



UFAM

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
FACULDADE DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS DA SAÚDE**

MARIA JOANA NUNES DE AZEVEDO

**INFECÇÃO POR *Chlamydia trachomatis* EM GESTANTES DO
MUNICÍPIO DE COARI, AMAZONAS**

**MANAUS-AM
2017**

MARIA JOANA NUNES DE AZEVEDO

**INFECÇÃO POR *Chlamydia trachomatis* EM GESTANTES DO
MUNICÍPIO DE COARI, AMAZONAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Amazonas, na área de concentração Ciências da Saúde e na linha de pesquisa Biodiversidade Amazônica Aplicada às Doenças Regionais, como requisito para obtenção do Título de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Danielle Albuquerque Pires Rocha

**Manaus-AM
2017**

Ficha Catalográfica

Ficha catalográfica elaborada automaticamente de acordo com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A994i Azevedo, Maria Joana Nunes de
INFEÇÃO POR *Chlamydia trachomatis* EM GESTANTES DO
MUNICÍPIO DE COARI, AMAZONAS / Maria Joana Nunes de
Azevedo. 2017
75 f.: il.; 31 cm.

Orientadora: Danielle Albuquerque Pires Rocha
Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade
Federal do Amazonas.

1. *Chlamydia trachomatis*. 2. Gestantes. 3. Reação em cadeia da
polimerase (PCR). 4. Amazonas. I. Rocha, Danielle Albuquerque
Pires II. Universidade Federal do Amazonas III. Título



Poder Executivo
Ministério da Educação
Universidade Federal do Amazonas
Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu*
Mestrado em Ciências da Saúde



Homologado pelo CNE (Port. MEC 1331, de 08/11/2012, DOU 09/11/2012, sec 1, p. 8)

ATA DO JULGAMENTO DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA BIOTECNOLOGISTA MARIA JOANA NUNES DE AZEVEDO PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS DA SAÚDE, REALIZADA DIA 12 DE JUNHO DE 2017.

Aos doze dias do mês de junho, do ano de dois mil e dezessete, às catorze horas, na sala de aula 2.10, na Faculdade de Medicina, situada à Rua Afonso Pena, 1053 – Centro, CEP: 69020-160, nesta cidade de Manaus/Amazonas, reuniu-se a Banca Examinadora, indicada pela Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Mestrado em Ciências da Saúde, para julgamento da Defesa de Dissertação de Mestrado, apresentada pela candidata Maria Joana Nunes de Azevedo, na Área de Concentração Ciências da Saúde, Linha de Pesquisa – Biodiversidade amazônica aplicada às doenças regionais, intitulada: “Infecção por *Chlamydia trachomatis* em gestantes do Município de Coari, Amazonas”. O julgamento do trabalho foi realizado em sessão pública, compreendendo exposição pela mestranda, seguida de arguição dos examinadores. Ao término dos trabalhos, cada examinador em sessão secreta, exarou seu parecer. Orientadora: Prof^ª. Dra. Danielle Albuquerque Pires Rocha (X) aprovada, () reprovada; Dra. Kátia Luz Torres Silva / FCECON (X) aprovada, () reprovada; Dra. Cíntia Mara Costa de Oliveira / FMT-HVD (X) aprovada, () reprovada. O Coordenador do Mestrado em Ciências da Saúde, Prof. Dr. Edson de Oliveira Andrade, agradeceu a presença de todos e encerrou a sessão. Manaus, 12 de junho de 2017.

Prof. Dr. Edson de Oliveira Andrade

Coordenador do Mestrado

Prof^ª. Dra. Danielle Albuquerque Pires Rocha

Orientadora

Dra. Kátia Luz Torres Silva

Membro Titular Externo

Dra. Cíntia Mara Costa de Oliveira

Membro Titular Externo

Maria Joana Nunes de Azevedo

Mestranda

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho primeiramente a Deus, que me dá forças para continuar e é digno de toda honra e toda glória. Aos meus pais **Neuto Azevedo e Maria Divina da Silva Nunes** por serem meu incentivo nessa trajetória.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por ser o meu refúgio e meu baluarte nessa jornada.

À **professora Danielle Albuquerque Pires Rocha**, por ser uma excelente pessoa e profissional, me orientando a fazer o melhor, sempre com entusiasmo, compreendendo minhas limitações.

Ao meu noivo **José Denev Alves de Araújo**, que está sempre comigo ajudando e apoiando no que for preciso.

Ao meu irmão **Mateus Nunes de Azevedo** e especialmente aos meus pais, **Neuto Azevedo** e **Maria Divina da Silva Nunes**, pelo incentivo a buscar o melhor no que diz respeito ao conhecimento.

À Enfermeira **Suzana dos Santos Nunes**, pelo recrutamento das pacientes bem como a coleta das amostras.

Ao Dr. **Ricardo dos Santos Faria** pela disponibilidade em colaborar com este trabalho quando foi necessário.

Ao Técnico do Laboratório de Genética do ISB/ Coari, **Renato dos Santos Reis** e ao acadêmico de Biotecnologia **Bruno Alcântara** pelo auxílio nas atividades laboratoriais.

À acadêmica de Enfermagem do ISB/Coari, **Jarlene Mesquita**, pela ajuda na abordagem às participantes deste estudo.

Às minhas amigas, **Michele Bruce de Sousa e Fabyanne Guimarães de Oliveira**, pelas palavras de incentivo e por me acompanharem quando podiam nas atividades do laboratório e nas abordagens às gestantes.

Às **pacientes** que aceitaram a participar e colaborar com este trabalho para construção do conhecimento.

À **Secretaria Municipal de Saúde de Coari**, pela permissão para realização deste trabalho nas Unidades Básicas de Saúde.

Ao **Instituto de Saúde e Biotecnologia/Coari – (UFAM)** que possibilitou a realização das etapas de processamento das amostras no laboratório de Genética.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES)** pelo auxílio financeiro através da bolsa de estudo que tornou este trabalho possível.

A **Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGMCS)** pela oportunidade e conhecimento adquirido.

RESUMO

As mulheres, no período da gestação, passam por diversas alterações fisiológicas, imunológicas, hormonais e anatômicas em seu corpo, alterações estas que as deixam vulneráveis a algumas infecções. Um dos patógenos que frequentemente infecta mulheres e que pode ter considerável impacto sobre gestantes é a bactéria *Chlamydia trachomatis* (CT), cuja infecção é geralmente silenciosa e pode trazer sérias consequências para a mãe e o feto, tais como o parto prematuro, gravidez tubária e aborto espontâneo. O rastreamento rotineiro dessa bactéria em mulheres em idade fértil e em gestantes tem sido realizado em alguns países desenvolvidos, mas ainda não no Brasil. O objetivo desta pesquisa foi estudar a infecção por CT em gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde do Município de Coari, Amazonas, Brasil, e verificar possíveis associações entre a presença de CT e variáveis clínico-epidemiológicas. Trata-se de um estudo descritivo e transversal, com gestantes atendidas nessas unidades durante a consulta de pré-natal, entre julho de 2016 e março de 2017. As gestantes responderam um questionário contendo dados sócio-demográficos, comportamentais e clínicos. O diagnóstico da CT foi realizado pela técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) em amostras de urina e cérvico-vaginais. De um total de 164 gestantes selecionadas, 100 foram incluídas no estudo. A média de idade foi de 22,87 anos (DP= 6,24). A taxa de prevalência da infecção por CT encontrada foi de 18% (18/100). A prevalência da CT nas amostras de urina foi de 15% (IC95%: 8,65 – 23,53) e nas amostras cérvico-vaginais foi de 11% (IC95%: 5,62 – 18,83). A prevalência da CT foi encontrada nas gestantes com média de idade de 21,15 anos (DP=4,65), e foi maior nas que tiveram o início da atividade sexual antes dos 15 anos de idade, e nas primigestas, no entanto, somente associada com as que tiveram mais de dois parceiros nos últimos 12 meses ($p= 0,022$) e as que apresentaram queixa ginecológica “dor após a relação sexual” ($p= 0,05$). Este estudo mostrou uma alta prevalência (18%) da infecção causada por CT entre gestantes do município de Coari/AM, e reforça a necessidade do rastreio dessa infecção durante o pré-natal nessa população.

Palavras-Chave: *Chlamydia trachomatis*; Gestantes; Reação em cadeia da polimerase (PCR); Amazonas.

ABSTRACT

Women in the gestation period undergo several physiological, immunological, hormonal and anatomical changes in their body, changes that leave them vulnerable to some infections. One of the pathogens that frequently infects women and which may have a considerable impact on pregnant women is the bacterium *Chlamydia trachomatis* (CT), whose infection is generally silent and can have serious consequences for the mother and fetus, such as premature birth, tubal pregnancy, and spontaneous abortion. The routine screening of this bacterium in women of childbearing age and in pregnant women has been carried out in some developed countries, but not yet in Brazil. The objective of this study was to study CT infection in pregnant women attended at the Basic Health Units of the Municipality of Coari, Amazonas, Brazil, and to verify possible associations between the presence of CT and clinical-epidemiological variables. It is a descriptive and cross-sectional study, with pregnant women attended at these units during the prenatal visit between July 2016 and March 2017. The pregnant women answered a questionnaire containing socio-demographic, behavioral and clinical data. The diagnosis of CT was performed using the polymerase chain reaction (PCR) technique in urine and cervix-vaginal samples. Of a total of 164 pregnant women selected, 100 were included in the study. The mean age was 22.87 years (SD = 6.24). The prevalence rate of CT infection was 18% (18/100). The prevalence of CT in the urine samples was 15% (95% CI: 8.65 - 23.53) and in the cervix-vaginal samples was 11% (95% CI: 5.62 - 18.83). The prevalence of CT was found in pregnant women with a mean age of 21.15 years (SD = 4.65), and was higher in those who started sexual activity before 15 years of age, and in the primigravida, but it was only associated with those who had more than two partners in the last 12 months ($p = 0.022$) and those with gynecological complaint of "pain after intercourse" ($p = 0.05$). This study showed a high prevalence (18%) of CT infection among pregnant women in the municipality of Coari/AM, and reinforces the need to screen for this infection during prenatal care in this population.

Key words: *Chlamydia trachomatis*; Pregnant women; Polymerase chain reaction (PCR); Amazonas

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

AM	Amazonas
AP	Amapá
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BA	Bahia
CE	Ceará
CEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i> (Centro de Controle e Prevenção de Doenças)
CT	<i>Chlamydia trachomatis</i>
CE	Corpo elementar
CR	Corpo reticular
	Departamento de Informática do Sistema Único de Saúde
DATASUS	
DF	Distrito Federal
dNTP	Desoxinucleotídeo trifosfato
DIP	Doença Inflamatória Pélvica
DNA	<i>Desoxiribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucleico)
EDTA	<i>Ethylenediamine Tetraacetic acid</i> (Ácido etilenodiaminotetracético)
ELISA	<i>Enzyme Linked Immunosorbent Assay</i> (Ensaio Imunoenzimático Ligado à Enzima)
ES	Espírito Santo
EUA	Estados Unidos da América
GO	Goiás
HPV	<i>Human papillomavirus</i> (Papilomavírus Humano)
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i> (Vírus da Imunodeficiência Humana)
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IL-8	Interleucina-8

IST	Infecções Sexualmente Transmissíveis
LCR	<i>Ligase chain reaction</i> (Reação em cadeia da ligase)
LPS	Lipopolissacarídeos
MOMP	<i>Major Outer Membrane Protein</i> (Proteína principal da membrana externa)
NF_κB	<i>Nuclear factor kappa B</i> (Fator de transcrição nuclear kappa B)
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pará
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i> (Reação em Cadeia da Polimerase)
Pb	Pares de bases
PBS	<i>Phosphate - buffered saline</i> (Tampão fosfato - salino)
PE	Pernambuco
pH	Potencial hidrogeniônico
PR	Paraná
RS	Rio Grande do sul
RJ	Rio de Janeiro
SC	Santa Catarina
SINASC	Sistema de Informações sobre Nascidos Vivos
SP	São Paulo
SUS	Sistema Único de Saúde
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
UBS	Unidade Básica de Saúde
UFAM	Universidade Federal do Amazonas
WHO	<i>World Health Organization</i> (Organização Mundial da Saúde)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Localização geográfica do município de Coari, Amazonas	15
Figura 2. Ciclo da infecção por CT	21
Figura 3. Estudos internacionais da prevalência da infecção por CT em população feminina.....	24
Figura 4. Estudos brasileiros da prevalência da infecção por CT em populações femininas.....	24
Figura 5. Estudos internacionais da prevalência da infecção por CT em gestantes.	29
Figura 6. Estudos brasileiros de prevalência de infecção por CT em gestantes.	30
Figura 7. Distribuição geográfica das UBS do município de Coari/AM.....	33
Figura 8. Fluxograma metodológico	34
Figura 9. Iniciadores utilizados para detecção da CT e o gene controle da β -globina humana	36
Figura 10. Componentes e volumes da PCR multiplex para o gene da β -globina humana e detecção de CT utilizando os iniciadores PCO3+/PCO4+ e CT05/CT06 .	37
Figura 11. Condições da PCR multiplex para amplificação de fragmento do gene da β -globina humana e do gene MOMP de CT utilizando os iniciadores PCO3+/PCO4+ e CT05/CT06.....	37
Figura 12. Fluxograma das gestantes incluídas no estudo	39
Figura 13. Análise eletroforética em gel de agarose 1,5% dos produtos da PCR obtidos após a PCR com iniciadores CT05/CT06 e PCO3/PCO4.....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características sócio-demográficas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.....	41
Tabela 2. Características do comportamento sexual de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.	42
Tabela 3. Características do aspecto de história clínica de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.....	43
Tabela 4. Frequência da positividade da infecção por CT nas amostras biológicas analisadas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.	44
Tabela 5. Características sócio-demográficas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT.	45
Tabela 6. Comportamento sexual das 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT	46
Tabela 7. História clínica das 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT.	46

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
1 REVISÃO DE LITERATURA	16
1.1 INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS	16
1.2 GESTAÇÃO E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS.....	17
1.3 <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT).....	20
1.3.1 Biologia bacteriana e ciclo de desenvolvimento	20
1.3.2 Manifestações clínicas.....	21
1.3.3 Epidemiologia.....	23
1.3.4 Diagnóstico e Tratamento	26
1.3.5 <i>Chlamydia trachomatis</i> na gravidez	28
2 OBJETIVOS	31
2.1 GERAL	31
2.2 ESPECÍFICOS	31
3 MATERIAIS E MÉTODOS	32
3.1 ASPECTOS ÉTICOS.....	32
3.2 TIPO DE ESTUDO, POPULAÇÃO E AMOSTRA.....	32
3.3 ENTREVISTA E COLETA	35
3.5 PROCESSAMENTO LABORATORIAL	35
3.5.1 Extração de DNA	36
3.5.2 Detecção da CT	36
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	38
4 RESULTADOS	38
4.2 INFECÇÃO POR CT	43
4.3 ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA DE RESULTADOS ENTRE AS DUAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS ANALISADAS.....	45
4.4 ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS E A INFECÇÃO POR CT	45
5 DISCUSSÃO	47
CONCLUSÃO	51
REFERÊNCIAS	52
ANEXOS	64

INTRODUÇÃO

Na gestação ocorrem mudanças na vida da mulher. Essas mudanças incluem alterações hormonais, fisiológicas e redução da atividade ou eficiência imunológica, deixando-a vulnerável. A mulher, por isso, está mais propensa a aquisição de doenças e infecções sexualmente transmissíveis (IST) durante essa fase da vida (COSTA et al., 2010).

As IST podem afetar tanto a saúde materna, quanto a fetal, trazendo consequências biológicas, econômicas, sociais, desconforto e transtornos emocionais. Dentre os patógenos sexualmente transmissíveis, a infecção pela *Chlamydia trachomatis* (CT) é uma das mais comuns, e está associada aos problemas na saúde reprodutiva da mulher (MALHOTRA et al., 2013).

Cinquenta a 80% das mulheres infectadas pela CT não desenvolvem sintomas; essas mulheres são consideradas, por isso, como reservatórios silenciosos desse patógeno e continuam a transmiti-lo sexualmente. Esta infecção não tratada permite a sua propagação para o trato genital superior, podendo levar a doença inflamatória pélvica (DIP), gravidez ectópica e infertilidade, dentre outras condições patológicas (GHOSH et al., 2015; SULAIMAN et al., 2014).

As gestantes infectadas com CT podem desenvolver gravidez ectópica, ruptura prematura de membranas e conseqüentemente parto prematuro ou abortos espontâneos (NAKUBULWA et al., 2015; ROURS et al., 2011a). Isso ocorre porque essas bactérias são intracelulares obrigatórias, com isso, causam lise celular levando a inflamação do tecido que reveste a cavidade interna do útero, o endométrio (MERCER, 2005).

Os neonatos correm o risco de serem contaminados durante o parto normal pelo canal vaginal infectado ou cesariano após a ruptura da bolsa amniótica (SOUZA et al., 2012). Estes podem nascer com baixo peso, podendo desenvolver conjuntivite, problemas respiratórios e no decorrer dos anos, sofrer com doença pulmonar obstrutiva crônica (BEKLER et al., 2012; ROURS et al., 2009).

Países como Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos, Japão e Alemanha realizam o rastreio da infecção por CT em gestantes ≤ 25 anos, a fim de evitar complicações na gravidez (KEEGAN, DIEDRICH e PEIPERT, 2014; LI et al., 2013; SUZUKI et al., 2015; WISE, SADLER e EKEROMA, 2015). No Brasil, o serviço público

e particular não realizam o rastreio rotineiramente dessa infecção (COSTA et al., 2010). O que se sabe dessa infecção em gestantes advém de estudos epidemiológicos, nos quais os testes moleculares são as técnicas mais utilizadas, pois apresentam elevada sensibilidade e especificidade no diagnóstico dessa infecção (LJUBIN-STERNAK e MEŠTROVIĆ, 2014).

Os testes moleculares permitem a utilização de amostras como urina e cérvico-vaginal para detecção de CT. A urina contém ácidos nucleicos derivados das células epiteliais tubular renal, urotelial de transição e células escamosas. É uma amostra não-invasiva, auto-coletável, cuja sensibilidade e especificidade da reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de CT varia de 87 a 99.8%. Apresenta, no entanto, inibidores como DNase e RNase, que podem degradar o material genético e interferir na PCR, o que pode ser minimizado quando usados tampões que inativem esses inibidores e kits de extração de DNA apropriados (ALAEDDINI, 2012; EL BALI et al., 2014; GHOSH et al., 2015).

A amostra cérvico-vaginal é de fácil transporte e não exige muitas etapas de processamento, com resultados satisfatórios na detecção da CT em muitos estudos epidemiológicos por meio da técnica de PCR (MEYER, 2016). Essas amostras contêm muitas células epiteliais escamocolumnares, células pelas quais a CT tem alto tropismo (CEVENINI, DONATI e SAMBRI, 2002; GHOSH et al., 2015).

Portanto, a realização de estudo que compare o uso desses dois tipos de amostras para detecção da CT em gestantes, que é uma população considerada de risco, mostra um norteamento para o uso de uma dessas amostras para o rastreio da infecção nessa população. Conhecer a situação epidemiológica da infecção por CT em gestantes é muito importante, pois estes dados ajudam a visualizar a necessidade de rastreio desta infecção, bem como a elaboração de estratégias para realização do mesmo.

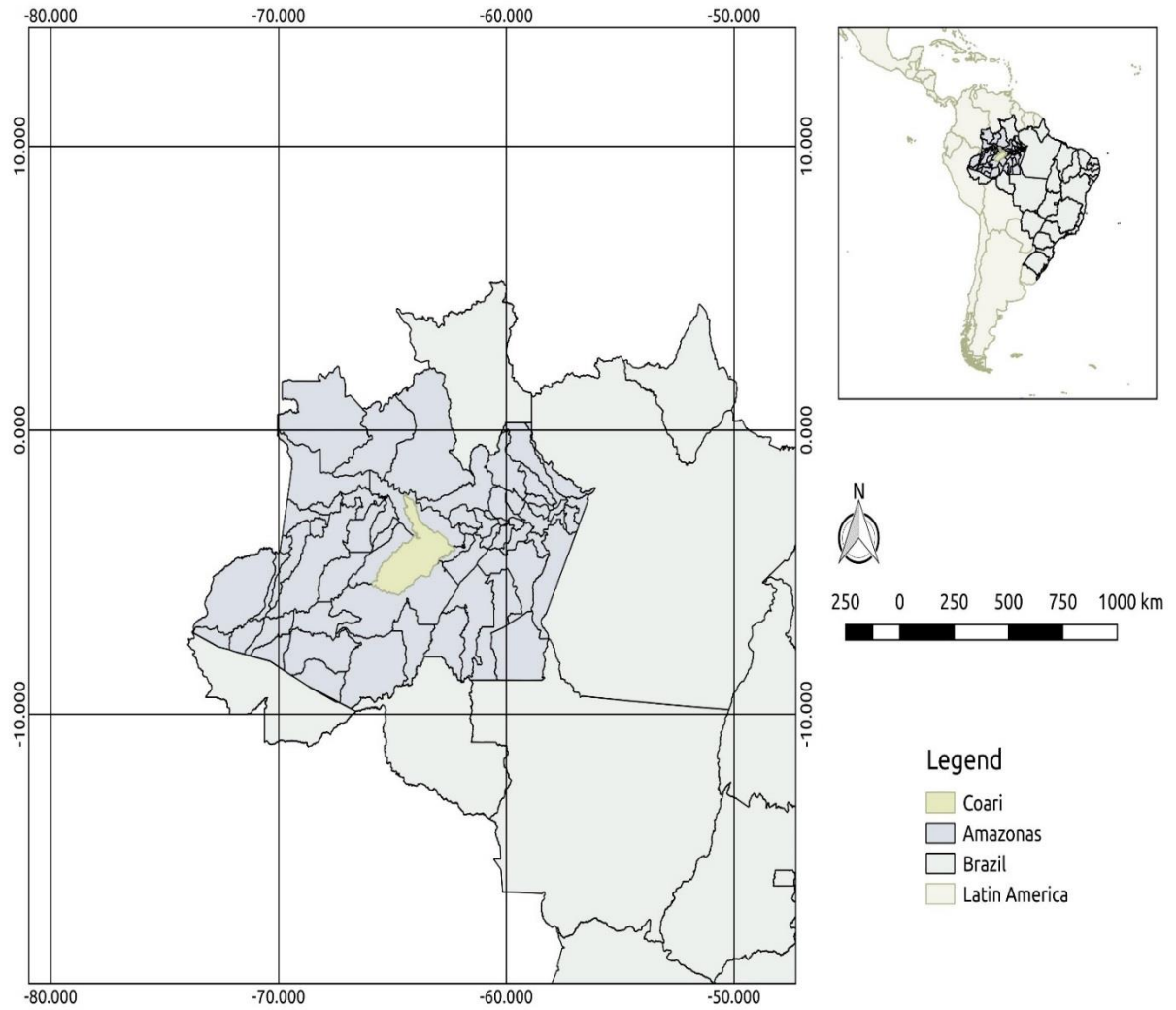
O rastreamento da CT em mulheres jovens é uma prática bem estabelecida em alguns países desenvolvidos, e tem mostrado excelentes resultados em relação ao custo-benefício, uma vez, que as possíveis consequências clínicas da infecção por CT são bastante onerosas aos serviços de saúde (cirurgias decorrentes de gravidez ectópica, internações prolongadas em caso de parto prematuro, aborto) e emocionalmente dolorosas para o casal acometido (SMITH e ANGARONE, 2015). No Brasil, no entanto, esse rastreamento organizado não é realizado, e esta infecção não é de notificação compulsória, o que dificulta ainda mais a visibilidade do problema.

Nas gestantes, a infecção por CT vem sendo negligenciada, pois não faz parte dos exames solicitados durante o pré-natal. O fato é que a infecção por esta bactéria aumenta o risco de morbidade e mortalidade, tanto para o feto quanto para o neonato (ANDRADE et al., 2014; SILVEIRA, 2011).

Estudos tem mostrado a prevalência da infecção por CT em gestantes e também esse estudo vem contribuir para o conhecimento da prevalência da infecção por CT em uma amostra de gestantes atendidas na rede municipal de saúde do município de Coari. O Município de Coari está às margem do lago de Coari (Figura 1), no Rio Solimões, localizado a 363 Km de distância do município de Manaus, capital do Estado do Amazonas. De acordo com o IBGE (2016), sua população é estimada em 83.929 habitantes. Neste município há intensa exploração de Petróleo e Gás Natural, e desde o ano de 2000, a construção do gasoduto Coari-Manaus atraiu um grande fluxo de pessoas para a cidade, principalmente trabalhadores do sexo masculino. Neste contexto, é importante estudar as mudanças relacionadas ao comportamento sexual e suas consequências para a população e para o sistema de saúde local, considerando que a multiplicidade de parceiros é fator predisponente às IST (SMITH e ANGARONE, 2015).

Nesse município, a população tem difícil acesso aos serviços mais sofisticados de saúde e os serviços de saúde local não oferecem exames para o diagnóstico da infecção por CT e, tão pouco, as mulheres tem o conhecimento da mesma e das suas consequências. E ainda, desse local não se tem nenhuma informação sobre a infecção por CT em mulheres gestantes, com isso, esse estudo torna-se uma oportunidade de detecção da infecção nessa população para que medidas de prevenção possam ser tomadas, permitindo o tratamento precoce a fim de prevenir resultados adversos na gravidez. O resultado desse estudo só veem contribuir com outros estudos brasileiros e mostrar a realidade dessa infecção nesse município para que sejam elaboradas estratégias de cuidado mais regionalizadas que possam ser acrescentadas às já existentes.

Figura 1 Localização geográfica do município de Coari, Amazonas



Fonte: Araújo, 2017

1 REVISÃO DE LITERATURA

1.1 INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS

As infecções sexualmente transmissíveis (IST), são condições biológicas que, quando não tratadas, podem causar fortes impactos na saúde reprodutiva - materna e fetal - trazendo consequências emocionais, econômicas e sociais. A maioria destas infecções, quando diagnosticadas, são facilmente curáveis. Por se tratar de um assunto íntimo, e ainda com uma forte carga de discriminação na sociedade, muitas vezes são diagnosticadas tardiamente, permitindo que doenças graves se desenvolvam. Quando diagnosticadas e tratadas precocemente, diminuem os altos custos com tratamentos (KRIESEL et al., 2015; SAMARAWICKREMA et al., 2014).

Estima-se que 499 milhões de novos casos de IST em adultos na faixa etária de 15 a 49 anos ocorram no mundo anualmente. Nas Américas, estima-se que ocorram 126 milhões de novos casos de IST a cada ano (WHO, 2012). Em 2013, o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC - Centro de Controle e Prevenção de Doenças) estimou nos Estados Unidos aproximadamente 20 milhões de novos casos de IST por ano. Para o Brasil, as estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) é de 6 milhões a cada ano (<http://www.aids.gov.br/pagina/dst-no-brasil>). Alguns comportamentos contribuem para a aquisição dessas infecções, como início precoce da atividade sexual, alto número de parceiros sexuais, não uso de preservativo, idade jovem (< 25 anos), dentre outros fatores (JALIL et al., 2008; SMITH e ANGARONE, 2015).

Existem mais de 30 diferentes patógenos sexualmente transmissíveis, incluindo bactérias, vírus e parasitas (WHO, 2012), tais como *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium*, *Ureaplasma urealyticum/parvum*, tipo 1 e 2 do vírus herpes simples, *Gardnerella vaginalis*, Papilomavirus Humano (HPV), Vírus da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), Hepatite B/C (ASHSHI et al., 2015; GROUP, 2014).

Na maioria das vezes esses microrganismos não desenvolvem sintomas e cursam sem causar qualquer alteração no organismo humano, desenvolvendo seu ciclo de vida normalmente (TAYOUN et al., 2015; MCKECHNIE et al., 2009). Infectam principalmente o trato genital inferior e, a longo prazo, o superior. Causam doença

inflamatória pélvica (DIP), cervicite, uretrite, disúria e úlcera genital. Quando não tratadas, podem gerar graves sequelas no trato genital superior, tais como gravidez ectópica, parto prematuro, cegueira, infertilidade, dor pélvica crônica, abscessos tubos-ovarianos, câncer cervical e morte neonatal (BAZAN et al., 2015; GROUP, 2014). Além desses locais de infecções, alguns patógenos infectam outros sítios anatômicos, como os vírus da hepatite B e C, que infectam tecido hepático, o HIV que infecta as células do sistema imunológico, e os que atingem principalmente as células do sistema nervoso periférico como *Herpesvírus simples* (BRASIL, 2015b).

1.2 GESTAÇÃO E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS

A gestação compreende o período desde a fertilização do ovócito secundário pelo espermatozoide até o parto, abrangendo todo o desenvolvimento embrionário e fetal (FERNANDES, FORTUNATO e PINTO, 2010). Durante este período, várias mudanças anatômicas, fisiológicas, imunológicas e emocionais ocorrem na mulher (PICCININI et al., 2008; YANAMANDRA e CHANDRAHARAN, 2012).

Durante o período gestacional, as células da mucosa cervical produzem um tampão mucoso espesso e opaco, o opérculo, que obstrui o orifício do canal cervical, protegendo contra a invasão de patógenos. Essa secreção é ácida (pH < 4,5) devido à produção de ácido láctico (GONDO et al., 2010). Essa acidez protege contra alguns microrganismos, mas a mulher não deixa de ser vulnerável a outras infecções fúngicas e bacterianas devido às alterações imunológicas que ocorrem durante a gravidez que cooperam para essa vulnerabilidade. Nesta fase, há uma diminuição na quantidade e na quimiotaxia dos leucócitos polimorfonucleares, além da diminuição da produção de citocinas, que são importantes mecanismos de defesa do organismo contra infecções causadas por agentes patológicos (COSTA et al., 2010; SOUZA, BATISTA FILHO e FERREIRA, 2002).

A mulher, durante sua vida, pode adquirir várias IST assintomáticas, ficando sem diagnóstico e tratamento. Durante a gestação a mulher pode estar infectada ou adquirir no decorrer desse período, podendo ter consequências bastante desagradáveis (ASHSHI et al., 2015; OVALLE et al., 2011).

Dentre essas IST de grande impacto no período da gestação está a infecção por *Treponema pallidum*, causador da sífilis. Esta condição clínica pode causar a morte intrauterina e a transmissão vertical, levando a neonatos enfermos e óbitos

neonatais. No mundo estima-se que 1,8 milhão de gestantes estejam infectadas pela sífilis (DOMINGUES et al., 2014). No Brasil, em 2013 foram notificados 21.382 casos de sífilis em gestante, sendo 10.052 (47,0%) na Região Sudeste, 4.433 (20,7%) na Região Nordeste, 2.795 (13,1%) na Região Sul, 2.141 (10,0%) na Região Norte e 1.961 (9,2%) na Região Centro-Oeste, e 13.705 casos de sífilis congênita em menores de um ano de idade, a maioria dos quais na Região Sudeste (43,1%), seguidos pelo Nordeste (32,2%), Sul (11,4%), Norte (7,8%) e Centro-Oeste (5,5%), dados do boletim epidemiológico de Sífilis (BRASIL, 2015a).

As gestantes acometidas com a *Neisseria gonorrhoeae* apresentam um risco maior de prematuridade, ruptura prematura de membrana, perdas fetais e retardo do crescimento uterino, além de consequências para o bebê, tais como conjuntivite, pneumonite intersticial atípica, bronquite e otite média no recém-nascido (COSTA et al., 2010). Na maioria das vezes essa infecção é assintomática, o que faz com que a infecção se prolifere sem ser diagnosticada causando as consequências no sistema reprodutor feminino e danos no período gestacional citados. Casos de vaginites induzindo o parto prematuro têm sido relatados na gravidez, o que leva a mortalidade perinatal quando não tratada precocemente (XU, DU e XIE, 2015).

A infecção neonatal pelo Citomegalovírus Humano pode levar a um grave comprometimento fetal com quadros de icterícia, hepatoesplenomegalia, anomalias no sistema nervoso central e crescimento intrauterino restrito (OLIVEIRA et al., 2011). Os achados cerebrais podem ser: microcefalia, ventriculomegalia, mega cisterna, hipoplasia cerebelosa, malformação de tipo Dandy-Walker ou schizencefalia; vasculite dos núcleos talâmicos e dos núcleos cinzentos centrais (descritos sob o termo de imagens em candelabro); hiperecogeneidades punctiformes do parênquima cerebral ou das regiões periventriculares; anomalias do corpo caloso e anomalias da migração neuronal e da giração. Além dessas complicações, esse patógeno contribui para a malformação congênita e surdez, por sua transmissão vertical ser hematogênica transplacentar (TAVARES et al., 2011).

A transmissão vertical da infecção pelo *Herpesvírus simples 2* ocorre intraútero, periparto ou pós-parto. A infecção no neonato pode acometer a pele, olho e boca. Além desses locais, também pode acometer o sistema nervoso central e acontecer infecção disseminada, envolvendo múltiplos órgãos. Geralmente ocorrem com menos frequência as manifestações associadas a infecção fetal intraútero como

micro-oftalmia, displasia de retina, coriorretinite, microcefalia, hidranencefalia e displasia cútis (MORONI, TRISTÃO e URBANETZ, 2011).

A infecção por *Trichomonas vaginalis* durante a gravidez aumenta a resposta inflamatória da gestante e pode reduzir a rigidez da membrana corioamniótica, levando a ruptura prematura de membrana e conseqüentemente ao parto prematuro. A transmissão vertical se dá pelo canal do parto e pela ingestão das secreções maternas. Os sintomas no recém-nascido são a irritabilidade, febre, corrimento branco nublado, infecção do trato urinário e problemas respiratórios e morbidade perinatal (COLEMAN, GAYDOS e WITTER, 2013; SILVER et al., 2014).

Certamente a transmissão vertical do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) é a de maior impacto biológico e social dentre as IST. Ela pode ocorrer em qualquer fase da gestação, bem como no momento do parto e no pós-parto através do aleitamento materno. Nas mulheres infectadas, dado o caráter imunossupressor da doença, eleva-se a morbidade perinatal e o aparecimento de infecções oportunistas. Entre 20 e 25% dos casos de infecção acontecem no período intraútero, seja por via transplacentária do vírus para a circulação fetal, por células mononucleares maternas infectadas pelo HIV quando alcançam diretamente a circulação fetal, e por via “célula a célula” de camadas placentárias sucessivas a partir do contato no espaço intravilositário. A transmissão no trabalho de parto ocorre em cerca de 60 a 75%, devido as rupturas na barreira de proteção da pele da criança com a exposição mucocutânea a sangue e secreções maternas contaminadas (ABEYÁ et al., 2004; KAKEHASI et al., 2014). Na Rede de Atenção Básica à Saúde estão inclusos os exames sorológicos para detecção do HIV (Sorologia anti-HIV ou teste rápido), sendo esta uma das principais intervenções realizadas pelo Sistema Único de Saúde (SUS) brasileiro a fim de garantir o bem-estar da mãe e do filho, pois quando detectada na gestação inibe em até 99% a transmissão materno-fetal do vírus (FEREZIN, BERTOLINI e DEMARCHI, 2013).

O aparecimento das lesões genitais causadas pelo Papilomavírus Humano (HPV) nas gestantes se torna frequente devido ao maior comprometimento do sistema imunológico neste período da vida da mulher. Uma maior vascularização na região genital e alterações hormonais também estão relacionadas ao aumento e até ao “ressurgimento” da infecção neste período. Em alguns casos, o crescimento de lesões

expansivas verrucosas – tais como o Condiloma Acuminado – pode atingir grandes proporções e levar a obstrução do canal do parto (COSTA et al., 2010).

A infecção causada pela bactéria *Chlamydia trachomatis* (CT) em gestantes acarreta danos como aborto, gravidez ectópica, ruptura prematura de membranas e parto prematuro. Isso acontece porque quando a bactéria termina seu ciclo de vida, a mesma destrói as células epiteliais dos tecidos que revestem o útero e causam obstrução das tubas uterina do hospedeiro (VALLADÃO et al., 2011). No recém-nascido essa transmissão ocorre na hora do parto, causando sequelas no neonato como conjuntivite, manifestações respiratórias, baixo peso ao nascer e óbito fetal (BRANDÃO, LACERDA e XIMENES, 2010; VALLADÃO et al., 2011).

1.3 *Chlamydia trachomatis* (CT)

1.3.1 Biologia bacteriana e ciclo de desenvolvimento

A *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria sexualmente transmissível, patogênica em humanos, que pertence ao filo *Chlamydiae*, classe *Chlamydiia*, ordem *Chlamydiales*, família *Chlamydiaceae*, gênero *Chlamydia*, espécie *trachomatis* (EVERETT, BUSH e ANDERSEN, 1999; SACHSE et al., 2015).

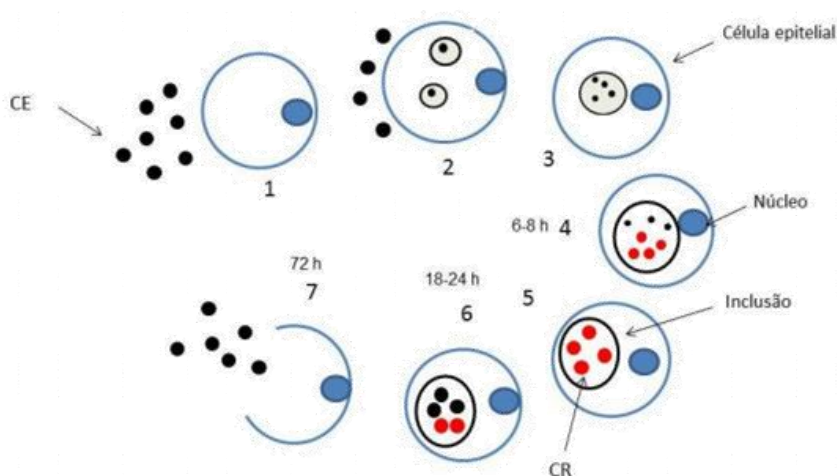
É uma bactéria gram-negativa, intracelular obrigatória, que infecta principalmente as células epiteliais da conjuntiva, uretra, endocérvice e endométrio (DAUTRY-VARSAT et al., 2005; DERUAZ e LUSTER, 2015). A membrana da parede celular dessa bactéria lhe confere rigidez por causa das ligações dissulfeto, fazendo com que ela sobreviva no meio extracelular e permaneça no meio intracelular dentro de vesículas citoplasmáticas sem sofrer degradação das lisosimas (MOULDER, 1991). A membrana externa consiste em três proteínas: duas ricas em cisteína (OmcA e OmcB) e uma proteína principal de membrana chamada MOMP (do inglês, *major outer membrane protein*) (SUN et al., 2007).

A MOMP possui variações antigênicas que levaram a identificação de 19 sorotipos associados a diferentes doenças e são nomeados como A, B, Ba, C, D, Da, E, F, G, Ga, I, Ia, J, K, L1, L2, L2a, L2b e L3 (CEVENINI, DONATI e SAMBRI, 2002; BYRNE, 2011). Os sorotipos B, D, E, F e L2 da CT já possuem o genoma completamente descrito, que consiste de 1.042.519 pb no DNA cromossomal e 7.493 pb no DNA plasmidial (STEPHENS et al., 1998; ABDELSAMED, PETERS e BYRNE, 2013). Os plasmídeos estão presentes de 7 a 10 cópias por bactéria, e se replicam

independentemente do DNA cromossomal (PAWLIKOWSKA-WARYCH, 2015; RUSSELL et al., 2011).

Esses sorotipos apresentam um ciclo de vida dimórfico, sendo uma das formas chamada de corpo elementar (CE), que é a forma infecciosa, e a outra é o corpo reticular (CR), na forma não infecciosa, metabolicamente ativa (NANS, SAIBIL e HAYWARD, 2014). Na infecção, os CEs se ligam por meio de interação eletrostática com os glicosaminoglicanos presentes na superfície das células epiteliais, e internalizam-se por endocitose, formando corpos de inclusão nas células hospedeiras. Uma vez dentro das células, os CEs após 8 horas da infecção se transformam em CRs que se multiplicam por divisão binária, os quais usam energia das células hospedeiras para produção dos compostos necessários ao seu metabolismo. Depois de vários ciclos de multiplicação, os CRs se diferenciam em CEs, sendo liberado após 72 horas de infecção por lise celular, e assim infectam novas células em seu novo ciclo de vida, como mostra a Figura 2 (DAUTRY-VARSAT et al., 2005; JAYARAM et al., 2014; MURRAY et al., 2006).

Figura 2. Ciclo da infecção por CT



Fonte: Azevedo, 2017

1. Ligação dos CEs aos receptores de membrana; 2. Endocitose dos CEs; 3. Os CEs dentro da inclusão citoplasmática; 4. Transformação dos CEs em CRs; 5. CRs ativos nas inclusões; 6. Transformação dos CRs em CEs; 7. Lise da célula.

1.3.2 Manifestações clínicas

A transmissão da infecção ocorre principalmente por contato direto da mucosa entre dois indivíduos durante a relação sexual por meio de sexo oral, vaginal e anal ou durante o nascimento por um canal vaginal infectado. Nas mulheres, cerca de 70%

das infecções são assintomáticas (LANJOUW et al., 2015). A ausência de sintomas faz com que a infecção fique sem tratamento e a mesma se propaga, levando ao aparecimento de doenças em diferentes sítios anatômicos nos quais os sorotipos (A-C) estão relacionados com tracoma infantil, (D-K) doenças no trato urogenital e (L1-L3) linfogranuloma venéreo (ABDELSAMED, PETERS e BYRNE, 2013; POTROZ e CHO, 2015).

Quando a infecção torna-se sintomática, os sintomas aparecem de 1 a 3 semanas após a infecção na mulher. Esses sintomas são: sangramento após a relação sexual, corrimento vaginal anormal, poliúria, disúria e cólicas abdominais. Quando assintomática, as principais doenças causadas devido à infecção ao longo prazo são: tracoma infantil, doença inflamatória pélvica (DIP) (Uretrite, cervicite, endometrite e salpingite), e linfogranuloma venéreo (CONNELL e FERONE, 2016).

O tracoma infantil é uma ceratoconjuntivite mucopurulenta - a principal causa de cegueira – devido à inflamação ocular que atinge a conjuntiva e a córnea. Durante a infecção há uma resposta folicular e inflamatória na região palpebral onde a arquitetura normal do epitélio conjuntival é interrompida, e as células caliciformes são destruídas com a substituição do estroma subepitelial vascular normal por bandas compactas de colágeno (MOHAMMADPOUR et al., 2016).

A DIP, por sua vez, é caracterizada pela inflamação que se inicia no trato genital inferior, como a cervicite, que é a inflamação da ectocérvice e que pode ascender a longo prazo causando a inflamação crônica dos tecidos que revestem o útero, causando a endometrite e a parametrite. Após essa infecção cervical ocorre uma resposta inflamatória aguda, caracterizada pela secreção de citocinas pró-inflamatórias e recrutamento de células imunes (REY-LADINO, ROSS e CRIPPS, 2014). A infecção pode ascender para o trato genital superior, causando inflamação das tubas uterinas; nesta localização, a infecção por CT ativa o complexo proteico NF κ B e eleva o nível de receptores *prokineticin* nas tubas uterinas, induzindo contração do músculo liso e alterações nas células tubárias, levando a aderências e colapso das mesmas, causando a salpingite (HAFNER, 2015; LANJOUW et al., 2015; SHAW et al., 2011).

As células epiteliais ciliadas e os macrófagos são os alvos primários da infecção por CT nas tubas uterinas, onde a infecção induz a perda de microvilos e dos cílios das células epiteliais. Em resposta a essa infecção, ocorre a síntese de receptores epiteliais IL-1 β e IL-1, fator de necrose tumoral (TNF) e os linfócitos T CD4

e CD8 que liberam citocinas e quimiocinas como IL-6 e IL-8 com o fim de erradicar a infecção, mas a produção de citocinas imunossupressoras (IL-10) pelos antígenos da CT inibe a resposta celular, estimulando a repetição de processos inflamatórios que em excesso causam danos aos tecidos das tubas uterinas e como consequência a infertilidade da mulher, ocasionando problemas emocionais e econômicos para um casal (HAFNER, 2015).

1.3.3 Epidemiologia

Estimativas globais em 2012 mostraram que há ocorrência de 131 milhões de novos casos da infecção por CT por ano entre pessoas com idade entre 15-49 anos (NEWMAN et al., 2015; QUINN e GAYDOS, 2015). O CDC em 2014, relatou 1.441.789 casos de infecção por CT nos Estados Unidos entre jovens adultos. Entre esses casos, 1.006.441 são mulheres, representando uma taxa de 627,2/100.000 mulheres e 278,4/100.000 em homens. No ano de 2013, o número de casos por CT foi de 1.401.906, o que mostra um acréscimo de 2,8% comparado com o número de casos em 2014. Entre os casos em 2013, 993.348 eram mulheres, representando uma taxa de 623,1/100.000 mulheres e 262,6/100.000 em homens.

Alguns estudos epidemiológicos internacionais atuais tem reportado a prevalência da infecção por CT em diferentes populações que varia de 5,8 a 32,1%, como mostra a Figura 3.

No Brasil, as estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) da infecção por CT na população sexualmente ativa é de 1.967.200 de novos casos a cada ano. No entanto, essas estimativas podem estar subestimadas pelo fato de não ser de notificação compulsória (<http://www.aids.gov.br/pagina/dst-no-brasil>). Os estudos epidemiológicos brasileiros em diferentes populações reportam a prevalência da infecção que varia de 1,1 a 31%, como mostra a Figura 4.

Figura 3. Estudos internacionais da prevalência da infecção por CT em população feminina.

Autores/ano	N	População	Método de Diagnóstico	Local	Prevalência
Rous et al., (2011a)	190	Mulheres que tiveram parto prematuro	PCR em tempo real	Holanda	14,9%
Silva et al., (2013)	87	Mulheres assintomáticas	PCR em tempo real	Araucanía/ Chile	18,3%
Conejero et al., (2013)	344	Mulheres universitárias	PCR	Chile	7,9%
Samarawickrema et al., (2014)	372	Mulheres em clínica de DST	PCR	Colombo/ Ásia	8,2%
Ashshi et al., (2015)	84	Mulheres que tiveram gravidez ectópica	PCR Multiplex	Arábia Saudita	7,2%
Panato et al., (2015)	566	Mulheres com citologia normal	<i>Nested</i> PCR	Itália	5,8%
Bazan et al., (2015)	331	Mulheres atendidas em clínica de DST	PCR	Colombus/ EUA	13%
Calvache et al., (2016)	219	Mulheres infectadas com HPV	PCR	Colômbia	28%
Mafokwane e Samie, (2016)	171	Mulheres em clínica de DST	PCR em tempo real	Vhembe/ Sul da África	39,2%
Ginindza et al., (2017)	655	Mulheres em Unidade de Atenção Primária	PCR em tempo real	Swaziland/ África Austral	7,0%

Figura 4. Estudos brasileiros da prevalência da infecção por CT em populações femininas.

Região	Autores/ano	N	População	Método de Diagnóstico	Local	Prevalência
Norte	Santos et al., (2003)	121	Mulheres em clínica de DST	PCR	Manaus/AM	20,7%
	Silva et al., (2012)	329	Mulheres em clínica de DST	Captura híbrida	Manaus/AM	4,3%
	Neves et al., (2016)	1169	Mulheres em clínica de DST	Captura híbrida	Manaus/AM	13,1%
	Rocha et al., (2014)	361	Mulheres em Unidade de Atenção Primária	PCR	Coari/AM	6,4%

Figura 4. Estudos brasileiros da prevalência da infecção por CT em populações femininas (continuação).

	Brasiliense et al., (2016)	154	Clínica de DST, planejamento familiar e pré-natal	PCR	Belém/PA	11%
Nordeste	Oliveira et al., (2007)	579	Mulheres da zona rural	LCR	Pacoti/CE	4,5%
	Machado et al., (2012)	100	Adolescentes (10 a 19 anos)	PCR	Salvador/BA	31%
	Tavares et al., (2014)	142	Clínica de atenção à saúde da mulher	PCR em tempo real	Recife/PE	24,6%
Centro Oeste	Guimarães et al., (2009)	427	Adolescentes em programa de saúde da família	PCR	Goiânia/Go	14,5%
	Lima et al., (2014)	696	Clínica de planejamento familiar	PCR	Ceres, Catalão e Inhumas/ Go	9,6%
Sudeste	Fernandes et al., (2014)	340	Clínica de infertilidade	PCR	Goiânia/Go	10,9%
	Paula et al., (2007)	250	Clínica de saúde pública	PCR	Belo Horizonte/MG	9,2%
	Rodrigues et al., (2011)	224	Clínica de saúde pública	PCR	Belo Horizonte/MG	6,3%
	Pantoja et al., (2012)	176	Clínica de infertilidade	Captura híbrida	Campinas/SP	1,1%
	Pinto et al., (2016)	836	Clínica de DST	PCR	São Paulo/SP	1,8%
Sul	Piazzeta et al., (2011)	335	Mulheres jovens (16 a 23 anos)	PCR	Curitiba/PR	10,7%
	Abreu et al., (2012)	622	Mulheres citologia cervical anormal	PCR	Maringá/PR	12,7%
	Garcês et al., (2013)	200	Clínica de ginecologia e obstetrícia	PCR	Rio Grande/RS	11%
	Wohlmeister et al., (2016)	169	Mulheres em unidade de saúde privada	PCR Multiplex	Carazinho/RS	9,5%

N – Número de participantes do estudo; PCR – Reação em Cadeia da Polimerase; LCR – Reação em cadeia da ligase; AM – Amazonas; BA – Bahia; CE – Ceará; MG – Minas Gerais; PA – Pará; PR – Paraná; RS – Rio Grande do Sul; SP – São Paulo.

1.3.4 Diagnóstico e Tratamento

A CT pode ser diagnosticada por várias técnicas, tais como cultura celular, imunofluorescência direta, ensaio Imunoenzimático ligado a enzima (ELISA), captura híbrida, reação em cadeia da polimerase (PCR), PCR em tempo real e *nested* PCR. Estas variam em sensibilidade e especificidade, na dependência das características próprias da técnica e do tipo de amostra a ser processada (SULAIMAN et al., 2014). Na prática clínica, a captura híbrida tem sido a mais utilizada, enquanto nos estudos epidemiológicos, a PCR tem tido a preferência entre pesquisadores.

Na Cultura Celular, células são distribuídas em microplacas em monocamadas e em seguida o tecido cultivado é corado com anticorpo monoclonal fluorescente. Se houver CE e CR na amostra, estes infectam as células e dentro de 72 horas aparecem inclusões citoplasmáticas com um grande número de CE e CR, podendo ser visualizados por fluorescência. O método de cultura de células foi o primeiro método para detecção de CT, considerado “padrão ouro”, era a técnica de maior especificidade, chegando a 100% por conta da visualização direta das inclusões citoplasmática formada por CT, porém uma baixa sensibilidade de 70% comparada aos testes moleculares, não sendo recomendado para rotina, no entanto segundo o *Recommendations for the Laboratory - Based Detection of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae*, Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR), do CDC a cultura para CT é somente recomendado em casos de abuso sexual e infecção extragenital (MEYER, 2016; CDC-MMWR, 2014).

A Imunofluorescência Direta (IFD) permite detectar a infecção por CT em amostras endocervicais, uretrais, retais e conjuntivais. Esse método consiste na utilização de anticorpos monoclonais fluorescente para identificação de corpos elementares que ficam no meio extracelular e não corpos reticulares, por serem intracelulares. Em uma lâmina contendo a amostra fixada, são utilizados anticorpos monoclonais anti-MOMP ou anti-LPS marcados com fluoresceína que são submetidos a um esfregaço. Se houver a presença de corpos elementares (CE) na amostra, os anticorpos ligam-se às moléculas de MOMP ou LPS da membrana dos CE e transmitem fluorescência que pode ser observada ao microscópio de fluorescência. Comparado com a cultura a IFD apresenta uma sensibilidade de 85% e uma especificidade de 98% (MAHONY et al., 2003; MEYER, 2016).

O ELISA consiste na pesquisa de antígenos, utilizando-se anticorpos monoclonais ou policlonais marcados com uma enzima que estão fixados em fase sólida para os LPS ou MOMP da CT. Os anticorpos anti-LPS se ligam ao LPS dos CE quando estes estão presentes na amostra, e a enzima converte o substrato num composto colorido, sendo essa alteração de cor registrada num espectrofotômetro. Esse teste não distingue uma infecção prévia de uma recente, e ainda podem reagir com outras espécies de *Chlamydia* e com outras bactérias de coloração de Gram negativa, apresentando portanto uma sensibilidade que varia de 62 a 72% e especificidade de 99% comparada com cultura de células (FREDLUND et al., 2004; VAN DER POL, 2008).

A Captura Híbrida consiste na utilização de uma sonda de oligonucleotídeos específica marcada com uma enzima. A sonda é aderida a uma microplaca, onde a ampliação do sinal da enzima é quantificada pela leitura de uma densidade ótica (SEADI et al., 2002). A sensibilidade e a especificidade desse teste para detecção de CT variam de 95 a 99% em amostras endocervicais comparada a cultura de células, mas em comparação aos testes de amplificação a sensibilidade varia de 66 a 72% e a especificidade de 91 a 99% (LEVI et al., 2012; NEVES et al., (2016); VAN DER POL et al., 2002).

A PCR permite que a partir de mínimas quantidades de DNA se obtenham várias moléculas dele através do processo de amplificação. As etapas do processo consistem de desnaturação do DNA-molde, anelamento dos *primers* e extensão de novas fitas de DNA por uma enzima DNA polimerase termo resistente. Para que a reação aconteça é preciso um aparelho termociclador que repita ciclos de temperaturas. PCR em tempo real e *nested* PCR são variações da PCR. A PCR em tempo real é uma técnica qualitativa e quantitativa que permite a detecção do número de moléculas amplificadas em cada ciclo. Na *nested* PCR, primeiramente amplifica-se um segmento extenso e o produto dessa reação é usado como alvo na segunda reação de amplificação específica. Essas técnicas vem sendo bastante utilizadas pela sua elevada sensibilidade e especificidade. Para a detecção da CT os *primers* utilizados podem ter como alvo o plasmídeo bacteriano, DNA cromossomal especificamente no gene *omp1* que codifica a MOMP e o gene 16S ribossomal (FANG et al., 2008; LANJOUW et al., 2015). O CDC recomenda os testes de amplificação para detecção da infecção do trato genital causada por CT por conta da sua elevada sensibilidade maior que 90% e uma especificidade acima de 99% e detectam 50%

mais das infecção por CT do que detectadas por cultura ou outro teste (CDC-MMWR, 2014).

Indivíduos diagnosticados com CT podem ser tratados com antibióticos, tais como, azitromicina, doxicilina, eritromicina, ofloxacina, levofloxacino, rifampicina, sulfametoxazol e tetraciclina. Esses por sua vez, interferem na síntese de DNA e proteínas desse patógeno. Indivíduos tratados não transmite a infecção e assim evitam as complicações causadas pela mesma (GEISLER, 2004; HAMMERSCHLAG e KOHLHOFF, 2012).

1.3.5 *Chlamydia trachomatis* na gravidez

O caráter silencioso da infecção por CT faz com que o trato genital inferior e superior fique comprometido, com sequelas graves a longo prazo, comprometendo a saúde reprodutiva da mulher (REY-LADINO, ROSS e CRIPPS, 2014). Nas gestantes essa infecção pode ter consequências clínicas indesejáveis, como corioamnionite, parto prematuro, aborto espontâneo e gravidez ectópica (LJUBIN-STERNAK e MEŠTROVIĆ, 2014; VERWEIJ et al., 2014).

A Corioamnionite, inflamação da membrana placentária, pode levar a ruptura prematura de membrana antes do início do trabalho de parto e conseqüentemente parto prematuro, que ocorre antes das 37 semanas de gestação ou aborto espontâneo (NAKUBULWA et al., 2015; ROURS et al., 2011a). Um dos mecanismos que pode causar abortos induzidos pela infecção da CT foi descrito por Azenabor et al. (2007); os autores realizaram um estudo que mostrou a diminuição da síntese de colesterol pelas células do trofoblasto infectadas pela CT. O colesterol é molécula precursora na biossíntese dos hormônios estrógeno, progesterona e gonadotrofina coriônica humana (HCG), importantes pra fixação do zigoto e manutenção da gestação.

A infecção por CT nas trompas de Falópio (Salpingite), quando não tratada, causa alterações nas células epiteliais devido a resposta inflamatória no local, fazendo com que o embrião fique retido nas tubas uterinas causando a gravidez ectópica (SHAW et al., 2011). Outra consequência da salpingite é a infertilidade (MALHOTRA et al., 2013).

Há cerca de 70% de chance de ocorrer a transmissão vertical da CT. Essa transmissão pode ocorrer ainda intraútero ou no canal vaginal durante o parto. Alguns estudos mostraram que bebês nascidos por cesariana estavam infectados por CT e

que mães com a placenta inflamada e que tiveram parto prematuro também estavam infectadas (ROURS et al., 2011b; TREJO et al., 2014).

Os recém-nascidos com CT podem nascer com baixo peso, desenvolver conjuntivite, problemas respiratórios nos primeiros seis meses de vida, como a pneumonia, e no decorrer dos anos podem sofrer com doença pulmonar obstrutiva crônica, que é a obstrução crônica do fluxo aéreo (BORBOREMA-ALFAIA et al., 2013; ROURS et al., 2009; WANGNAPI et al., 2014). Souza et al. (2012), realizaram um estudo em uma população de crianças com problemas respiratórios, e encontraram uma prevalência de 9,9% da infecção por CT nas mesmas. Trejo et al. (2014), fizeram um estudo em 14 óbitos fetais com amostras desparafinizadas de cérebro, fígado, rim, pulmão e brônquios e encontraram 4 casos infectados por CT nesses órgãos.

Quando diagnosticada a infecção, o tratamento da gestante com CT é importante na prevenção de complicações durante a gestação, transmissão para neonatos e para diminuição da possibilidade de endometrite e DIP pós-parto (SALCEDO et al., 2008). A amoxicilina, a azitromicina e a eritromicina têm sido os antibióticos de escolha para gestantes com CT, e dentre as três possibilidades, a azitromicina tem menos efeitos secundários quando comparado com amoxicilina e eritromicina em gestantes (HAMMERSCHLAG e KOHLHOFF, 2012; MALHOTRA et al., 2013; MISHORI, MCCLASKEY e WINKLERPRINS, 2012).

Alguns estudos epidemiológicos (Figura 5 e 6) mostram a prevalência da infecção por CT nas gestantes. Nos estudos internacionais a prevalência varia de 5,9% a 23% e nos estudos brasileiros essa prevalência varia de 6,9% a 18,0%.

Figura 5. Estudos internacionais da prevalência da infecção por CT em gestantes

Autores/ano	N	Tipo de Amostra	Método de Diagnóstico	Local	Prevalência
Ovalle et al., (2012)	255	Cervical	<i>Nested</i> PCR	Chile	5,9%
Wangnapi et al., (2014)	400	Swab vaginal	PCR em tempo real	Papua-Nova Guiné	11,1%
Adachi et al., (2015)	1.373	Urina	PCR em tempo real	Argentina/Estados Unidos/Sul da África e Brasil	18,1%
Piñeiro et al., (2016)	11.687	Urina	PCR	Espanha	6,4%
Vallély et al., (2016)	765	Swab vaginal	PCR em tempo real	Papua-Nova Guiné	23%

Figura 5. Estudos internacionais da prevalência da infecção por CT em gestantes (continuação).

Moodley et al., (2017)	615	Swab vaginal	PCR	Umlazi/Sul da África	17,8%
Bristow et al., (2017)	322	Swab vaginal	PCR em tempo real	Porto Príncipe	14%
Mascha et al., (2017)	202	Urina	PCR em tempo real	Quênia	14,9%

N – Número de participantes do estudo; PCR – Reação em Cadeia da Polimerase

Figura 6. Estudos brasileiros de prevalência de infecção por CT em gestantes.

Autores/ano	N	Tipo de amostra	Método de Diagnóstico	Local	Prevalência
Benzaken et al., (2008)	598	Endocervical	Captura Híbrida	Manaus/AM	11,9%
BRASIL (2008)	595	Cérvico vaginal	Captura Híbrida	Manaus/AM	11,6%
Pinto et al., (2011)	269	Urina	PCR Amplicor CT/NG	Belém/PA Macapá/AP Manaus/AM	14,1%
Pinto et al., (2011)	696	Urina	PCR Amplicor CT/NG	Fortaleza/CE Aracaju/SE Natal/RN	8,6%
Pinto et al., (2011)	159	Urina	PCR Amplicor CT/NG	Brasília/DF Campo Grande/MS	11,3%
Pinto et al., (2011)	714	Urina	PCR Amplicor CT/NG	Belo Horizonte/MG Campinas/SP Rio de Janeiro/RJ	9,8%
Pinto et al., (2011)	233	Urina	PCR Amplicor CT/NG	Curitiba/PR Porto Alegre/RS Joinville/SC	6,9%
Borborema-Alfaia et al., (2013)	100	Endocervical	PCR	Manaus/AM	11%
Schmidt et al., (2015)	323	Urina	PCR	Vitória/ES	13,9%
Santos et al., (2016)	122	Urina	PCR	Belém/PA	18,0%
Silveira et al., (2017)	562	Endocervical	PCR	Pelotas/Sul	12,3%

N – Número de participantes do estudo; PCR – Reação em Cadeia da Polimerase; AM – Amazonas; AP – Amapá; CE – Ceará; DF – Distrito Federal; ES – Espírito Santo; MG – Minas Gerais; PA – Pará; PR – Paraná; RJ – Rio de Janeiro; RS – Rio Grande do Sul; SC – Santa Catarina; SP – São Paulo

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Verificar a prevalência da infecção pela bactéria sexualmente transmissível *Chlamydia trachomatis* (CT) em uma população de gestantes atendidas na Rede de Atenção Básica, no município de Coari, Amazonas

2.2 ESPECÍFICOS

- Determinar a frequência de infecção pela CT em uma amostra de gestantes atendidas em Unidades Básicas de Saúde no município de Coari
- Analisar característica sócio-econômico, clínica e comportamental dessas mulheres
- Verificar possível associação entre as variáveis analisadas e o risco de infecção por CT
- Avaliar a concordância da técnica molecular reação em cadeia da polimerase (PCR) na detecção de CT em 2 tipos de amostra: cervico-vaginal (endocérvice, ectocérvice e parede vaginal) e urinária

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este estudo faz parte do projeto “Epidemiologia das infecções sexualmente transmissíveis em gestantes”, aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Amazonas (UFAM) (CAAE 50907415.3.0000.5020) no ano de 2015 (ANEXO 1).

3.2 TIPO DE ESTUDO, POPULAÇÃO E AMOSTRA

Trata-se de um estudo descritivo e transversal realizado no período de julho de 2016 a março de 2017 com gestantes que estavam em acompanhamento pré-natal nas 12 Unidades Básicas de Saúde (UBS) do Município de Coari/AM, localizadas nos Bairros: Centro, Chagas Aguiar, Tauá-Mirim, Duque de Caxias, Espírito Santo, Santa Efigênia, Itamarati, Santa Helena, Pera, Urucu, União e Ciganópolis. A distribuição geográfica das UBS de Coari/AM detalhadas na Figura 7.

Para o cálculo da amostra, tomou-se como base 1.729 partos (SINASC, 2013) e uma prevalência esperada de IST de 1,4%, (segundo dados do DATASUS de infecção por IST em gestantes de Coari no ano de 2013). Aceitando-se uma margem de erro de 3%, estimou-se um número mínimo de 58 gestantes para o estudo.

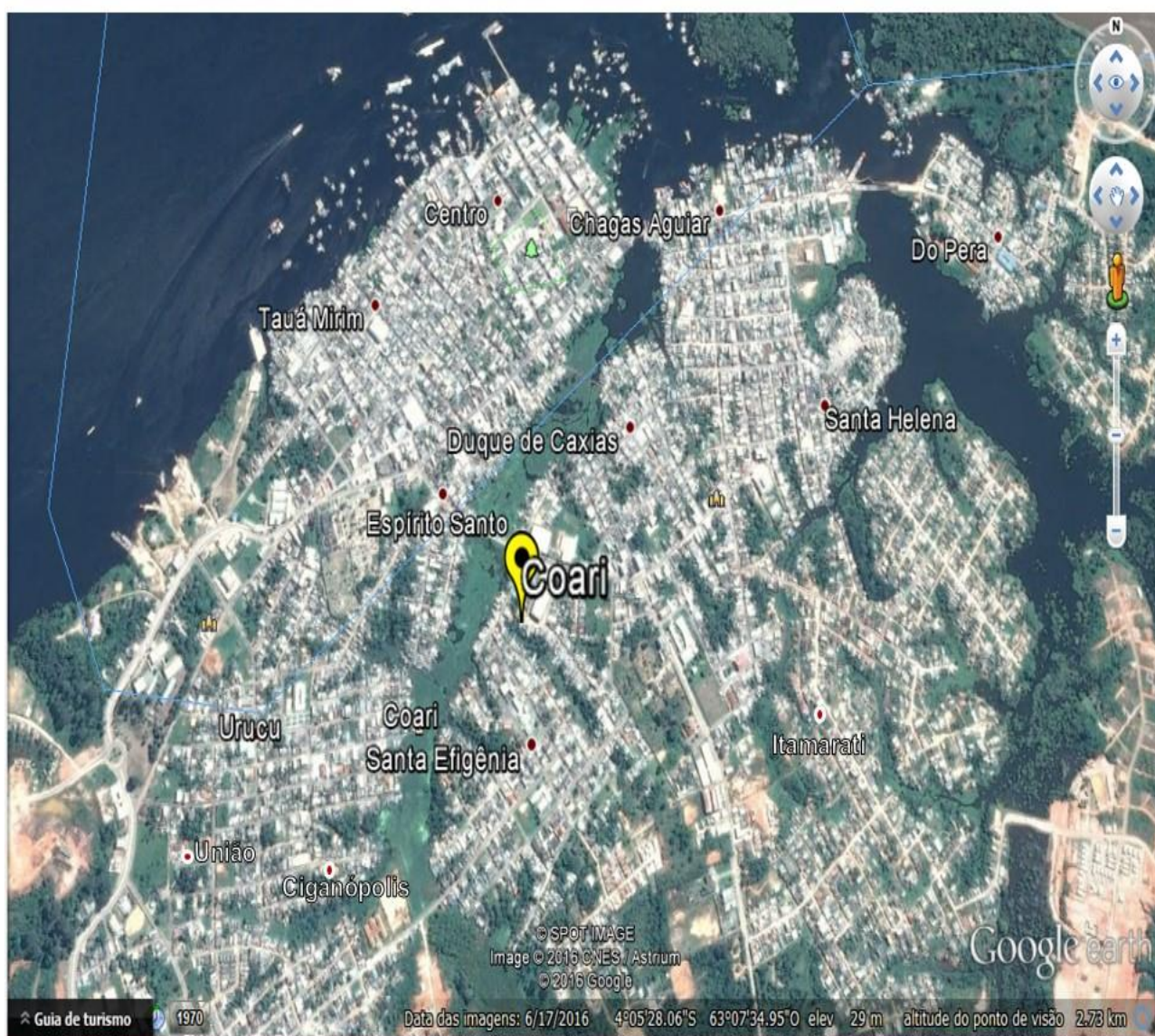
De cada UBS foi solicitada a lista com todas as gestantes inscritas no pré-natal. A seguir foi realizado o sorteio para determinar a ordem da abordagem das mesmas em seus domicílios para verificar o enquadramento ou não nos critérios de inclusão (Figura 8).

Os critérios de inclusão foram: 1) gestantes em consulta de pré-natal na UBS; 2) sem delimitação de idade; e 3) com idade gestacional entre 14 a 27 semanas. As gestantes durante esse período estão na fase mais estável da gravidez, por isso foram escolhidas as gestantes do 2º trimestre. As gestantes do 1º trimestre que compreende de 1 a 13 semanas ainda correm o risco de ter aborto e as do 3º trimestre (28 a 40 semanas) podem a partir desse momento entrar em trabalho de parto prematuro e estas podem associar tais intercorrências com a coleta, e para não ter esse risco de associação, essas mulheres do 1º e 3º trimestre não foram incluídas no estudo. As participantes menores de 18 anos participaram da pesquisa com consentimento do responsável (através de assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido –

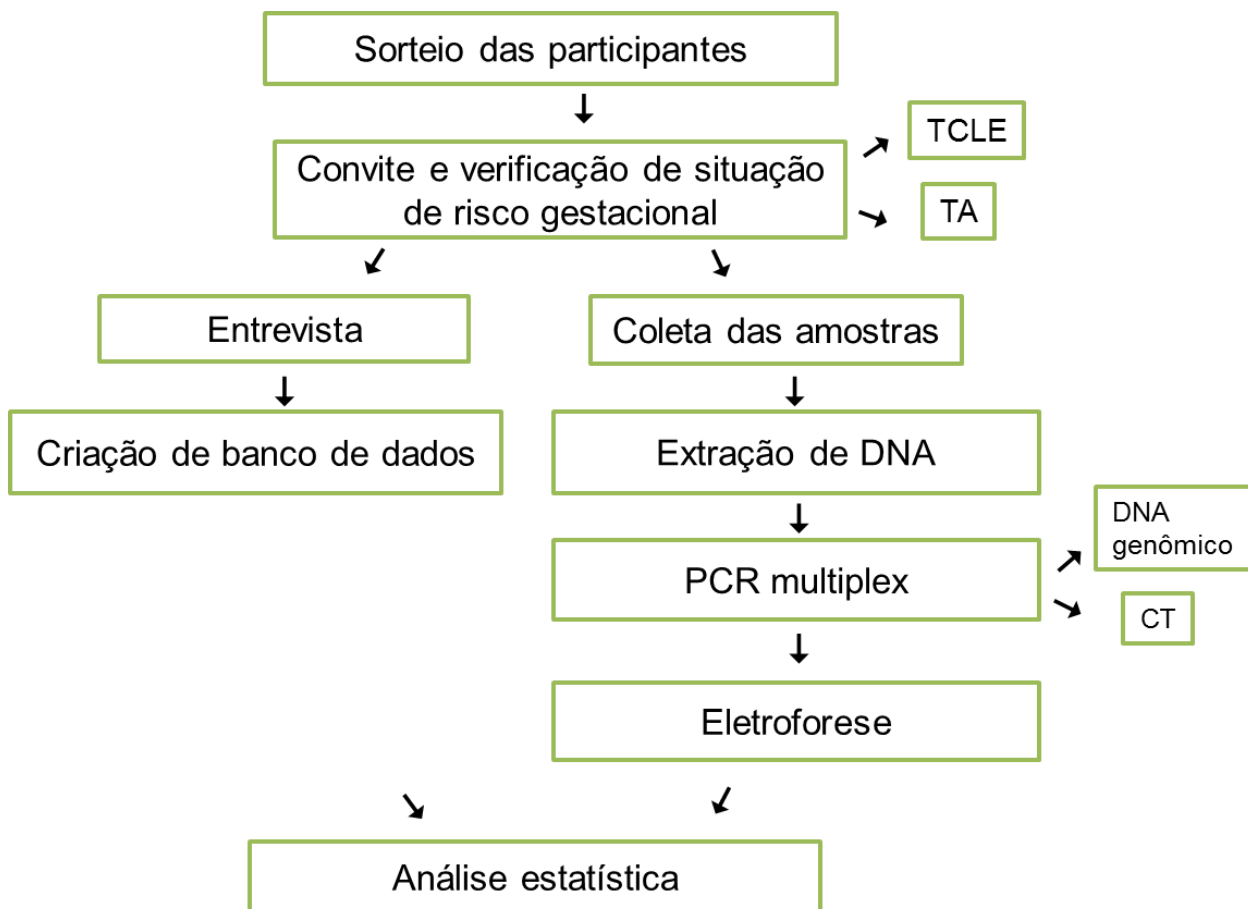
TCLE) e o assentimento das mesmas (através da assinatura do Termo de Assentimento por parte da participante) (ANEXOS 2 e 3).

Crítérios de exclusão: gestantes com sangramento vaginal na presente gravidez, histórico de queda, placenta prévia, perda de líquido amniótico, hematemese, hematoma retrocoriônico, dilatação do colo do útero, hipertensão pulmonar, fator Rh negativo, diagnóstico de doença infecciosa atual (ex: dengue) e das quais não forem possível a coleta de células endocervicais.

Figura 7. Distribuição geográfica das UBS do município de Coari/AM.



Fonte: Google Earth Pro, 2016. Versão 7.1.2.2041- (4°05'28.06\"S, 63°07'34.95\"W)

Figura 8. Fluxograma metodológico

3.3 ENTREVISTA E COLETA

As gestantes que atenderam os critérios de inclusão foram esclarecidas e convidadas a participar do projeto. Todas que concordaram em participar assinaram o TCLE. No caso das menores de idade, seus pais ou responsáveis assinaram o TCLE e as adolescentes assinaram o Termo de assentimento. Após assinatura dos termos elas foram entrevistadas, respondendo um questionário padrão contendo perguntas estruturadas e não-estruturadas sobre as principais informações clínicas, sócio-econômico e comportamentais (ANEXO 4). Em seguida, as gestantes foram orientadas sobre o dia agendado na UBS para realizarem a coleta cervical, e lhes foi entregue um frasco plástico estéril para a coleta da primeira urina do dia agendado para coleta.

Ao chegarem na UBS no dia da coleta, as amostras de urina em frasco plástico estéril foram colocadas em um saco plástico identificado e imediatamente armazenada em caixa térmica (2 a 8^o C), controlada com termômetro. A medida que entregavam as amostras de urina, as participantes foram conduzidas ao consultório para coleta da amostra cérvico-vaginal (endocérvice, ectocérvice e parede vaginal) pelo profissional, com auxílio de *swab* de algodão que depois imerso em um tubo contendo 1 mL de tampão TRIS-EDTA (TRIS-HCl 10 mM e EDTA 1mM pH 8,0) e colocados em outra caixa térmica (2 a 8^o C), controlada com termômetro. Após a coleta, essas amostras foram transportadas para processamento no Laboratório de Biologia Molecular e Genética, nas dependências do Instituto de Saúde e Biotecnologia da Universidade Federal do Amazonas – UFAM/Coari, Amazonas.

3.5 PROCESSAMENTO LABORATORIAL

No laboratório, as amostras foram transferidas para microtubos, antes do armazenamento a -20^o C. Os tubos com as amostras cérvico-vaginais foram vortexadas por 15 segundos e passadas para microtubos de 1,5 mL, divididas em 3 alíquotas e armazenadas no freezer a -20^o C para processamento posterior.

As amostras de urina, devido a presença de contaminantes e inibidores de PCR, passaram por um pré-tratamento adaptado de (ZUIVERLOON et al., 2011; ZUIVERLOON et al., 2012), que consistiu em:

- Homogeneizar a amostra de urina;
- Transferir 14 mL para um tubo falcon de 15 mL com auxílio de uma seringa;

- Centrifugar a amostra durante 20 min a 2000 g;
- Lavar o *pellet* com 10 mL de PBS e repetir a centrifugação anterior;
- Ressuspender o *pellet* em 1 mL de PBS;
- Centrifugar a amostra durante 10 min a 3000 g;
- Descartar o sobrenadante;
- Ressuspender o *pellet* com 600 µL de PBS;
- Fazer 3 alíquotas de 200 µL em microtubos estéreis de 1,5 mL e armazenar no freezer a -20° C até o procedimento de extração de DNA.

As amostras foram submetidas a extração de DNA em período sempre inferior a 60 dias.

3.5.1 Extração de DNA

O DNA das amostras de urina foi extraído com o Kit comercial QIAamp Viral RNA Mini e das amostras cérvico-vaginais com QIAamp DNA Mini (QIAGEN, ALEMANHA). Os protocolos foram seguidos de acordo com as recomendações do fabricante, conforme detalhados nos Anexos 5 e 6.

3.5.2 Detecção da CT

Para detecção da CT por PCR foi utilizado o par de iniciadores CT05/CT06 (BOBO et al., 1990), que amplificam uma região de 280 pb na região do gene da MOMP no DNA cromossomal. Como controle interno da reação foram utilizados os iniciadores PCO3+/PCO4+ (SAIKI et al., 1985) que amplificam um fragmento de 110 pb do gene da β-globina humana (Figura 9). Os componentes e volumes desta PCR *multiplex* estão descritos na Figura 10.

Figura 9. Iniciadores utilizados para detecção da CT e o gene controle da β-globina humana

Alvo	Iniciadores	Sequência	Amplicon
CT	CT05 CT06	5' GATA GCCA GCAC AAAG AGAGC TAA 3' 5' CTTT GTTT TCGA CCGT GTTT TGCA AACA GATG TGAA 3'	280 pb
β-globina	PCO3+ PCO4+	5' CTTCTGACACAACACTGTGTTCACTAGC 3' 5' TCACCGCAAC TTCATCCACGTTCCACC 3'	110 pb

Figura 10. Componentes e volumes da PCR multiplex para o gene da β -globina humana e detecção de CT utilizando os iniciadores PCO3+/PCO4+ e CT05/CT06

Componentes	Volumes
Água ultra pura	14,0 μ L
Tampão 10X	2,5 μ L
MgSO ₄ 50mM	0,8 μ L
dNTP (dATP, dTTP, dCTP, dGTP)10mM (<i>Invitrogen</i> , BRASIL) 10 mM	0,5 μ L
CT05 5pmol	0,5 μ L
CT06 5pmol	0,5 μ L
PCO3+ 5pmol	0,5 μ L
PCO4+ 5pmol	0,5 μ L
Platinum Taq DNA High Fidelity (<i>Invitrogen</i> , BRASIL) 5U/ μ L	0,2 μ L
DNA	5,0 μ L
Volume Final	25,0 μL

Em todas as reações foi utilizada água como controle negativo dos reagentes e como controle positivo foi utilizado uma amostra previamente testada para o gene da B-globina e gene MOMP da CT. Após a preparação dos componentes, os mesmos foram levados para um termociclador *Veriti* (*Applied Biosystem*) nas condições abaixo (Figura 11).

Figura 11. Condições da PCR multiplex para amplificação de fragmento do gene da β -globina humana e do gene MOMP de CT utilizando os iniciadores PCO3+/PCO4+ e CT05/CT06.

Número de Ciclos	Temperatura (°C)	Tempo	Reação
1	94	0:30	Desnaturação inicial
40	94	0:30	Desnaturação
	58	1:30	Anelamento
	68	2:00	Extensão
1	68	5:00	Extensão final

Para a visualização dos fragmentos de DNA amplificados, os produtos da PCR foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 1,5%, corados com brometo de etídeo (1 μ g/ μ L) (LGC Biotecnologia), usando tampão TBE (Tris borato e EDTA – DNA Express Biotecnologia).

Como padrão de peso molecular foi utilizado um marcador de 100pb (DNA Express Biotecnologia, São Paulo, Brasil). Os fragmentos foram visualizado com o

auxílio de um transiluminador Kodak Gel Logic 212 (Kodak, EUA) e fotografadas em câmera digital *Olympus SP – 500uz*.

3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados em um arquivo eletrônico para o armazenamento dos dados no programa livre Epi-Info (v. 7.1.5.2) (*Center of Disease Control and Prevention* - CDC, disponível em www.cdc.gov.br). A análise estatística foi realizado no programa software BioEstat (v. 5.0). Para as variáveis quantitativas foram calculados a média, o desvio-padrão e a variância. Para as variáveis categóricas foram calculadas as frequências absolutas e relativas e em alguns casos o intervalo de confiança de 95%.

A prevalência da infecção foi calculada considerando a positividade da amostra. Os percentuais da positividade e os seus respectivos intervalos de confiança de 95% foram calculados nos dois tipos de amostras biológicas.

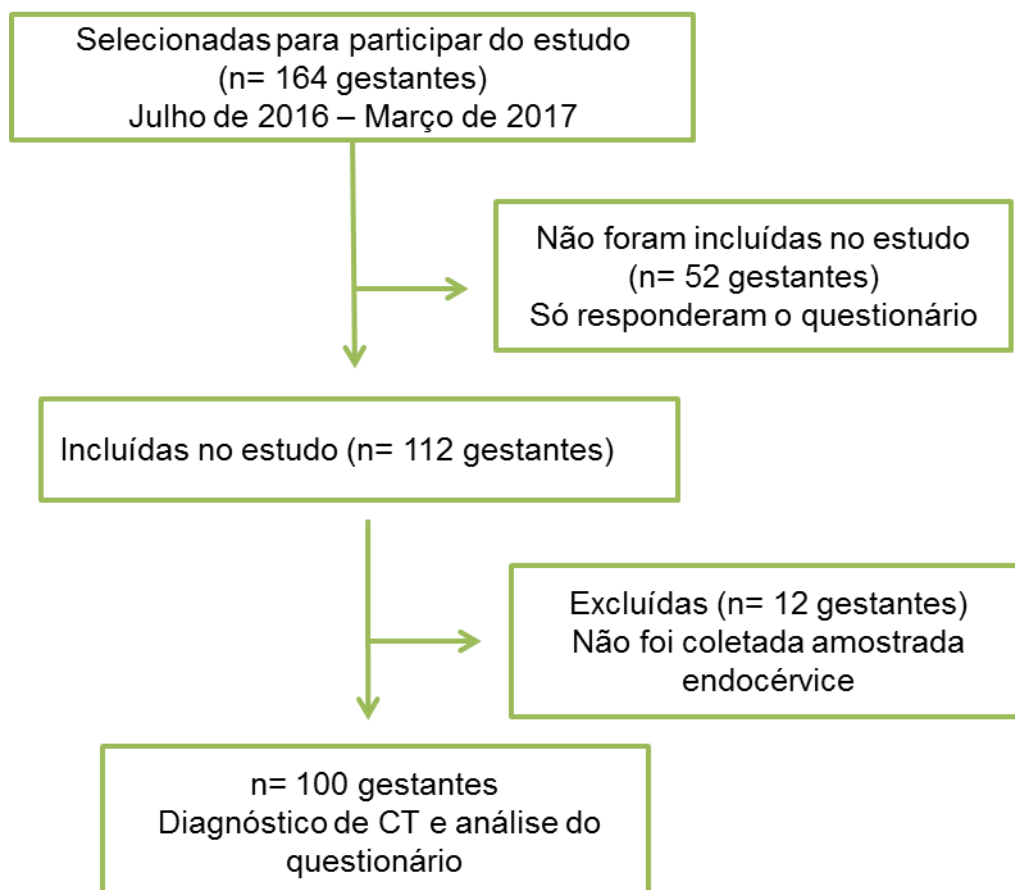
Para análise de concordância entre os dois tipos de amostras biológicas foi calculado o coeficiente kappa, sendo considerada uma concordância pobre quando $kappa < 0$, fraca 0-0,20, razoável 0,21-0,40, moderada 0,41-0,60, substancial 0,61-0,80 e ótima 0,81- 1,00 (LANDIS e KOCH, 1977).

Para a comparação dos resultados obtidos nos diferente tipo de amostra foi empregado o teste de *qui-quadrado* e na impossibilidade da aplicação do teste de Person foi aplicado o Exato de *Fisher* (VIEIRA, 2004; ARANGO, 2001). O nível de significância aplicado nos testes foi de 5% (MOTTA, 2006).

4 RESULTADOS

Foram convidadas 164 gestantes atendidas nas UBS do município de Coari para participar do estudo. Todas assinaram o TCLE e preencheram o questionário, porém 64 foram excluídas, sendo 52 por não comparecerem para a coleta e 12 pela impossibilidade de coleta da amostra da endocérvice (Figura 12).

Figura 12. Fluxograma das gestantes incluídas no estudo



4.1 CARACTERIZAÇÃO GERAL DA AMOSTRA

As gestantes arroladas nesta pesquisa eram, em sua maioria, naturais da cidade de Coari, (81%). A idade das participantes variou de 13 a 41 anos, com média de 22,87 anos. (DP= 6,24). Referente ao nível de escolaridade, 52% das mulheres apresentaram apenas o ensino fundamental completo. Quanto a ocupação, a maioria das gestantes declarou ser “dona de casa” (50%), 25% afirmaram ser estudantes, e 4% estavam desempregadas. Estavam empregadas 21% das mulheres. As principais ocupações citadas foram: agente de saúde, agricultora, vendedora, cabeleireira, auxiliar de serviços gerais, professora, técnica de laboratório, assistente social e funcionária pública. Com relação à renda familiar mensal, muitas gestantes afirmaram ter até 1 salário mínimo (54%), 36% relataram renda de até 2 salários mínimos e 10% apresentavam renda familiar de 3 ou mais salários mínimos. Dentre essas mulheres,

52% relataram não ter nenhuma renda pessoal, 44% relataram renda até 1 salário mínimo e somente 4% apresentavam renda pessoal de 2 salários mínimos. Como somente 21% das mulheres trabalhavam o restante das mulheres com renda pessoal recebiam benefício do programa do Governo Federal, o Bolsa Família. Essas informações estão detalhadas na Tabela 1.

Quanto ao estado conjugal, 78% das gestantes declararam serem casada ou estarem vivendo em união estável com um companheiro. A idade da primeira relação sexual variou entre 9 a 23 anos, com média de 15,17 anos (DP=2,19). Com relação ao número de parceiros sexuais, a maioria das gestantes (77%) disseram ter tido apenas 1 parceiro sexual nos últimos 12 meses e 80% delas declararam ter tido dois ou mais parceiros sexuais ao longo da vida. Quando questionadas a respeito do uso de preservativo, 67% afirmaram usar “às vezes”, e 33% disseram “nunca” usar. Referente à história clínica das gestantes, 91% disseram nunca ter tido nenhum diagnóstico de IST previamente. As 9 gestantes que mencionaram histórico de IST relataram diagnóstico de sífilis, herpes, hepatite B e HPV. Essas informações estão detalhadas na Tabela 2.

Quanto ao número de gestações, 48% das mulheres referiram ser esta sua primeira gestação. As outras 52 mulheres (52%) relataram gestações anteriores, com número de filhos nascidos vivos variando entre 01 a 05 filhos. Das 52 mulheres que tiveram gestações, 12 (23%) passaram pela experiência do abortamento espontâneos e 8 (15,4%) tiveram parto prematuro. No momento da entrevista, 68% das gestantes relataram queixas ginecológica, que foram: prurido (22%), corrimento vaginal (66,2%), dor pélvica (51,5%), dificuldade de urinar (8,8%) e ardência após a relação sexual (2,9%). Com relação a idade gestacional, 57% estavam com idade entre 14 e 20 semanas e 43% com idade entre 21 e 27 semanas. Informações com mais detalhes na Tabela 3.

Tabela 1. Características sócio-demográficas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.

Variáveis	n	(%)
Naturalidade		
Coari	81	81,0
Outros municípios do Estado do Amazonas	17	17,0
Outros municípios do Brasil	02	2,0
Idade		
Média ± DP	22,87 ± 6,24	
Amplitude	13 - 41	
Nível de escolaridade		
Ensino fundamental incompleto (não alfabetizadas)	20	20,0
Ensino fundamental completo	32	32,0
Ensino médio completo	43	43,0
Ensino superior completo	05	5,0
Ocupação		
Dona de casa	50	50,0
Estudante	25	25,0
Agente de saúde	02	2,0
Agricultora	01	1,0
Auxiliar de serviços gerais	02	2,0
Outros	20	20,0
Renda familiar*		
Até 1 SM	54	54,0
Até 2 SM (Entre 1 e 2 SM)	36	36,0
≥ 3 SM	10	10,0
Renda pessoal		
Nenhuma	52	52,0
Até 1 SM	44	44,0
Até 2 SM	04	4,0

*Salário mínimo (SM) na época da entrevista era R\$ 880,00

Tabela 2. Características do comportamento sexual de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.

Variáveis	n	(%)
Estado conjugal		
Solteira	22	22,0
Casada /União estável	78	78,0
Idade da primeira relação sexual (anos)		
Média ± DP	15,17 ± 2,19	
Amplitude	9 - 23	
Nº de parceiro no últimos 12 meses		
1	77	77,0
≥ 2	23	23,0
Nº de parceiros ao longo da vida		
1	20	20,0
≥ 2	80	80,0
Uso de preservativo		
As vezes	67	67,0
Nunca	33	33,0
IST prévia		
Sim	09	9,0
Não	91	91,0
IST (n=9)		
Sífilis	02	22,2
Herpes	02	22,2
Hepatite B	02	22,2
HPV	01	11,1
Outra	02	22,2

Tabela 3. Características do aspecto de história clínica de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.

Variáveis	n	(%)
Número de gestações		
Primigesta	48	48,0
>1 gestação	52	52,0
Idade da primeira gravidez (n=52)		
Média ± DP	17,96 ± 3,02	
Amplitude	14 - 27	
Número de filhos nascidos vivos (n=46)		
1	26	26,0
2 a 5	20	20,0
Aborto espontâneo (n=52)		
Sim	12	23,0
Não	40	77,0
Parto prematuro (n=52)		
Sim	08	15,4
Não	44	84,6
Idade gestacional (Semanas)		
14 a 20	57	57,0
21 a 27	43	43,0
Queixa ginecológica (n=69)*		
Prurido	15	21,7
Corrimento vaginal	45	65,2
Dor pélvica	35	50,7
Dificuldade de urinar	06	8,7
Dor após a relação sexual	02	3,0

* Não se soma pois pode ocorrer mais de uma queixa clínica.

4.2 INFECÇÃO POR CT

Os dois tipos de amostras biológicas - *swab* cérvico-vaginal e urina - foram coletadas nas 100 gestantes. Todas as amostras confirmaram a presença de DNA genômico humano.

Foi detectada amplificação de DNA de CT em amostras de 18 mulheres, uma prevalência de 18%. Dentre elas, 8 pacientes (8%), foram positivas nos dois tipos de

amostras biológicas, 3% foram positivas somente no *swab* cérvico-vaginal e 7% somente na urina. Considerando apenas um tipo de amostra, os percentuais da positividade para CT foram de (11%) no *swab* cérvico-vaginal e (15%) na urina. Os percentuais da positividade são mostrados na Tabela 4. A Figura 13 exemplifica géis de agarose com amostras positivas para CT, tanto amostra cérvico-vaginal quanto de urina.

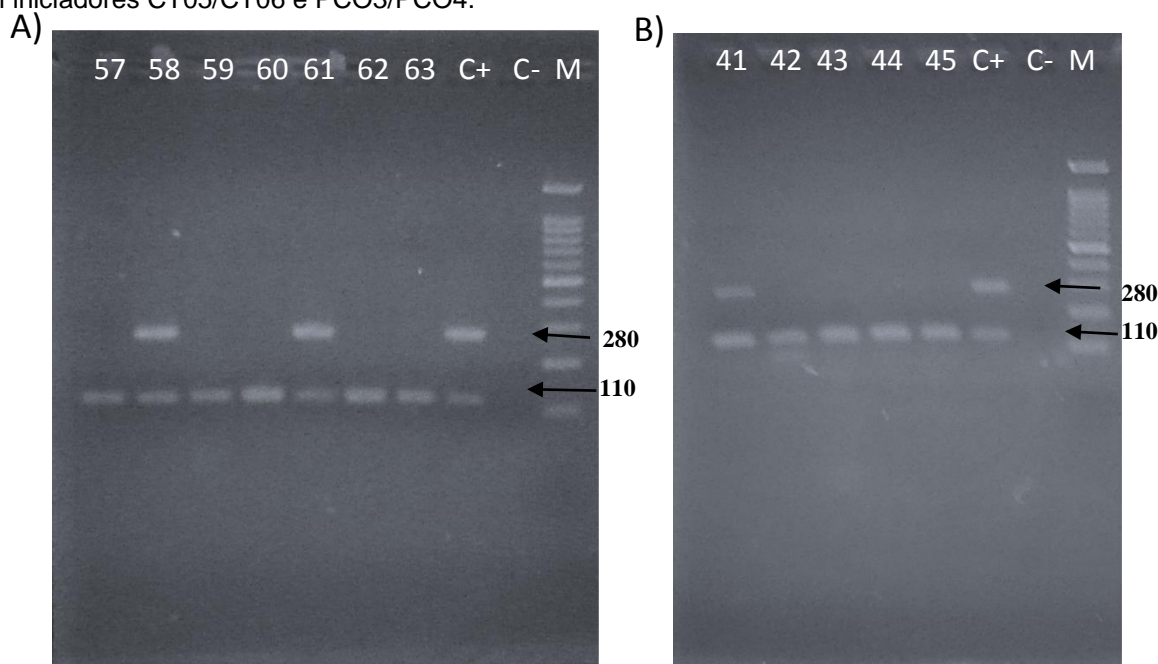
As gestantes que estavam infectadas por CT receberam o encaminhamento para serem tratadas na policlínica Dr. Roque Juan Deloso do município de Coari.

Tabela 4. Frequência da positividade da infecção por CT nas amostras biológicas analisadas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas.

Amostras	PCR		Positividade (IC95%)	P value
	+	-		
Swab cérvico-vaginal	11	89	11% (5,62 – 18,83)	0,400*
Urina	15	85	15% (8,65 – 23,53)	

*Teste qui-quadrado de Pearson

Figura 13. Análise eletroforética em gel de agarose 1,5% dos produtos da PCR obtidos após a PCR com iniciadores CT05/CT06 e PCO3/PCO4.



A) Amostras clínicas de *Swab* cérvico-vaginal das gestantes 57 a 63, mostrando amplificação das amostras 58 e 61 com amplicon de 280pb (CT) e amplificação de todas as amostras com amplicon de 110pb (DNA humano); **B)** Amostras clínicas de urina das gestantes 41 a 45, mostrando amplificação da amostra 41 com 280pb (CT) e amplificação de todas as amostras com amplicon de 110 pb (DNA humano); C+: controle positivo; C-: controle negativo da reação; **M**: marcado de 100pb.

4.3 ANÁLISE DE CONCORDÂNCIA DE RESULTADOS ENTRE AS DUAS AMOSTRAS BIOLÓGICAS ANALISADAS

A concordância observada nos resultados entre as duas amostras biológicas foi de (90%), havendo concordância em 8 casos positivos e 82 casos negativos. O coeficiente de concordância ajustada (Kappa -k) mostrou uma concordância moderada, onde kappa foi 0,55 entre *Swab* cérvico-vaginal e urina.

4.4 ASSOCIAÇÃO ENTRE AS VARIÁVEIS E A INFECÇÃO POR CT

Os dados sócio demográficos, comportamentais e história clínica, foram cruzadas para a investigação da associação com a infecção por CT. Com exceção dos números de parceiros nos últimos 12 meses, nenhuma outra variável teve associação estatisticamente significativa com a infecção por CT (Tabela 5 a 7).

Tabela 5. Características sócio-demográficas de 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT.

Variáveis	Total n (%)	CT+ n (%)	CT- n (%)	P value
Idade				0,226**
Média ± DP	21,15 ± 4,65		23,08 ± 6,36	
Amplitude	14 - 32		13 - 41	
Nível de escolaridade				***
Ensino fundamental incompleto	20 (20,0)	03 (16,7)	17 (20,7)	
Ensino fundamental completo	32 (32,0)	08 (44,4)	24 (29,3)	
Ensino médio completo	43(43,0)	06 (33,3)	37 (45,1)	
Ensino superior completo	05 (5,0)	01 (5,6)	04 (4,9)	
Renda familiar				0,706*
Até 1 SM	54 (54,0)	09 (50,0)	45 (54,9)	
2 SM ou mais	46 (46,0)	09 (50,0)	37 (45,1)	
Renda pessoal				***
Nenhuma	52 (52,0)	11 (61,1)	41 (50,0)	
Até 1 SM	44 (44,0)	07 (38,9)	37 (45,1)	
Até 2 SM	04 (4,0)	00 (00,0)	04 (4,9)	

DP = desvio – padrão; * Teste qui-quadrado de Pearson; **Teste t de Student; *** Não é possível aplicar a estatística de teste devido as restrições do qui-quadrado.

Tabela 6. Comportamento sexual das 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT

Variáveis	Total n (%)	CT+ n (%)	CT- n (%)	P value
Estado conjugal				0,165**
Solteira	22 (22,0)	06 (33,3)	16 (19,5)	
Casada/União estável	78 (78,0)	12 (66,7)	66 (80,5)	
Idade da primeira relação sexual				0,190***
Média ± DP	14,55 ± 1,29		15,30 ± 2,33	
Amplitude	12 - 17		9 - 23	
Nº de parceiro no últimos 12 meses				0,022**
1	77 (77,0)	10 (55,6)	67 (81,7)	
≥ 2	23 (23,0)	08 (44,4)	15 (18,3)	
Nº de parceiros ao longo da vida				0,491**
1	20 (20,0)	03 (16,7)	17 (20,7)	
≥ 2	80 (80,0)	15 (83,3)	65 (79,3)	
Uso de preservativo				0,282*
As vezes	67 (67,0)	14 (77,8)	53 (64,6)	
Nunca	33 (33,0)	04 (22,2)	29 (35,4)	

DP = desvio – padrão; * Teste qui-quadrado de Pearson; ** Teste exato de Fisher; *** Teste t de Student

Tabela 7. História clínica das 100 gestantes recrutadas nas UBS do município de Coari, Amazonas com relação à infecção por CT.

Variáveis	Total n (%)	CT+ n (%)	CT- n (%)	P value
Número de gestações				0,851*
Primigesta	48 (48,0)	09 (18,8)	39 (81,2)	
>1 gestação	52 (52,0)	09 (17,3)	43 (82,7)	
Aborto espontâneo (n=52)				0,110**
Sim	12 (23,0)	04 (33,3)	08 (66,7)	
Não	40 (77,0)	05 (12,5)	35 (87,5)	
Parto prematuro (n=52)				0,578**
Sim	08 (15,4)	01 (12,5)	07 (87,5)	
Não	44 (84,6)	08 (18,2)	36 (81,8)	
Clinical complaints (n=69)^a				
Prurido	15 (21,7)	02 (13,3)	13 (86,7)	0.11***
Corrimento vaginal	45 (65,2)	10 (22,2)	35 (77,8)	0.55***
Dor pélvica	35 (50,7)	05 (14,3)	30 (85,7)	0.27***
Dificuldade de urinar	06 (8,7)	00 (00)	06 (100)	1.00***
Dor após a relação sexual	02 (3,0)	01 (50,0)	01 (50,0)	0.05***

^aTeste qui-quadrado de Pearson; **Teste exato de Fisher; *** Teste Binominal

5 DISCUSSÃO

No município de Coari/AM esse é o primeiro estudo realizado para detecção de CT em gestantes. Nesse município, o único estudo realizado até o momento foi em mulheres sexualmente ativas, acima de 18 anos, que procuravam os serviços de saúde para exame ginecológico de rotina, sendo encontrada uma prevalência de 6,4% de infecção (ROCHA et al., 2014).

No presente estudo descritivo e transversal realizado no município de Coari/AM, a prevalência da infecção por *Chlamydia trachomatis* (CT) foi de 18%. Para esta pesquisa, utilizamos dois tipos de amostras – urina e esfregaço com *Swab* cérvico-vaginal. Nas amostras de urina a prevalência da infecção por CT foi de 15%. No Brasil encontramos taxas da infecção por CT em amostras de urina que variam de 6,9% a 18% (Pinto et al., 2011; Santos et al., 2016). Quando comparado os resultados do presente estudo com os trabalhos realizados no Brasil e no mundo, fica evidente a elevada prevalência da infecção por CT em gestantes no município de Coari.

No estudo realizado por Schimdt et al. (2015), na cidade de Vitória (ES) em um hospital universitário com amostras de urina encontraram uma prevalência de 13,9% pelo método de PCR. Já Pinto et al. (2011) encontraram uma prevalência de 14,1% em 3 cidades do Norte do Brasil - Belém (PA), Macapá (AP) e Manaus (AM). Este estudo multicêntrico de Pinto et al. (2011) encontrou prevalências menores de infecção nas outras 4 regiões brasileiras: 8,6% no Nordeste (Fortaleza (CE), Aracaju (SE) e Natal (RN)); 11,3% no Centro-Oeste (Brasília (DF) e Campo Grande (MS)); 9,8% em cidades da região Sudeste (Belo Horizonte (MG), Campinas (SP) e Rio de Janeiro (RJ); e 6,9% em cidades do Sul (Curitiba (PR), Porto Alegre (RS) e Joinville (SC). Num estudo realizado também na região Norte do Brasil, em Belém (PA), Santos et al. (2016) também encontraram uma prevalência elevada em amostra de urina (18%). Tanto no estudo realizado por Pinto et al. (2011) como no estudo de Santos et al. (2016) a detecção foi pelo método de PCR.

Em relação aos estudos internacionais realizados com amostras de urina, nossos resultados assemelham-se aos de Masha et al. (2017), que encontraram prevalência de 14,9% em gestantes no Quênia e inferior a encontrada por Adachi et al. (2015), uma prevalência de 18,1%, em um estudo multicêntrico, ambos utilizando PCR em tempo real. Já o estudo de Piñeiro et al. (2016) num estudo com grávidas na Espanha encontrou prevalência bem mais baixa (6,4%) por PCR. Certamente as

diferenças nas prevalências encontradas podem estar relacionadas à fatores culturais, comportamentais e de acesso ao sistema de saúde.

Nas amostras de *swab* cérvico-vaginal a prevalência da infecção por CT foi de 11% no nosso estudo. No estudo de BRASIL (2008) e Benzaken et al. (2008) foram encontradas prevalências de 11,6% a 11,9%, respectivamente, em amostras vaginais pelo método de captura híbrida. No estudo de Borborema-Alfaia et al. (2013), realizado em Manaus/AM encontrou-se uma prevalência de 11% pelo método da PCR. Em Pelotas (RS) um estudo realizado por Silveira et al. (2017) encontrou uma prevalência de 12,3% pelo método de PCR. Já nos estudos internacionais, Wangapi et al. (2014) realizaram um estudo em Papua-Nova Guiné por PCR em tempo real, que detectaram prevalência de 11,1% em gestantes. Por sua vez Ovalle et al. (2012) detectaram uma prevalência bem mais baixa (5,9%) em gestantes no Chile.

Um estudo com adolescentes comparando três tipos de amostras (urina, *swab* endocervical e vaginal), mostrou que os três tipos de amostras são equivalentes na detecção da infecção por CT pelo método de PCR, e apresentou uma boa concordância de resultado (Kappa= 0,73), com uma alta sensibilidade e especificidade (CARDOSO, 2010). Fang et al. (2008) em amostras de urina, *swab* endocervical e *swab* vaginal por autocoleta encontraram uma ótima concordância (Kappa=0,89). No nosso estudo foi encontrada uma moderada concordância entre as amostras, sendo o valor de kappa 0,55, não tendo sido encontrada diferença significativa nesses resultados ($p= 0,400$), o que mostra que essas duas amostras são equivalentes no diagnóstico da infecção por CT pelo método de PCR.

Tanto os métodos de captura híbrida e PCR tem sido utilizado para o diagnóstico da infecção por CT. O teste de Captura Híbrida inclusive já é um método aprovado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) e o Sistema Único de Saúde (SUS) já incluiu na tabela de procedimentos pagos. No entanto, estudos têm demonstrado que a sensibilidade do teste de captura híbrida varia de 66,7% a 72,3% comparada a PCR, não sendo apropriada para o rastreamento de CT pela moderada sensibilidade (LEVI et al., 2012; NEVES et al., 2016).

A técnica de PCR, permite à amplificação de DNA partir de mínimas quantidades do DNA da CT com alta sensibilidade e especificidade, embora seja de custo mais elevado. Os iniciadores utilizados na PCR para detecção de CT podem ter como alvo o DNA plasmidial, gene *omp1* no DNA cromossomal e gene 16s ribossomal. Muitos estudos, como o de Borborema-Alfaia et al. (2013), tem utilizado iniciadores

para o DNA plasmidial, pois os plasmídeos estão em número de 7 a 10 cópias por bactéria, tornando a técnica mais sensível. No entanto, um estudo realizado por Farencena et al. (1997) descreveram o isolamento de uma CT desprovida de plasmídeo e Ripa e Nilsson (2006) na Suécia descobriram uma estirpe que possuía uma deleção de 377pb no DNA plasmidial, entre os nucleotídeos 608 e 985 (ficando conhecida como “variante sueca”). Devido ao conhecimento que hoje se tem a respeito da existência de variantes de CT livres de plasmídeos, a escolha de um iniciador para o alvo nessas regiões, poderia resultar em falsos negativos, de forma que estas poderiam estar presentes nas amostras clínicas e não seriam detectadas. Por conta disso, em nosso estudo utilizamos um iniciador para o gene *omp1* que se localiza no DNA cromossomal e codifica a proteína principal da membrana externa da bactéria, esse iniciador delimita uma região conservada em todos os sorotipos da CT (BOBO et al., 1990).

Os resultados obtidos a partir do método de PCR tendo como alvo o DNA cromossomal da bactéria CT mostrou que a média da idade das mulheres infectadas foi mais baixa que a não infectada ($21,15 \pm 4,65$ e $23,08 \pm 6,36$, respectivamente). Em outros estudos a infecção por CT tem sido encontrada em mulheres que tem em torno de 14 a 25 anos, o que mostra que as mulheres nessa faixa de idade tem uma maior predisposição ao comportamento sexual (ROURS et al., 2011; Schmidt et al., 2015; Silveira et al., 2017). Na literatura, os casos maiores da infecção por CT são encontrados em países em desenvolvimento, em pessoas mais pobres (JALIL et al., 2008; RAMOS et al., 2003). Neste estudo a prevalência foi maior nas que tinham até o ensino fundamental 61,1%, corroborando com os trabalhos de Jalil et al. (2008) e Ramos et al. (2003).

Nas mulheres solteiras a prevalência da infecção também foi maior 33,3%, essas mulheres na maioria das vezes por estarem nessa condição, tendem a ter um maior número de parceiros, facilitando a aquisição de algumas infecções. No presente estudo, o principal fator de risco para infecção por CT foi o maior número de parceiros nos últimos 12 meses, com uma prevalência de 44,4%. Nos estudos de Rours et al. (2011) e Santos et al. (2016) encontram resultados semelhantes, o que mostra que a infecção tende a ser maior nas mulheres solteiras e nas que tem diferentes parceiros.

Nessa população, considerando o histórico de parto prematuro e aborto espontâneo - desfechos clínicos relacionados à infecção por CT – nosso estudo não encontrou associação entre a infecção por CT e estas variáveis. Comparando nossos

resultados com outros estudos, autores como Blas et al. (2007), Folger. (2013) e Rours et al. (2011a) encontraram claramente associação entre estas variáveis e infecção por CT, enquanto autores brasileiros como Pinto et al. (2011), Schmidt et al. (2015) e Silveira et al. (2017) não encontraram. Embora alguns estudos já tenha encontrada associação da infecção por CT com tais desfechos, devemos considerar que estas intercorrências têm causa multifatorial (DORIA e SPAUTZ, 2011).

Esses desfechos apresentam um grande impacto na estrutura familiar e nas políticas de saúde do país. Em 2012 o Ministério da Saúde passou a oferecer o tratamento para infertilidade – desfecho também associado com a infecção por CT-pelo SUS, onde através da portaria de N° 3.149, foi determinado que fossem destinados 10 milhões de reais para oito centros de Saúde do país (Belo Horizonte, Brasília, São Paulo, Porto Alegre e Recife).

No Brasil, durante o pré-natal, é realizado o rastreio rotineiro do HIV, Sífilis, Hepatites B e C, Toxoplasmose e Rubéola entre as gestantes, preconizado pelo Ministério da Saúde. A CT, no entanto, ficou do lado de fora do rastreamento no pré-natal, pois, para o Ministério da Saúde, não há evidência científica suficiente da sua efetividade e do custo/efetividade (Brasil, 2013).

Nos países como Austrália, Estados Unidos, Canadá, Japão e Alemanha, o rastreamento e tratamento da CT faz parte da rotina do pré-natal. Um estudo realizado por Ong et al. (2016) na Austrália, comparando os custos diretos do rastreamento e manejo das complicações por CT em gestantes entre 16 e 25 anos com nenhum rastreio ou rastreio seletivo, mostraram ser custo/efetivo o rastreamento da infecção em gestantes nessa faixa etária, diminuindo assim os gastos com as complicações. O trabalho de Ong et al. (2016) têm servido de base para outros estudos de custo/efetividade.

Por outro lado, na Holanda e no Reino Unido, o rastreamento rotineiro da infecção por CT não faz parte do pré-natal por não ter evidências suficientes do custo/efetividade. Por conta disso Rours et al. (2016) na Holanda, realizaram um estudo onde em uma análise com base nos desfechos causados por CT, mostraram ser custo/efetivo o rastreio da CT durante o pré-natal e ainda mais econômico o rastreio em gestantes com menos de 30 anos de idade. Esses autores tem contribuindo com muitos estudos que mostraram a associação da infecção por CT com parto prematuro e problemas respiratório no neonato e por isso tem realizado estudo de custo/efetividade para que o rastreamento faça parte da rotina do pré-natal

na Holanda. Os autores consideram ainda a importância da realização de estudos clínicos randomizados que dêem embasamento aos estudos de custo/efetividade.

Uma alta prevalência (18%) foi encontrada em nosso estudo, o que contribui para que surjam debates em relação ao rastreamento dessa infecção no curso da gestação. O rastreamento da infecção por CT durante o pré-natal é uma oportunidade de detectar e tratar mulheres, a fim de diminuir os gastos com os desfechos. Consideramos ainda, que seria importante a implementação de exames para essa infecção durante o pré-natal. Um alternativa à PCR, que possui elevado custo, seria a Captura Híbrida, que possui sensibilidade e especificidade similares à PCR no diagnóstico de CT, comparada a cultura celular. Dessa forma, este estudo ajuda a ampliar a visibilidade do problema da infecção por CT na gestação e reforça o entendimento da importância de incluir este diagnóstico na rotina do pré-natal.

CONCLUSAO

1 – Foi encontrada uma alta prevalência da infecção por CT nesta amostra de gestantes – 18%;

2 – A maioria das mulheres viviam em união estável, tinham até o ensino fundamental completo e de baixa renda;

3 - A infecção por CT não esteve associada à maioria das variáveis estudadas, com exceção das variáveis “multiplicidade de parceiros nos últimos 12 meses” e “dor após a relação sexual”, com as quais foi encontrada associação ($p=0,022$) e ($p= 0,05$);

4 - A infecção por CT foi detectada com maior frequência nas amostras de urina, havendo moderada concordância entre os dois tipos de amostras;

5 - A amostras de urina podem ser usadas para detecção de CT, pois é uma amostra auto-coletável, não-invasiva e dispensa um ambiente clínico.

REFERÊNCIAS

- ABDELSAMED, Hossam.; PETERS, Jan; BYRNE, Gerald. Genetic variation in *Chlamydia trachomatis* and their hosts: impact on disease severity and tissue tropism. **Future Microbiol**, v. 8, n. 9, p. 1129–1146, 2013.
- ABEYÁ, Renata. et al. Complicações perinatais em gestantes infectadas pelo vírus da imunodeficiência humana. **Rev. Bras. Sa'de Matern. Infant.**, v. 4, n. 4, p. 385–390, 2004.
- ABREU, André. et al. Short Report: Molecular Detection of HPV and *Chlamydia trachomatis* Infections in Brazilian Women with Abnormal Cervical Cytology. **Am. J. Trop. Med. Hyg**, Maringá, v. 87, n.6, p. 1149-1151. 2012.
- ADACHI, Kristina. et al. *Chlamydia* and *Gonorrhoea* in HIV-infected Pregnant Women and Infant HIV Transmission. **Sex Transm Dis**, v. 42, n. 10, p. 554–565, 2015.
- ALAEDDINI, Reza. Forensic implications of PCR inhibition - A review. **Forensic Science International: Genetics**, v. 6, n. 3, p. 297–305, 2012.
- ANDRADE, Ana. et al. Infecção Genital por *Chlamydia trachomatis* na Mulher: Epidemiologia, Diagnóstico e Consequências. **RFM – Revista Fluminense de Medicina**, v.78-79, n.2, p. 15-17, 2014.
- ARANGO, H.G. Bioestatística Teórica e Computacional. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.
- ASHSHI, Ahmed. et al. Prevalence of 7 sexually transmitted organisms by multiplex real-time PCR in Fallopian tube specimens collected from Saudi women with and without ectopic pregnancy. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, p. 569, 2015.
- AYRES M. et al. BioEstat 5.0: Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas. Sociedade Civil de Mamirauá. Brasil. 2007.
- AZENABOR, Anthony; KENNEDY, Patrick.; BALISTRERI, Salvatore. *Chlamydia trachomatis* infection of human trophoblast alters estrogen and progesterone biosynthesis: An insight into role of infection in pregnancy sequelae. **International Journal of Medical Sciences**, v. 4, n. 4, p. 223–231, 2007.
- BAZAN, Jose. et al. High Prevalence of Rectal *Gonorrhoea* and *Chlamydia* Infection in Women Attending a Sexually Transmitted Disease Clinic. **Journal of Women's Health**, v. 24, n. 3, p. 1-8, 2015.
- BEKLER, Cigdem. et al. *Chlamydial* infections in term and preterm neonates. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, v. 65, n. 1, p. 1–6, 2012.
- BENZAKEN, Adele. et al. Prevalência da infecção por *chlamydia trachomatis* e fatores associados em diferentes populações de ambos os sexos na cidade de Manaus. **DST-J bras Doenças Sex Transm**, v. 20, n. 1, p. 18–23, 2008.

BLAS, Magaly. et al. Pregnancy outcomes in women infected with *Chlamydia*. **Natural History**, v. 83, n. 4, p. 314–318, 2007.

BOBO, Linda. et al. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Cervical Infection by Detection of Amplified DNA with an Enzyme Immunoassay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 28, n. 9, p. 1968–1973, 1990.

BORBOREMA-ALFAIA, Ana. et al. *Chlamydia trachomatis* infection in a sample of northern Brazilian pregnant women: prevalence and prenatal importance. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 5, p. 545 – 550, 2013

BRANDÃO, Virgínia; LACERDA, Heloísa; XIMENES, Ricardo. Frequência de Papilomavírus humano (HPV) e *Chlamydia trachomatis* em gestantes. v. 19, n. 1, p. 43–50, 2010.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE. PROGRAMA NACIONAL DE DST E AIDS. **Prevalências e frequências relativas de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) em populações selecionadas de seis capitais brasileiras**, 2005. Brasília: Ministério da Saúde, 2008.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Boletim epidemiológico – Sífilis**. Ano IV- nº 1. 2015a.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas infecções sexualmente transmissíveis**. Conitec, 2015b.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. **Atenção ao pré-natal de baixo risco – 1. ed. rev.** – Brasília : Editora do Ministério da Saúde, 2013.

BRASILIENSE, Danielle. et al. Genotyping and prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection among women in Belém , Pará , northern Brazil. **J Infect Dev Ctries**, n. 1, p. 134–137, 2016.

BRISTOW, Claire. et al. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* screening and treatment of pregnant women in Port-au-Prince, Haiti. **International Journal of STD & AIDS**, v.0, n.0, p. 1-5, 2017.

BYRNE, Gerald. *Chlamydia trachomatis* strains and virulence: rethinking links to infection prevalence and disease severity. **J Infect Dis**. 2011;201(2):S126–33.

CALVACHE, Edith. et al. *chlamydia trachomatis* Frequency in a Cohort of HPV-Infected Colombian Women. **PLOS ONE**, p. 1-14, 2016.

CARDOSO, Ferndanda Alves de Brito. **Diagnóstico Molecular das Infecções Por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae***: Avaliação do Desempenho do Swab Vaginal. 2010. 106p. Dissertação (Mestrado em Medicina tropical e Saúde Pública), Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública, Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2010.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Sexually transmitted infections surveillance 2014**. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services; 2015.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Sexually transmitted infections surveillance 2013**. Atlanta (GA): U.S. Department of Health and Human Services; 2014.

CDC - Centers for Disease Control and Prevention. **Sexually transmitted diseases treatment guidelines, MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2010**; No.59(RR-12):1-110. Erratum in: MMWR Recomm Rep. 2011;60(1):18.

CEVENINI, Roberto; DONATI, Manuela; SAMBRI, Vittorio. *Chlamydia trachomatis* - the agent. Best Practice and Research: **Clinical Obstetrics and Gynaecology**, v. 16, n. 6, p. 761–773, 2002.

COLEMAN, Jenell; GAYDOS, Charlot; WITTER, F. *Trichomonas vaginalis* Vaginitis in Obstetrics and Gynecology Practice: New Concepts and Controversies. **Obstet Gynecol Surv.**, v. 68, n. 1, p. 43–50, 2013.

CONEJERO, Carolina. et al. Experiencia con un método de autotoma de muestra vaginal para la detección de infección por *Chlamydia trachomatis* y *Nisseria gonorrhoeae* en mujeres jóvenes. **Revista Chilena Infectol**, v. 30, n. 5, p. 489–493, 2013.

CONNELL, Catherine; FERONE, Morgan. E. *Chlamydia trachomatis* Genital Infections. **Microbial cell**, v. 3, n. 9, p. 390–403, 2016.

COSTA, Mariana. et al. Doenças sexualmente transmissíveis na gestação: uma síntese de particularidades. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 85, n. 6, p. 767–785, 2010.

DAUTRY-VARSAT, Alice; SUBTIL, A; HACKSTADT, T. Recent insights into the mechanisms of *Chlamydia* entry. **Cell Microbiol**, v.7, n.12, p.1714-1722. 2005.

DERUAZ, Maud; LUSTER, Andrew. Chemokine-mediated immune responses in the female genital tract mucosa. **Immunology and cell biology**, n. January, p. 1–8, 2015.

DOMINGUES, Rosa. et al. Prevalence of syphilis in pregnancy and prenatal syphilis testing in Brazil: Birth in Brazil study Prevalência de sífilis na gestação e testagem pré-natal: Estudo Nascer no Brasil. **Rev Saúde Pública**, v. 48, n. 5, p. 766–774, 2014.

DÓRIA, M. T.; SPAUTZ, C. C. predição e prevenção. **revista femina**, v.39, n. 9, 2011.

EL BALI, Latifa. et al. Comparative study of seven commercial kits for human DNA extraction from urine samples suitable for dna biomarker-based public health studies. **Journal of Biomolecular Techniques**, v. 25, n. 4, p. 96–110, 2014.

EVERETT, Karin; BUSH, Robin; ANDERSEN, Arthur. Emended description of the

order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. **International journal of systematic bacteriology**, v. 49 Pt 2, n. 1 999, p. 415–40, 1999.

FANG Junyong. et al. Evaluation of self-collected vaginal swab, first void urine and endocervical swab specimens for the detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in adolescent females. **J Pediatr Adolesc Gynecol**, n.21, p.355-360. 2008.

FARENCEA, A. et al. Characterization of a new isolate of *Chlamydia trachomatis* which lacks the common plasmid and has properties of biovar trachoma. **Infection and Immunity**, v.65, n.7, p.2965-2969. 1997.

FEREZIN, Rafael; BERTOLINI, Dennis; DEMARCHI, Izabel. Prevalência de sorologia positiva para HIV, hepatite B, toxoplasmose e rubéola em gestantes do noroeste paranaense. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 35, n.2, p. 66-70, 2013.

FERNANDES, João; FORTUNATO, J. M. S.; PINTO, Jorge. Fisiologia do Sistema Reprodutor Feminino. **SOF-Fisiologia**, p. 1 - 45, 2010.

FERNANDES, Liliam. et al. Infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*: fatores associados à infertilidade em mulheres atendidas em um serviço público de reprodução humana. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v. 36, n. 8, p. 353-358, 2014.

FOLGER, Alonzo. Maternal *Chlamydia trachomatis* Infections and Preterm Birth: The Impact of Early Detection and Eradication During Pregnancy. **Maternal and Child Health Journal**, p. 1–8, 2013.

FREDLUND, Hans. et al. Molecular genetic methods for diagnosis and characterization of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*: impact on epidemiological surveillance and interventions. **APMIS**, v.112, p.771–84. 2004.

GARCÊS, Alzira. et al. Prevalência de *Chlamydia trachomatis* e fatores de risco associados à infecção detectada em amostra endocervical. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v.35, n.8, p.379-83. 2013.

GEISLER, William. Approaches to the management of uncomplicated genital *Chlamydia trachomatis* infections. **Expert Rev. Anti Infect**, v. 2, n. 5, p. 771 – 785, 2004.

GHOSH, Mallika. et al. Association of Genital *Chlamydia trachomatis* Infection with Female Infertility, Study in a Tertiary Care Hospital in Eastern India. **The open microbiology journal**, v. 9, p. 110–6, 2015.

GIRDNER, Jennifer. et al. Evaluation of the Digene hybrid capture II CT-ID test for the detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical specimens. **J Clin Microbiol**, v.37, n.5, p.1579-1581. 1999.

GONDO, Danielle. et al. Alteração de flora vaginal em gestantes de baixo risco, atendidas em serviço público de saúde: prevalência e associação à sintomatologia e achados do exame ginecológico. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 18, n. 5, p. 1-9, 2010.

GROUP, Eshre. Simultaneous prevention of unintended pregnancy and STIs: A challenging compromise. **Human Reproduction Update**, v. 20, n. 6, p. 952–963, 2014.

GUIMARÃES, Eleuse. et al. Lack of utility of risk score and gynecological examination for screening for sexually transmitted infections in sexually active adolescents. **Biomed Central**, v.7, n.8, p. 1-6, 2009.

HAFNER, Louise. Pathogenesis of Fallopian tube damage caused by *Chlamydia trachomatis* infections Review. **Contraception**, 2015.

HAMMERSCHLAG, Margaret; KOHLHOFF, Stephan. Treatment of *chlamydial* infections. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 13, n. 4, p. 545–552, 2012.

JALIL, Emília. et al. Prevalência da infecção por clamídia e gonococo em gestantes de seis cidades brasileiras. **Rev Bras Ginecol Obstret**, v. 30, n. 12, p. 1–6, 2008.

JAYARAM, A. et al. Autophagy and female genital tract infections: New insights and research directions. **BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 121, n. 7, p. 801–808, 2014.

KAKEHASI, Fabiana. et al. Vírus da imunodeficiência humana adquirida / HIV no período neonatal. **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 24, n. 2, p. 241–247, 2014.

KEEGAN, Mary; DIEDRICH, Justin; PEIPERT, Jeffrey. *Chlamydia trachomatis* Infection: Screening and Management. **J Clin Outcomes Manag**, v. 21, n.1, p. 30-38, 2014.

KRIESEL, John. et al. Multiplex PCR testing for nine different sexually transmitted diseases. **International Journal of STD & AIDS**, v. 0, n. 0, p. 1–8, 2015.

LANDIS, JR; KOCH, GG. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics** 33: 159-174. 1977.

LANJOUW, E. et al. Background review for the “ 2015 European guideline on the management of *Chlamydia trachomatis* infections ”. **International Journal of STD & AIDS**, v. 0, n. 0, p. 1–25, 2015.

LEVI, Angelique. et al. Comparing Two Methods of Detection for *Chlamydia trachomatis* in Liquid-Based Papanicolaou Tests. **Am J Clin Pathol**, v. 138, p. 236 – 240, 2012.

LI, Zhuoyang. et al. *Chlamydia* screening in pregnancy in Australia: Integration of national guidelines into clinical practice and policy. **Australian and New Zealand**

Journal of Obstetrics and Gynaecology, v. 53, n. 4, p. 338–346, 2013.

LIMA, Yanna. et al. Sexually transmitted bacterial infections among young women in Central Western Brazil. **International Journal of Infectious Diseases**, v. 25, p. 16-21, 2014.

LJUBIN-STERNAK, Sunčanica; MEŠTROVIĆ, Tomislav. *Chlamydia trachomatis* and Genital Mycoplasmas: Pathogens with an Impact on Human Reproductive Health. **Journal of Pathogens**, v. 2014, p. 1–15, 2014.

MACHADO, Márcia. et al. Prevalence of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents from Salvador, Brazil. **Braz J Infect Dis**, v.16, p.188-191. 2012.

MAFOKWANE, Tshepo; SAMIE, Amidou. Prevalence of *chlamydia* among HIV positive and HIV negative patients in the Vhembe District as detected by real time PCR from urine samples. **BMC Research Notes**, v. 9, n. 1, p. 102, 2016.

MAHONY JB. et al. Comparison of plasmid and chromosome-based polymerase chain reaction assays for detecting *Chlamydia trachomatis* nucleic acids. **J Clin Microbiol**, v.31, p. 1753–1758. 1993.

MALHOTRA, Meenakshi. et al. Genital *Chlamydia trachomatis*: An update. **Indian Journal of Medical Research**, p. 303-316, 2013.

MASCHA, Simon. et al. High prevalence of curable sexually transmitted infections among pregnant women in a rural county hospital in Kilifi, Kenya. **PLOS ONE**, v. 12, n. 3, p. 1-16, 2017.

MCKECHNIE, Michelle. et al. Simultaneous identification of 14 genital microorganisms in urine by use of a multiplex PCR-based reverse line blot assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, n. 6, p. 1871–1877, 2009.

MERCER, Brian. Preterm premature rupture of the membranes: Current approaches to evaluation and management. **Obstetrics and Gynecology Clinics of North America**, v. 32, n. 3, p. 411–428, 2005.

MEYER, Thomas. Diagnostic Procedures to Detect *Chlamydia trachomatis* Infections. **Microorganisms**, 2016.

MISHORI, Ranit; MCCLASKEY, Erica; WINKLERPRINS, Vince. *Chlamydia trachomatis* Infections: Screening, Diagnosis, and Management. **American Family Physician**, v. 86, n. 12, p. 1127–1132, 2012.

MOHAMMADPOUR, Mehrdad. et al. Trachoma : Past , present and future. **Journal of Current Ophthalmology**, v. 28, n. 4, p. 165–169, 2016.

MOODLEY, Dhayendre. et al. Pregnancy Outcomes in Association with STDs including genital HSV-2 shedding in a South African Cohort Study. **Sex Transm Infect**, v. 0, p. 1-7, 2017.

MORONI, Rafael; TRISTÃO, Edson; URBANETZ, Almir. Infecção por vírus herpes simples na gestação : aspectos epidemiológicos , diagnósticos e profiláticos. **Femina**, v. 39, n. 7, p. 3–8, 2011.

MOTTA, Valter. Bioestatística. 2 ed. Caxias do Sul, RS:Educs, 2006.

MOULDER, J. Interaction of *Chlamydiae* and host cells in vitro. **Microbiology Reviews**,v.55, n.1, p. 143-190. 1991.

MS/SVS/DASIS – Sistema de Informações Sobre Nascidos Vivos – **SINASC**, 2013.

MURRAY PR; ROSENTHAL KS; PFALLER, MA. Clamidiáceas. **Microbiologia Médica**. 5ª. ed Rio de Janeiro, Elsevier, p. 455-463. 2006.

NAKUBULWA, Sarah. et al. Genital infections and risk of premature rupture of membranes in Mulago Hospital, Uganda: a case control study. **BMC research notes**, v. 8, p. 573, 2015.

NANS, Andrea; SAIBIL, Helen; HAYWARD, Richard. Pathogen-host reorganization during *Chlamydia* invasion revealed by cryo-electron tomography. **Cellular Microbiology**, v. 16, n. 10, p. 1457–1472, 2014.

NEVES, Dária. et al. Evaluation of screening for *Chlamydia trachomatis* among young women in primary health care services in Manaus, Amazonas State, Brazil. **Cad. Saúde Pública**, v. 32, n. 10, p.1-10, 2016.

NEWMAN, Lori. 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.

OLIVEIRA, Fabíola. et al. Sexually transmitted infections, bacterial vaginosis, and candidiasis in women of reproductive age in rural Northeast Brazil: a population-based study. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, Rio de Janeiro, Setembro, v. 102, n.6, p. 751-756, 2007.

OLIVEIRA, Felipe. et al. Infecção pelo citomegalovírus na gestação : uma visão atual. **Femina**, v. 39, n.11. 2011.

ONG, J.J. et al. *Chlamydia* screening for pregnant women aged 16–25 years attending an antenatal service: a cost-effectiveness study. **An International Journal of Obstetricians and Gynaecologists**, v. 123, p. 1194 – 1202. 2016.

Organização Mundial de Saúde. Doenças Sexualmente transmissíveis no Brasil. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/dst-no-brasil>>. Acesso em: 18 de Março de 2016.

OVALLE, Alfredo. et al. Prevalencia de infecciones de transmisión sexual en mujeres embarazadas atendidas en un hospital público de Chile. **Revista Chilena Infectol**, p. 517–520, 2012.

PANATO, Donatela. et al. *Chlamydia trachomatis* prevalence and chlamydial/HPV co-infection among HPV-unvaccinated young Italian females with normal cytology. **Human Vaccines & Immunotherapeutics**, v. 11, n. 1, p. 270-276, 2015.

PANTOJA, Márcia. et al. Prevalência de infecção por *Chlamydia trachomatis* em mulheres candidatas à fertilização in vitro em serviço público de referência do Estado de São Paulo. **Rev Bras Ginecol Obstet**, v.34, n.9, p. 425-31. 2012.

PAULA, Francisco. et al. Molecular Detection of *Chlamydia trachomatis* and HPV Infections in Cervical Samples With Normal and Abnormal Cytopathological Findings. **Diagnostic Cytopathology**, v. 35, n. 4, 2007.

PAWLIKOWSKA-WARYCH, Malgorzata; ŚLIWA-DOMINIAK, Joanna; DEPTUŁA, Wiesław. *Chlamydial* plasmids and bacteriophages. **Acta biochémica polonica**, v.62, 2015.

PIAZZETTA, R. et al. Prevalência da infecção por *Chlamydia Trachomatis* e *Neisseria Gonorrhoea* em mulheres jovens sexualmente ativas em uma cidade do Sul do Brasil. **Ver Bras Ginecol Obstet**, v.33, n.11, p.328-33, 2011.

PICCININI, Cesar. et al. Gestação e a Constituição da Maternidade. **Psicologia em Estudo**, v. 13, n. 1, p. 63–72, 2008.

PIÑEIRO, Luis. et al. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in parturient women in Gipuzkoa , Northern Spain. **SpringerPlus**, 2016.

PINTO, Valdir. et al. *Chlamydia trachomatis* Prevalence and Risk Behaviors in Parturient Women Aged 15 to 24 in Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 38, n. 10, p. 957- 961, 2011.

PINTO, Valdir. et al. Prevalence and factors associated with *Chlamydia trachomatis* infection among women with HIV in São Paulo. **Rev Soc Bras Med Trop**, v. 49, n. 3, p. 312-318, 2016.

POTROZ, Michael; CHO, Nam-Joon. Natural Products for the Treatment of Trachoma and *Chlamydia trachomatis*. **Molecules**, v.20, p. 4180-4203, 2015.

QUINN, Thomas; GAYDOS, Charlotte. Treatment for *Chlamydia* Infection — Doxycycline versus Azithromycin. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 26, p. 2572–2573, 2015.

RAMOS, M.C. et al. Estudo populacional de prevalência de *Chlamydia trachomatis* e *neisseria gonorrhoeae* por PCR em urina de mulheres residentes em vila popular atendida por serviço de saúde comunitária em Porto Alegre, Brasil. **DST J Bras Doenças Sex Transm**. V. 15, n.2, p. 20-5, 2003.

REY-LADINO, Jose; ROSS, Alen; CRIPPS, Allan. Immunity, immunopathology, and human vaccine development against sexually transmitted *Chlamydia trachomatis*. **Human vaccines & immunotherapeutics**, v. 10, n. December 2014, p. 37–41, 2014.

RIPA, Torvald; NILSSON, Peter. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. **Euro Surveillance**, v.11, n.11.2006.

ROCHA, Danielle. et al. “Hidden” sexually transmitted infections among women in primary care health services, Amazonas, Brazil. **International Journal of STD & AIDS**, p.1-9. 2014.

RODRIGUES, M. et al. Frequency of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* species in cervical samples. **Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 31, n.3, p. 237–241, 2011.

ROURS, Ingrid. et al. *Chlamydia trachomatis* and placental inflammation in early preterm delivery. **European Journal of Epidemiology**, v. 26, p. 421–428, 2011b.

ROURS, Ingrid. et al. *Chlamydia trachomatis* infection during pregnancy associated with preterm delivery: A population-based prospective cohort study. **European Journal of Epidemiology**, v. 26, p. 493–502, 2011a.

ROURS, Ingrid. et al. *Chlamydia trachomatis* respiratory infection in Dutch infants. **Archives of disease in childhood**, v. 94, n. 9, p. 705–7, 2009.

ROURS, Ingrid. et al. Cost-effectiveness analysis of *Chlamydia trachomatis* screening in Dutch pregnant women. **Pathogens and Global Health**, v. 110, n.8, p. 292 – 302, 2016.

RUSSELL, Marsha. et al. Infectivity acts as in vivo selection for maintenance of the *Chlamydial* cryptic plasmid. **Infection and Immunity**, v. 79, n. 1, p. 98–107, 2011.

SACHSE, Konrad. et al. Emendation of the family *Chlamydiaceae*: Proposal of a single genus, *Chlamydia*, to include all currently recognized species. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 38, n. 2, p. 99–103, 2015.

SAIKI, RK. Et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequence and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. **Science**, v.230, p. 1350-1354, 1985.

SALCEDO, Mila. et al. *Chlamydia trachomatis* e gestação. **Femina**, v. 36, p. 431–438, 2008.

SAMARAWICKREMA, N. et al. Prevalence of *Trichomonas vaginalis*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and human papillomavirus in a sexual health clinic setting in urban Sri Lanka. **International Journal of STD & AIDS**, 2014.

SANTOS, Cristina. et al. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. **The Brazilian journal of infectious diseases**, v. 7, p. 91–95, 2003.

SANTOS, Leonardo. et al. Alta incidência da infecção urogenital por *Chlamydia trachomatis* em mulheres parturientes de Belém , Estado do Pará , Brasil. **Rev Pan-**

Amaz Saude, v. 55, n. 91, p. 101–106, 2016.

SCHMIDT, Renylena. et al. Maternal *Chlamydia trachomatis* Infections and Preterm Births in a University Hospital in Vitoria, Brazil. **PLOS ONE**, v. 10, n. 10, p. 1-8, 2015.

SEADI, Claudete. et al. Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. **J Bras Patol med lab**, jun; v.38, n.2, p. 125-133.2002.

SHAO, Ruijin. et al. Quantitative analysis of hormones and inflammatory cytokines in *Chlamydia trachomatis*-infected women with tubal ectopic pregnancy and early intrauterine pregnancy. **Data in Brief**, v. 6, p. 135–142, 2016.

SHAW, Julie. et al. *Chlamydia trachomatis* infection increases fallopian tube PROKR2 via TLR2 and NF κ B activation resulting in a microenvironment predisposed to ectopic pregnancy. **American Journal of Pathology**, v. 178, n. 1, p. 253–260, 2011.

SILVA, Leila. et al. *Chlamydia trachomatis* infection among HIV-infected women attending an AIDS clinic in the city of Manaus, Brazil. **Braz j infect dis**, v.16, n.4, p.335–338. 2012.

SILVA, Ramón. et al. Frecuencia de la infección por *Chlamydia trachomatis* en un grupo de mujeres de la Región de La Araucanía, Chile. **Rev Chilena Infectol**, v. 30, p. 611–615, 2013.

SILVEIRA, Mariângela. et al. *Chlamydia trachomatis* infection in young pregnant women in Southern Brazil : a cross-sectional study. **Cad. Saúde Pública**, v. 33, n. 1, p. 1–9, 2017.

SILVEIRA, Mariângela. Rastreamento de Infecções por *Chlamydia trachomatis* em Mulheres Jovens – Reflexões sobre a Situação do Brasil. **DST - J bras Doenças Sex Transm**, v. 23, n. 2, p. 55–56, 2011.

SILVER, Bronwyn. et al. Trichomonas vaginalis as a Cause of Perinatal Morbidity. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 41, n. 6, p. 369–376, 2014.

SMITH, Lindsay; ANGARONE, Michael. Sexually Transmitted Infections. **Urologic Clinics of NA**, v. 42, n. 4, p. 507–518, 2015.

SOUZA, Ariani; BATISTA FILHO, Malaquias; FERREIRA, Luiz. Alterações hematológicas e gravidez. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 24, n. 1, p. 29–36, 2002.

SOUZA, Edna. et al. *Chlamydia trachomatis* : a major agent of respiratory infections in infants from low-income families. **Jornal de Pediatria**, v. 88, n. 5, p. 423–429, 2012.

STEPHENS, Richard. et al. Genome sequence of an obligate intracellular pathogen of humans: *Chlamydia trachomatis*. **Science (New York, N.Y.)**, v. 282, n. 5389, p. 754–9, 1998.

SULAIMAN, S. et al. Comparison of nested and ELISA based polymerase chain reaction assays for detecting *Chlamydia trachomatis* in pregnant women with preterm complications. **Tropical Biomedicine**, v. 31, n. 1, p. 36–45, 2014.

SUN, G. et al. Structural and functional analyses of the major outer membrane protein of *chlamydia trachomatis*. **J Bacteriol**, v.189, p. 6222-6235. 2007.

SUZUKI, Shunji. et al. Current Status of the Screening of *Chlamydia trachomatis* Infection Among Japanese Pregnant Women. **J Clin Med Res**, v.7, n. 7, p. 582-584 2015.

TAVARES, Mariana. et al. CITOMEGALOVÍRUS Existe Lugar para o Rastreo Durante a Gravidez ? v. 24, p. 1003–1008, 2011.

TAVARES, Mayara. et al. *Chlamydia trachomatis* infection and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. **Mol Bio Rep**, 2014.

TAYOUN, Ahmad. et al. A multiplex PCR assay for the simultaneous detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis*. **Experimental and Molecular Pathology**, p. 1–5, 2015.

TREJO, Maria. et al. Reporting detection of *Chlamydia trachomatis* DNA in tissues of neonatal death cases. **Jornal de Pediatria**, v.90, n.2, p. 182-189, 2014.

VALLADÃO, Antônio. et al. *Chlamydia trachomatis* e suas implicações na reprodução humana. v. 70, n. 4, p. 457–462, 2011.

VALLELY, Lisa. et al. Prevalence and risk factors of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* and other sexually transmissible infections among women attending antenatal clinics in three provinces in Papua New Guinea: a cross-sectional survey. **Sexual Health**, 2016.

VAN DER POL, B. *Chlamydia* diagnostic methods. In. International Handbook of Chlamydia (3^a Ed). Euromed Communications, Haslemere, UK, Pp. 39-54, 2008.

VAN DER POL, B. et al. Evaluation of the Digene Hybrid Capture II Assay with the rapid capture system for detection of *chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*. **J Clin Microbiol**, oct; v.40, n. 10, p. 3558-3364. 2002.

VERWEIJ, Stephan. et al. Serovar D and E of serogroup B induce highest serological responses in urogenital *Chlamydia trachomatis* infections. **BMC Infectious Diseases**, p. 1–7, 2014.

VIEIRA, S. Bioestatística - Tópicos avançados. 2 Ed, Rio de Janeiro: Elsevier, 2004.

WANGNAPI, R. A. et al. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Trichomonas vaginalis* infection in pregnant women in Papua New Guinea. **Sexually Transmitted Infections**, v. 91, n. 3, p. 194.1–200,2014.

WISE, Michelle; SADLER, Lynn; EKEROMA, Alec. *Chlamydia trachomatis* screening

in pregnancy in New Zealand: translation of national guidelines into practice. **J PRIM HEALTH CARE**, v. 7, n.1, p. 65-70, 2015.

WOHLMEISTER, Denise. et al. Association of human papillomavirus and *Chlamydia trachomatis* with intraepithelial alterations in cervix samples. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.111, n. 2, p. 106-113, 2016.

WHO.Global Incidence and Prevalence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections. Geneva: World Health Organization, 2012.

XU, Fengqiu.; DU, Xiaodong.; XIE, Lili. Vaginitis in pregnancy is related to adverse perinatal outcome. **Pak J Med Sci**, v. 31, n. 3, 2015.

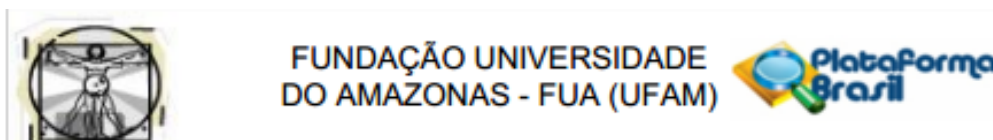
YANAMANDRA, Niraj; CHANDRAHARAN, Edwin. Anatomical and physiological changes in pregnancy and their implications in clinical practice. **Obstetric and Intrapartum Emergencies: A Practical Guide to Management**, p. 1–10, 2012.

Zuiverloon, Tahlita. et al. Optimization of nonmuscle invasive bladder cancer recurrence detection using a urine based FGFR3 mutation assay. **Journal of Urology**, v.186, n.2, p:707–712, 2011.

Zuiverloon, Tahlita. et al. A methylation assay for the detection of non-muscle-invasive bladder cancer (NMIBC) recurrences in voided urine. **BJU International**, v.109, n.6, p:941–948, 2012.

ANEXOS

Anexo 1 - Parecer do CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: EPIDEMIOLOGIA DAS INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS EM

Pesquisador: Danielle Albuquerque Pires Rocha

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 50907415.3.0000.5020

Instituição Proponente: Instituto de Saúde e Biotecnologia - ISB

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.329.807

Apresentação do Projeto:

Resumo:

Introdução: As infecções sexualmente transmissíveis são afecções ubíquas e bastante prevalentes em todo mundo. Esses patógenos podem ser infecciosos, porém, sem a presença de sintomas, e assim a transmissão ocorre, com frequência, em pessoas que não percebem que têm uma infecção, funcionando como reservatórios silenciosos do patógeno. As implicações das DST em gestantes são bastante graves, pois podem colocar em risco a saúde e a sobrevivência do feto. Quando não diagnosticadas e tratadas adequadamente podem culminar com aborto, gravidez ectópica, parto prematuro ou ainda serem transmitidas de mãe para filho intra-útero ou no momento do parto (transmissão vertical), levando sérios transtornos para o neonato, podendo causar conjuntivite, infecções em orofaringe, otite média, infecções do aparelho respiratório (pneumonia), dentre outras afecções. **Objetivo:** O objetivo desta pesquisa é estudar a epidemiologia das infecções sexualmente transmissíveis em mulheres gestantes atendidas na Rede Municipal de Saúde do município de Coari, Amazonas, e correlacionar estas infecções com algumas características e desfechos clínicos. **Metodologia:** Gestantes atendidas nas Unidades Básicas de Saúde e no Hospital Regional de Coari serão convidadas a participar, respondendo a um questionário e fornecendo uma amostra de urina e de raspado vaginal. Será extraído o DNA das amostras e será pesquisado através de técnicas moleculares de diagnóstico o



FUNDAÇÃO UNIVERSIDADE
DO AMAZONAS - FUA (UFAM)



Continuação do Parecer: 1.329.807

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Diante do Exposto somos pela Aprovação

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_608363.pdf	04/11/2015 19:53:38		Aceito
Folha de Rosto	FolhaderostoAssinada.pdf	04/11/2015 19:53:09	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito
Outros	AnuenciaSEMSA.pdf	17/10/2015 18:15:45	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito
Outros	TermoDeAssentimento.docx	17/10/2015 18:13:29	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	17/10/2015 18:12:36	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito
Outros	Questionario.docx	17/10/2015 18:11:50	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoDetalhado.docx	17/10/2015 18:10:25	Danielle Albuquerque Pires Rocha	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MANAUS, 19 de Novembro de 2015

Assinado por:
Eliana Maria Pereira da Fonseca
(Coordenador)

Anexo 2 - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos a Senhora para participar da Pesquisa “EPIDEMIOLOGIA DE INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS EM GESTANTES NO MUNICÍPIO DE COARI, AMAZONAS”, sob a responsabilidade da pesquisadora Dra. Danielle Albuquerque Pires Rocha, a qual pretende identificar as infecções por patógenos sexualmente transmissíveis em gestantes do município de Coari. Sua participação é voluntária e se dará respondendo a um questionário que será aplicado por um técnico de saúde, além de coleta de material do colo do útero e/ou vaginal e urina.

O material coletado será utilizado unicamente para os objetivos da pesquisa e serão encaminhados para realização de exames especializados para pesquisa de patógenos sexualmente transmissíveis. Necessito de sua autorização para coletar, guardar e usar este material coletado para pesquisas futuras de modo a tornar possível o delineamento de estudos de prevalência e associações de infecções por patógenos sexualmente transmissíveis (DST) com algumas condições clínicas, tais como parto prematuro, aborto, baixo peso do bebê, dentre outras coisas, que responderão a novas perguntas científicas (segundo consta na resolução 441/11 do Conselho Nacional de Saúde). Os dados e materiais utilizados na pesquisa ficarão sob a guarda do pesquisador por um período de no mínimo cinco anos, após isso serão destruídos ou mantidos na instituição. Caso o material coletado não se encontre em condições de armazenagem, necessito de sua autorização para o descarte dos mesmos. A senhora será informada quanto a perdas ou destruição de suas amostras biológicas. Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são mínimos, sendo apenas pequeno incômodo no momento da coleta do material biológico. Se você aceitar participar, estará contribuindo para o aumento no conhecimento sobre a infecção por patógenos sexualmente transmissíveis e sua relação com algumas condições clínicas nas gestantes.

Se depois de consentir sua participação a senhora desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, bem como retirar o consentimento de guarda e utilização de sua amostra biológica independente do motivo e sem nenhum prejuízo a sua pessoa, nem do seu tratamento ou atendimento no serviço de saúde. A Sra. não terá nenhuma despesa e também não receberá nenhuma remuneração. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados em artigos científicos, mas sua identidade não será divulgada, sendo guardada em sigilo. Para qualquer acesso aos resultados da pesquisa ou outra informação, a Sra poderá entrar em contato com os pesquisadores no endereço Rua Estrada Coari/Maniá, N.305, Bairro Espírito Santo, Universidade Federal Do Amazonas-UFAM, Coari/AM pelo telefone (97) 3561-2363.

Consentimento Pós-Infomação

Eu, _____, fui informada sobre o que os pesquisadores pretendem realizar e porque precisam da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto. Este documento é emitido em duas vias que serão ambas assinadas por mim e pelo pesquisador, ficando uma via com cada um de nós.

Haverá necessidade de novo consentimento para uma nova pesquisa com o material armazenado ()

Dispensar o novo consentimento a cada pesquisa ()

Coari, ___/___/___

Assinatura da participante - Paciente

Assinatura da pesquisador



Anexo 3 – Termo de Assentimento



UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO DE SAÚDE E BIOTECNOLOGIA

Termo de assentimento

Você está sendo convidada a participar da pesquisa “Epidemiologia de infecções sexualmente transmissíveis em gestantes no município de Coari, Amazonas”. Seus pais já permitiram que você participe, mas você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu, e não terá nenhum problema se desistir. Nesta pesquisa, estamos estudando as infecções por patógenos sexualmente transmissíveis e algumas situações clínicas nas gestantes, tais como parto prematuro, aborto, peso do bebê, dentre outras coisas.

Todas as adolescentes grávidas que estiverem fazendo pré-natal nas Unidades Básicas de Saúde de Coari ou que derem entrada no Hospital Regional para ter bebê serão convidadas a participar também. Neste momento, se você concordar em participar, responderá um questionário e cederá um pouco de urina ou será feita uma pequena coleta de raspado de colo de útero ou vagina. Os riscos decorrentes de sua participação na pesquisa são mínimos, sendo talvez um pequeno incômodo no momento da coleta do material para o exame.

O uso do material coletado será utilizado unicamente para os objetivos da pesquisa. Ninguém saberá que você está participando da pesquisa, não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sem identificar os nomes das pessoas que participaram da pesquisa.

Se você tiver alguma dúvida, ou quiser desistir de participar a qualquer momento, você pode ligar para o telefone (97)35612363 e falar com a Dra. Danielle Albuquerque Pires Rocha, ou ainda se dirigir à Universidade Federal do Amazonas na Es. Coari Mamiá, 305, Espírito Santo, Coari/AM.

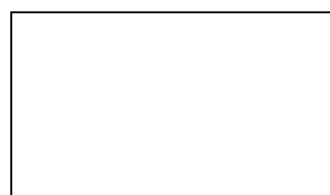
Eu _____ aceito participar da pesquisa “Epidemiologia de infecções sexualmente transmissíveis em gestantes do município de Coari, Amazonas” que tem com objetivo “Estimar a frequência da infecção por patógenos sexualmente transmissíveis em gestantes atendidas no Hospital Regional de Coari, no município de Coari”. Entendi as coisas ruins e as coisas boas que podem acontecer. Entendi que posso dizer “sim” e participar, mas que, a qualquer momento, posso dizer “não” e desistir que não vai haver nenhum problema para mim. Os pesquisadores tiraram minhas dúvidas e conversaram com os meus responsáveis.

Recebi uma cópia deste termo de assentimento e li e concordo em participar da pesquisa.

Coari, ___/___/___

Assinatura da participante - Paciente

Assinatura da pesquisador



Anexo 4 – Questionário**QUESTIONÁRIO**

Ficha n° _____

Epidemiologia das infecções sexualmente transmissíveis em gestantes no município de Coari, Amazonas, Brasil**IDENTIFICAÇÃO**

1. Nome: _____
2. Data da abordagem: ____/____/____ 3. Idade: _____ 4. Data de nascimento: ____/____/____
5. Naturalidade: _____ 6. Telefones: _____
7. Endereço: _____
8. Unidade de Saúde _____

ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS

9. Qual é o seu grau de escolaridade?
- 9.1. Ensino fundamental incompleto () 9.2. Ensino fundamental completo ()
- 9.3. Ensino médio completo () 9.4. Ensino superior completo () 9.5. Pós-graduação ()
10. Ocupação: _____
11. Qual a renda total da sua família? _____
12. Qual é a sua renda pessoal? _____

ASPECTOS DE HISTÓRIA CLÍNICA/DST

13. Qual é o seu estado conjugal?
- 13.1. Solteira () 13.2. Casada/união estável () 13.3. Divorciada/Separada/Viúva ()
14. Quantas gestações a senhora já teve? _____
15. A senhora já teve algum aborto? _____
16. Se já, quantos foram espontâneos? _____
17. Se já, quantos foram provocados? _____
18. Qual idade do primeiro parto ou aborto? _____
19. Teve algum parto prematuro(<37 semanas)? 19.1. Sim () 19.2. Não ()
20. Número de filhos? _____
21. Com que idade teve sua primeira relação sexual? _____
22. Nestes últimos 12 meses a senhora teve relação sexual com quantos parceiros? _____
23. Quantos parceiros sexuais a senhora já teve ao longo da sua vida? _____
24. Com que frequência a senhora usa(va) preservativo com este(s) parceiro(s) ? _____

- 24.1. Sempre () 24.2. Às vezes () 24.3. Nunca ()
25. Se não usava, qual o motivo? _____
26. A senhora usa algum método anticoncepcional (exceto camisinha)? 26.1. Pílula (anticoncepcional oral) ()
- 26.2. Anticoncepcional injetável () 26.3. Dispositivo intra-uterino (DIU) () 26.4. Laqueadura de trompas ()
- 26.5. Coito interrompido () 26.6. Outro () Especificar: _____
27. A senhora já teve alguma doença sexualmente transmissível? 27.1. Sim () 27.2 Não ()
28. Se sim, qual é esta doença? 28.1. HPV (doenças relacionadas) () 28.2. Hepatite B ()
- 28.3. Herpes genital () 28.4. Clamídia () 28.5. Gonorréia () 28.6. Tricomoníase ()
- 28.7. Sífilis () 28.8. HIV () 28.9. Outra () Especificar: _____
29. A senhora já usou ou usa algum tipo de droga injetável? 29.1. Sim () 29.2. Não ()
30. A senhora se relaciona ou já se relacionou sexualmente com algum parceiro (fixo ou eventual) que você sabia ser usuário de algum tipo de droga injetável? 30.1. Sim () 30.2. Não ()
31. A senhora já fez alguma tatuagem no seu corpo? 31.1. Sim () 32.2. Não ()
32. A senhora trabalha em alguma Unidade de Saúde (UBS, hospital, consultório odontológico, etc)? 32.1. Sim () 32.2. Não ()
33. Está apresentando alguma queixa clínica no momento? 33.1. Sim () 33.2. Não ()
34. Se sim, quais? 34.1. Úlceras genitais () 34.2. Dificuldade de urinar () 34.3. Corrimento vaginal ()
- 34.4. Corrimento uretral () 34.5. Coceira () 34.6. Dor pélvica () 34.7. Sangramento após relação sexual () 34.8. Outras () Especificar: _____
35. A senhora fuma? 35.1. Sim () 35.2. Não ()
36. Se sim, com que frequência? 36.1. Ocasionalmente (às vezes) () 36.2. Diariamente ()
37. Há quanto tempo (anos ou meses)? _____ 38. Quantos cigarros por dia? _____
39. A senhora ingere bebida alcoólica mais de três vezes na semana? 39.1. Sim () 39.2. Não ()
40. A senhora toma algum medicamento prescrito antes do pré-natal (antes da gravidez)? 40.1 Sim () 40.2 Não ()
41. Se sim, qual é o tipo? 41.1. Anti-hipertensivo () 41.2. Para controle do diabetes ()
- 41.3. Antiinflamatório () 41.4. Analgésico () 41.5. Outro () Especificar: _____
42. Atualmente a senhora está tomando algum medicamento prescrito no pré-natal (durante a gravidez)? 42.1 Sim () 42.2 Não ()
43. Se sim, qual é o tipo? 43.1. Anti-hipertensivo () 43.2. Para controle do diabetes () 43.3. Antibiótico ()
- 43.4. Antifúngico () 43.5. Antiinflamatório () 43.6. Analgésico () 43.7. Outro ()
- Especificar: _____

GRUPO 1 e 2

44. Semanas de gestação: _____ 45. Data da última menstruação: ____/____/____
46. Parâmetro utilizado para considerar a duração da gestação? 46.1. DUM () 46.2. USG ()
47. Quantas consultas de pré-natal já fez? _____
48. Hipertensão durante a gravidez? 48.1. Sim () 48.2. Não ()
49. Diabetes gestacional? 49.1. Sim () 49.2. Não ()

50. Teste rápido HIV: 50.1. HIV positivo () 50.2. HIV negativo () 50.3. Não fez () 50.4. Discordantes ()
51. Sorologia Anti-HIV: 51.1. Anti- HIV positivo () 51.2. Anti-HIV negativo () 51.3. Não fez ()
52. Teste rápido Sífilis: 52.1. Sífilis positivo () 52.2. Sífilis negativo () 52.3. Não fez () 52.4. Discordantes ()
53. Sorologia VDRL: 53.1. VDRL positivo () 53.2. VDRL negativo () 53.3. Não fez ()
54. Teste rápido Hepatite B: 54.1. HBV positivo () 54.2. HBV negativo () 54.3. Não fez ()
55. Sorologia Hepatite B: 55.1. HBsAg positivo () 55.2. HbsAg negativo () 55.3. Anti HBcT positivo () 55.4. Anti HBcT negativo 55.5. IgM positivo () 55.6. IgM negativo () 55.7. Anti HBs positivo () 55.8. Anti HBs negativo 55.9. Não fez ()
56. Teste rápido Hepatite C: 56.1. Hep C positivo () 56.2. Hep C negativo () 56.3. Não fez ()
57. Sorologia Hepatite C: 57.1. Anti HCV-positivo () 57.2. Anti HBV negativo ()
58. Sorologia Toxoplasmose: 58.1. Toxo positivo () 58.2. Toxo negativo () 58.3. Não fez ()
59. Sorologia Citomegalovírus Humano: 59.1. HCMV positivo () 59.2. HCMV negativo () 59.3. Não fez ()

INFORMAÇÕES SOBRE O PARTO e RECEM-NASCIDO (Grupo 2)

60. Profissional que realizou o parto? 60.1. Médico obstetra () 60.2. Médico não obstetra () 60.3. Médico não especificado () 60.4. Enfermeira/Obstetiz () 60.5. Outro ()
Especificar _____
- 61 Tipo de parto: 61.1. Natural () 62.2. Cesariano ()
63. Se parto cesariano, por que? _____

64. Duração da gestação considerada pelo profissional que fez o parto? _____ Semanas
65. Parâmetro utilizado para considerar a duração da gestação? 65.1. DUM () 65.2. USG()
66. Intercorrências no parto dignas de nota? 66.1. Sim () 66.2. Não ()
67. Se sim, especificar: _____
68. Pré-clampsia? 68.1 Sim () 68.2. Não ()
69. Feto nascido vivo? 69.1. Sim () 69.2. Não ()
70. Peso do recém-nascido: _____
71. Tamanho do recém-nascido: _____
72. Relato de infecção urinária atual ou durante a gestação? 72.1. Sim () 72.2. ()
73. Se sim, foi tratada no pré-natal? 73.1. Sim () 73.2. Não ()

Anexo 5 - Protocolo de extração de DNA genômico de células uroteliais excretadas na urina com QIAamp® Viral RNA Mini Kit.

Protocolo com modificação no tempo de incubação em temperatura ambiente das amostras após colocado o tampão de lise e na velocidade e no tempo da centrifugação.

Antes de começar o processo de extração adicionar etanol absoluto no AW1 e AW2, Conforme a quantidade que o fabricante recomenda. As amostras estando devidamente separadas, seguir protocolo abaixo:

1. Adicionar 560 µl de tampão AVL contendo RNA transportador em 140 µl de *pellets* de urina
2. Incubar a temperatura ambiente (15-25° C) por 30 min
3. Dá um spin
4. Adicionar 560 µl de etanol (96-100%) - (Gelado)
5. Agitar no vórtex por 15 segundos
6. Dá um spin
7. Pipetar a mistura numa coluna DNase spin
8. Centrifugar a 8000 rpm por 2 min
9. Descartar o filtrado e posicionar a coluna em novo microtúbulo de 2mL
10. Adicionar 500 µl de tampão AW1
11. Centrifugar a 8000 rpm por 2 min
12. Repetir o passo 9
13. Adicionar 500 µl de tampão AW2
14. Centrifugar a 12000 rpm por 4 min
15. Repetir o passo 9
16. Adicionar 120 µl de tampão AVE no centro da membrana da coluna e incubar por 1 min
17. Centrifugar a 8000 rpm por 4 min
18. Descartar a coluna DNase spin, fazer alíquotas e armazenar o filtrado contendo o DNA extraído a -20 °C.

Anexo 6 - Protocolo de extração de DNA genômico de amostras cérvico vaginais com QIAamp® DNA Mini Kit.

Protocolo com modificação na velocidade e no tempo da centrifugação.

Antes de começar o processo de extração adicionar etanol absoluto no AW1 e AW2, Conforme a quantidade que o fabricante recomenda. As amostras estando devidamente separadas, seguir protocolo abaixo:

1. Adicionar em 200 µL da amostra, 20µL de proteinase K e 200 µL de tampão de lise (**AL**).
2. Agitar no vórtex durante 15 segundos
3. Incubar a 30 min a 56° C no termobloco.
4. Dá um spin
5. Adicionar 200 µL de etanol (Gelado)
6. Agitar no vórtex durante 15 segundos
7. Dá um spin
8. Transferir o lisado para a coluna DNase spin
9. Centrifugar a 8.000 rpm por 2 minutos.
10. Trocar o coletor
11. Adicionar 500 µL do tampão de lavagem (AW1)
12. Centrifugar a 8.000 rpm por 2 minutos.
13. Trocar o coletor
14. Adicionar 500 µL do tampão de lavagem (AW2),
15. Centrifugar a 12.000 rpm por 4 minutos
16. Trocar o coletor
17. Adicionar 140 µL do tampão de eluição (AE).
18. Incubar 1 minuto a temperatura ambiente
19. Centrifugar a 12.000 rpm por 3 minutos.
20. Jogar fora coluna DNase spin (cuidado para não jogar o coletor, pois é nele que está o DNA)
21. Ao finalizar a extração, fazer as alíquotas e armazenar a -20° C.