H foi determinada em 2,0% e 0,2%, respectivamente. Tais valores demonstram heterogeneidade entre as diferentes regiões e populações e que o rastreamento e as melhorias significativas na realização do diagnóstico correto ao longo do tempo para lesão intraepitelial são esperadas.

Alguns estudos empregando técnicas moleculares para detecção de *C. trachomatis* no Brasil apresentaram uma variação de 0,6% a 20,7% em sua frequência. (27) O estudo de De Paula et al. (25) sobre detecção molecular de *C. trachomatis* e infecções por HPV em amostras cervicais com achados normais e alterados de citopatológico, demonstrou que a presença de DNA para *C. trachomatis* foi encontrado em 9,2% das amostras. Em estudos mais recentes, Miguel et al. (28) detectou positividade em 37,9% das amostras endocervicais de mulheres em Lages, Santa Catarina e o estudo de Li et al. (26) afirmou que a presença da bactéria foi de 4,12% (IC 95% 3,51%-4,53%), sendo este último muito semelhante ao resultado encontrado no presente estudo. (25–28). A pesquisa molecular de *C. trachomatis* torna-se importante uma vez que a visualização das inclusões bacterianas nas células infectadas não é possível de ser observada na microscopia óptica, e tal infecção pode relacionar-se com aquisição de outros patógenos e alterações celulares, como discutido a seguir.

A detecção de HPV foi positiva em 42,8% das participantes, e a prevalência desse vírus é altamente variável em mulheres assintomáticas, dependendo da população estudada, idade, e metodologia empregada. Em estudo recente, Panpan et al. (29) descreveram positividade para HPV de alto risco em mais de 50% das amostras HPV positivas, sendo que o HPV-52 (1,8%) foi o genótipo mais prevalente na população estudada, seguido por HPV-16 (1,1%), HPV-58 (1,0%) e HPV-18 (0,5%). Em comparação com nosso estudo, dentre os genótipos pesquisados (06 e 16), o HPV 16 de alto risco teve detecção positiva para 4,7% (1/21). Importante ressaltar que o desenvolvimento de lesões cervicais é multifatorial e dependente da presença do HPV de alto risco como o HPV 16 e o HPV 18. Cabe destacar que no presente estudo todas as amostras com alterações citológicas se apresentaram positivas para HPV. Além disso, alguns microrganismos patogênicos sexualmente transmissíveis como a *Chlamydia trachomatis*, causa uma inflamação da cérvix, o qual pode auxiliar na progressão da lesão cervical e persistência viral (24,29,30). Dessa forma, com a detecção do patógeno e a relação das alterações de microbiota vaginal e citopatológicas, pode ser instituído um tratamento mais específico para essas mulheres e medidas que atuem na prevenção contra a infecção por HPV. Nesse sentido, a coinfeção por *C. trachomatis* e HPV é muito relevante para o desenvolvimento de câncer cervical, sendo que taxas de coinfeção para esses microrganismos variam de 5,2% a 7% (25,30). Ainda, Di Pietro et al. descreveram associação positiva para tal coinfeção e comportamentos de risco (tabagismo, sexarcar <16 anos e múltiplos parceiros) (10). No entanto, não foi possível relacionar a infecção

por HPV com a infecção por *C. trachomatis*, visto que no presente estudo não houve casos de coinfeção na totalidade das amostras.

A presença de VB, disbiose vaginal comum em mulheres com idade reprodutiva, tem prevalência de 20 a 60%, e cerca de um quarto das amostras avaliadas no presente estudo apresentaram VB, porcentagem semelhante ao estudo de Coudray e Madhivanan, que encontraram 29,2% de VB em mulheres norte-americanas (31). Cabe ressaltar que segundo o mesmo estudo, a VB pode aumentar o risco de se contrair infecções sexualmente transmissíveis (IST), como a *C. trachomatis*. O estudo de Shipitsyna et al. demonstrou que a presença de bactérias relacionadas à VB associa-se com a Doença Inflamatória Pélvica (DIP) sendo que o risco para DIP aumenta em quase 3% em mulheres com VB. Esse achado pode ser relacionado indiretamente com a presença de *C. trachomatis*, visto que a bactéria é uma das etiologias mais importantes para a DIP. No mesmo estudo, bem como em outros, evidencia-se que uma microbiota vaginal normal dominada por lactobacilos foi um forte fator de proteção contra a infecção por *C. trachomatis* (31–33). Embora muito descrita na literatura, a relação entre a VB e a infecção por *C. trachomatis* não obteve significância estatística, provavelmente devido ao pequeno tamanho amostral.

Estudos que avaliam a relação entre a microbiota vaginal e a infecção por HPV demonstraram que mulheres com flora intermediária e vaginose bacteriana estão mais propensas a uma prevalência e incidência aumentadas do vírus. No presente estudo, mulheres com vaginose bacteriana dispuseram de 13,6% de positividade de HPV. Segundo Chase et al., uma microbiota vaginal em disbiose pode impactar diretamente no desenvolvimento, progressão e persistência do câncer cervical (34). Para corroborar com os achados, dados de Tamarelle et al., demonstraram uma taxa de associação de 0,6 a 2,75 entre HPV e microbiota vaginal pobre em lactobacilos (8). Ademais, estudos apresentaram uma associação significativa entre escassez de lactobacilos e infecção por HPV (34–37).

Este estudo, apesar de fornecer dados importantes e oportunizar exames adicionais oferecidos pelo SUS, apresenta algumas limitações como o pequeno tamanho da amostra e a avaliação somente dos tipos de HPV 06 e 16, o que implica em associações e cruzamento de dados restringidos. Em específico, o pequeno tamanho amostral prejudicou na análise da prevalência da infecção por HPV, no cruzamento de dados para detecção da coinfeção entre *C. trachomatis* e HPV, nas relações entre alterações citopatológicas e presença do vírus e nas relações feitas com a microbiota vaginal. Nesse

sentido, novas abordagens e análises posteriores poderão contribuir para melhor conhecimento da população, frequências das alterações celulares e de microbiota e estratégias de rastreamento e tratamento das alterações nas mulheres atendidas pelo SUS.

Conclusão

Dessa forma, conclui-se que a frequência de alterações citológicas e a presença de *C. trachomatis* são baixas em mulheres com idade reprodutiva atendidas no SUS, enquanto a positividade para HPV é alta em mulheres assintomáticas, e parece associar-se às alterações de microbiota vaginal, como a vaginose bacteriana.

Agradecimentos

Agradecemos a todas as participantes, à equipe coordenadora do projeto de pesquisa, aos voluntários que se dedicaram a esse estudo e as ginecologistas e enfermeiras que auxiliaram em todo o processo. Deixamos nosso agradecimento especial à Dr^a. Márcia Guimarães da Silva, pela gentileza em nos ceder os controles positivos utilizados nas reações de RT-PCR e PCR convencional.

Referências

1. Smith SB, Ravel J. The vaginal microbiota, host defence and reproductive physiology. *J Physiol* [Internet]. 2017;595(2):451–63. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27373840/>
2. Tachedjian G, O’Hanlon DE, Ravel J. The implausible “in vivo” role of hydrogen peroxide as an antimicrobial factor produced by vaginal microbiota. *Microbiome* [Internet]. 2018;6(1):3–7. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5801833/>
3. Felicia M. T. Lewis, MD, Kyle T. Bernstein, PhD, MsC, Sevgi O. Aral, PhD M. Vaginal microbiome and its relationship to behavior, sexual health, and sexually transmitted diseases. *Obs Gynecol* [Internet]. 2017;129(4):643–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28277350/>
4. Nugent RP, Krohn M, Hillier SL. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1991;29(2):297–301. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1706728/>
5. Amsel R, Totten PA, Spiegel CA, Chen KC, Eschenbach D, Holmes KK. Nonspecific vaginitis. Diagnostic criteria and microbial and epidemiologic associations. *Am J Med* [Internet]. 1983;74:14–22. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6600371/>
6. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, Mcculle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. *PNAS* [Internet].

- 2011;108(1):4680–7. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20534435/>
7. Doerflinger SY, Throop AL, Herbst-Kralovetz MM. Bacteria in the vaginal microbiome alter the innate immune response and barrier properties of the human vaginal epithelia in a species-specific manner. *J Infect Dis* [Internet]. 2014;209(12):1989–99. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24403560/>
 8. Tamarelle J, Thiébaud A, Barbeyrac B, Bébéar C, Ravel J, Delarocque-Astagneau E. The vaginal microbiota and its association with Human Papillomavirus, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea* and *Mycoplasma genitalium* infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2019;25(1):35–47. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29729331/>
 9. Newman L, Rowley J, Hoorn S Vander, Wijesooriya NS, Unemo M, Low N, et al. Global Estimates of the Prevalence and Incidence of Four Curable Sexually Transmitted Infections in 2012 Based on Systematic Review and Global Reporting. *PLoS One* [Internet]. 2015;10(12):1–17. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26646541/>
 10. Di Pietro M, Filardo S, Porpora MG, Recine N, Latino MA, Sessa R. HPV/*Chlamydia trachomatis* co-infection: Metagenomic analysis of cervical microbiota in asymptomatic women. *New Microbiol* [Internet]. 2018;41(1):34–41. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29313867/>
 11. Naldini G, Grisci C, Chiavarini M, Fabiani R. Association between human papillomavirus and *chlamydia trachomatis* infection risk in women: a systematic review and meta-analysis. *Int J Public Health* [Internet]. 2019;64(6):943–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31175391/>
 12. Shaw K, Coleman D, O’Sullivan M, Stephens N. Public health policies and management strategies for genital *chlamydia trachomatis* infection. *Risk Manag Healthc Policy* [Internet]. 2011;4:57–65. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3270924/>
 13. Mitra A, MacIntyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbiota, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: What do we know and where are we going next? *Microbiome* [Internet]. 2016;4:1–15. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s40168-016-0203-0>
 14. Armstrong H, Bording-Jorgensen M, Dijk S, Wine E. The complex interplay between chronic inflammation, the microbiome, and cancer: Understanding disease progression and what we can do to prevent it. *Cancers (Basel)* [Internet]. 2018;10(3):1–29. Available from:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5876658/>
 15. Longatto-Filho A, Levi JE, Martins TR, Cohen D, Cury L, Villa LL, et al. Critical Analyses of the Introduction of Liquid-Based Cytology in a Public Health Service of the State of São Paulo, Brazil. *Acta Cytol* [Internet]. 2015;59(3):273–7. Available from:
<https://www.karger.com/Article/Abstract/435801>
 16. Leite KRM, Silva T, Naum B, Canavez F, Canavez J, Pimenta R, et al.

- Validation of a new low-cost, methanol-based fixative for cervical cytology and human papillomavirus detection. *Acta Cytol* [Internet]. 2018;62(5–6):393–6. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29913440/>
17. Stabile SAB, Evangelista DHR, Talamonte VH, Lippi UG, C LRG. Estudo comparativo dos resultados obtidos pela citologia oncótica cérvico-vaginal convencional e pela citologia em meio líquido. *Rev Einstein* [Internet]. 2012;10(4):466–72. Available from: <https://journal.einstein.br/pt-br/article/estudo-comparativo-dos-resultados-obtidos-pela-citologia-oncotica-cervico-vaginal-convencional-e-pela-citologia-em-meio-liquido/>
 18. Isidean SD, Mayrand MH, Ramanakumar A V., Gilbert L, Reid SL, Rodrigues I, et al. Human papillomavirus testing versus cytology in primary cervical cancer screening: End-of-study and extended follow-up results from the Canadian cervical cancer screening trial. *Int J Cancer* [Internet]. 2016;139(11):2456–66. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27538188/>
 19. C.M. B, J. M, R.E. J, E.W. HIII, R.B. J, T.a. G, et al. Head-to-head multicenter comparison of DNA probe and nucleic acid amplification tests for *Chlamydia trachomatis* infection in women performed with an improved reference standard. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2002;40(10):3757–63. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=emed5&NEWS=N&AN=2002357725>
 20. Bauer HM, Ting Y, Greer CE, Chambers JC, Tashiro CJ, Chimera J, et al. Genital human papillomavirus infection in female university students as determined by a PCR-based method. *JAMA* [Internet]. 1991;265(4):472–7. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1845912/>
 21. Morré SA, Sillekens P, Jacobs M V., Van Aarle P, De Blok S, Van Gemen B, et al. RNA amplification by nucleic acid sequence-based amplification with an internal standard enables reliable detection of *Chlamydia trachomatis* in cervical scrapings and urine samples. *J Clin Microbiol* [Internet]. 1996;34(12):3108–14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8940456/>
 22. De Roda Husman AM, Walboomers JMM, Van den Brule AJC, Meijer CJLM, Snijders PJF. The use of general iniciadores GP5 and GP6 elongated at their 3' ends with adjacent highly conserved sequences improves human papillomavirus detection by PCR. *J Gen Virol* [Internet]. 1995; 76(4):1057–62. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9049358/>
 23. Nishiwaki M, Yamamoto T, Tone S, Murai T, Ohkawara T, Matsunami T, et al. Genotyping of Human Papillomaviruses by a novel one-step typing method with multiplex PCR and clinical applications. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2008;46(4):1161–8. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2292906/>
 24. Amorim AT, Marques LM, Campos GB, Lobão TN, de Souza Lino V, Cintra RC, et al. Co-infection of sexually transmitted pathogens and Human Papillomavirus in cervical samples of women of Brazil. *BMC Infect Dis* [Internet]. 2017;17(1):1–12. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29246195/>
 25. De Paula FDF, Fernandes AP, Do Carmo BB, Vieira DCD, Dutra MS, Santos CGM, Souza MCM. Molecular Detection of *Chlamydia trachomatis* and HPV

- Infections in Cervical Samples With Normal and Abnormal Cytopathological Findings. *Diagn Cytopathol* [Internet]. 2008;36(4):245–51. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29246195/>
26. Li W, Liu LL, Luo ZZ, Han CY, Wu QH, Zhang L, et al. Associations of sexually transmitted infections and bacterial vaginosis with abnormal cervical cytology: A cross-sectional survey with 9090 community women in China. *PLoS One* [Internet]. 2020;15(3):1–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0230712>
 27. Carneiro FP, Darós AC, Darós ACM, De Castro TMML, De Vasconcelos Carneiro M, Fidelis CR, et al. Cervical Cytology of Samples with *Ureaplasma urealyticum*, *Ureaplasma parvum*, *Chlamydia trachomatis*, *Trichomonas vaginalis*, *Mycoplasma hominis*, and *Neisseria gonorrhoeae* Detected by Multiplex PCR. *Biomed Res Int* [Internet]. 2020;2020. Available from: <https://europepmc.org/article/med/32724807>
 28. Miguel RL; Miletti LF ; Da Silva BF. PCR em amostras endocervicais de mulheres em Lages , Santa Catarina , Brasil. *J Bras Patol Med Lab* [Internet]. 2020;56:1–7. Available from: <https://www.jbpml.org.br/detalhes/1609/incidencia-de-chlamydia-trachomatis-detectada-por-pcr-em-amostras-endocervicais-de-mulheres-em-lages--santa-catarina--brasil>
 29. Lv P, Zhao F, Xu X, Xu J, Wang Q, Zhao Z. Correlation between Common Lower Genital Tract Microbes and High-Risk Human Papillomavirus Infection. *Can J Infect Dis Med Microbiol* [Internet]. 2019;2019. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6893239/>
 30. Martinelli M, Musumeci R, Rizzo A, Muresu N, Piana A, Sotgiu G, et al. Prevalence of chlamydia trachomatis infection, serovar distribution and co-infections with seven high-risk HPV types among Italian women with a recent history of abnormal cervical cytology. *Int J Environ Res Public Health* [Internet]. 2019;16(18):1–10. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6765777/>
 31. Makella S Coudray1 PM. Bacterial Vaginosis - A Brief Synopsis of the Literature Makella. *Eur J Obs Gynecol Reprod Biol* [Internet]. 2021;245:143–8. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31901667/>
 32. Shipitsyna E, Khusnutdinova T, Budilovskaya O, Krysanova A, Shalepo K, Savicheva A, et al. Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* infections in low-risk women, St. Petersburg, Russia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2020;39(7):1221–30. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32036466/>
 33. Haggerty CL, Ness RB, Totten PA, Farooq F, Tang G, Ko D, et al. Presence and Concentrations os Select Bacterial Vaginosis - Associated Bacteria Are Associated with Increased Risk of Pelvic Inflammatory Disease. *HHS Public Access* [Internet]. 2021;47(5):344–6. Available from: <https://europepmc.org/article/pmc/pmc7167351>
 34. Chase D, Goulder A, Zenhausern F, Monk B, Herbst-Kralovetz M. The vaginal and gastrointestinal microbiomes in gynecologic cancers: A review of

- applications in etiology, symptoms and treatment. *Gynecol Oncol* [Internet]. 2015;138(1):190–200. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25957158/http://dx.doi.org/10.1016/j.ygyno.2015.04.036>
35. Watts DH, Fazarri M, Minkoff H, Hillier SL, Sha B, Glesby M, et al. Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J Infect Dis* [Internet]. 2005;191(7):1129–39. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15747249/>
36. J Tamarelle¹, A C M Thiébaud², B de Barbeyrac³, C Bébéar³, J Ravel⁴ ED-A. The vaginal microbiota and its association with Human Papillomavirus, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoea* and *Mycoplasma genitalium* infections: a systematic review and meta-analysis. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2020;108(2):27–32. Available from: <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01747-4>
37. B Shannon¹, TJ Yi¹, S Perusini², P Gajer^{3,4}, B Ma^{3,4}, MS Humphrys^{3,4}, J Thomas-Pavanel⁵, L Chieza⁵, P Janakiram⁵, M Saunders⁵, W Tharao⁵, S Huibner¹, K Shahabi¹, J Ravel^{3,4}, A Rebbapragada^{1,2}, and R Kaul¹ 5. Association of HPV infection and clearance with cervicovaginal immunology and the vaginal microbiota. *Mucosal Immunol* [Internet]. 2017;10(5):1310–9. Available from: <https://www.scielo.br/j/rsp/a/nCdqgX9j7wrbvxFMHmZZzTR/abstract/?lang=pt>

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Após a execução do projeto de pesquisa e a elaboração do artigo científico, concluiu-se que os objetivos do estudo foram cumpridos, tendo em vista que foi possível determinar as alterações de citologia cérvico-vaginal em meio líquido e os padrões de microbiota vaginal, juntamente com a caracterização da amostra e a detecção de *Chlamydia trachomatis* e Papilomavírus Humano (HPV).

Embora o pequeno tamanho amostral, os resultados foram satisfatórios, sendo que a amostra total foi composta por 22 mulheres brancas, católicas e em idade reprodutiva. O padrão de microbiota vaginal mais comumente encontrado foi uma flora normal (Flora D), segundo Escore de Nugent e a ausência de neoplasia dominou o cenário da citologia cérvico-vaginal em meio líquido. Cabe ressaltar que também houveram alterações citológicas, com as quais foi possível estabelecer relação com o HPV. Além disso, a detecção de *C. trachomatis* foi baixa em comparação com outros estudos descritos. Já a detecção para HPV foi surpreendente alta, acometendo quase metade das mulheres participantes. Vale destacar que a possibilidade de detecção com o meio líquido pode direcionar o tratamento dessas mulheres e estabelecer o diagnóstico da presença do patógeno, visto que com a citologia convencional essa detecção não é passível de ser realizada.

Por meio do presente estudo é possível salientar que o benefício ofertado com a detecção desses patógenos é muito importante, não somente pelo tratamento correto, mas sim pela prevenção de possíveis complicações como o câncer de colo do útero, Doença Infamatória Pélvica (DIP), infertilidade e dor pélvica crônica.

