

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS PROFISSIONAL

**PREVALÊNCIA E GENÓTIPOS DA INFECÇÃO ENDOCERVICAL POR
Chlamydia trachomatis EM
MUNICÍPIOS DO ARQUIPÉLAGO DO MARAJÓ, AMAZÔNIA, BRASIL.**

MARIA RENATA MENDONÇA DOS SANTOS VIEIRA

Belém - Pará
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
MESTRADO EM ANÁLISES CLÍNICAS PROFISSIONAL

**PREVALÊNCIA E GENÓTIPOS DA INFECÇÃO ENDOCERVICAL POR
Chlamydia trachomatis EM
MUNICÍPIOS DO ARQUIPÉLAGO DO MARAJÓ, AMAZÔNIA, BRASIL.**

MARIA RENATA MENDONÇA DOS SANTOS VIEIRA

Dissertação apresentada ao Programa Pós-Graduação em Análises Clínicas da Universidade Federal de Pará como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas

Orientadora: Dra. Maisa Silva de Sousa

Belém - Pará
2015

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Análises Clínicas, do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, como requisito para grau de Mestre em Análises Clínicas.

Orientadora: Dra. Maisa Silva de Sousa - PRESIDENTE
Laboratório de Biologia Celular e Molecular, NMT- UFPA

Banca examinadora: Dr. José Ricardo dos Santos Vieira - MEMBRO
Laboratório de Análises Clínicas, ICB-UFPA

Dr. Luiz Fernando Almeida Machado - MEMBRO
Laboratório de Virologia, ICB-UFPA

Dra. Rosimar Neris Martins Feitosa - MEMBRO
Laboratório de Virologia, ICB-UFPA

Dra. Vânia Nakauth Azevedo - SUPLENTE
Laboratório de Virologia, ICB-UFPA

Belém, 30 de Setembro de 2015

DEDICATÓRIA

Ao meu esposo, por ter permanecido ao meu lado, me incentivando a percorrer este caminho, por compartilhar angústias e dúvidas, estendendo sua mão amiga em momentos difíceis.

AGRADECIMENTOS

A DEUS, por propiciar tantas oportunidades de estudo e por colocar em meu caminho pessoas amigas e preciosas.

A MINHA FAMÍLIA, especialmente ao meu esposo e incondicional companheiro, aos meus pais, minha irmã e parentes que se mantiveram incansáveis em suas manifestações de apoio e carinho.

A MINHA ORIENTADORA, um agradecimento carinhoso por todos os momentos de paciência, compreensão e competência.

AOS MEUS AMIGOS DE LABORATÓRIO E MESTRADO, que compartilharam comigo esses momentos de aprendizado, especialmente à Dra. Mihoko, Josinaide, Ruth Merien, Leonardo, Henrique, Louise, Rodrigo e Danilo. Rimos, choramos e ajudamos mutuamente.

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 REFERENCIAL TEÓRICO..... | 1 |
| 1.1 EPIDEMIOLOGIA | 1 |
| 1.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS | 2 |
| 1.3 CICLO BIOLÓGICO DE DESENVOLVIMENTO..... | 3 |
| 1.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL | 4 |
| 1.5 INFECÇÃO POR CHLAMYDIA TRACHOMATIS NA MULHER..... | 5 |
| 1.6 FATORES DE RISCO..... | 6 |
| 1.7 PREVENÇÃO E TRATAMENTO..... | 7 |
| 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 8 |
| 3. ANEXO – ARTIGO | 13 |

1 REFERENCIAL TEÓRICO

1.1 EPIDEMIOLOGIA

Segundo a Organização Mundial da saúde (OMS, 2007), estima-se que ocorram, tanto em homens quanto em mulheres de 15 a 49 anos, 340 milhões de novos casos de IST curáveis a cada ano, como Sífilis, Gonorréia, Tricomoníase e doenças causadas por *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) e essas taxas continuam a aumentar em vários países, inclusive em países desenvolvidos.

A alta transmissibilidade, bem como a ausência de sintomatologia e as particularidades da infecção por *C. trachomatis*, contribuem para o crescimento exponencial da cadeia epidemiológica, atingindo principalmente jovens independentemente do nível socioeconômico (GONÇALVES *et al.* 2009).

Baseado na incidência anual, a probabilidade de infecção persistente, risco relativo de Doença Inflamatória Pélvica (DIP), custos relacionados aos testes e tratamento de complicações em longo prazo, associadas à persistência ou reinfecção, as recomendações para o rastreio de *C. trachomatis* e testes relacionados levam em consideração a relação de custo-eficácia significativa para a análise (DELPHINE, 2004).

Em rotinas empregadas para a pesquisa de Chlamydia em países desenvolvidos, demonstram em seus resultados importantes taxas de positividade. Nos Estados Unidos a cada ano, cerca de 19 milhões de pessoas adquirem uma infecção sexualmente transmissível e entre estas infecções está a infecção causada por *Chlamydia trachomatis*, que por se apresentar como uma infecção muitas vezes assintomáticas, leva ao favorecimento de complicações ginecológicas como, esterilidade, infertilidade e gravidez ectópica (ZEATI *et al.*, 2013).

No Brasil, estima-se que ocorram em torno de 1.967.200 novos casos por ano de infecção causada por *Chlamydia trachomatis* (BRASIL, 2008). Estudos epidemiológicos têm mostrado que na cidade de Manaus (Região Norte) a prevalência de *C. trachomatis* em mulheres é em torno de 11%, em Goiás (região Centro-Oeste) a

prevalência é próxima de 9.6% e em Curitiba (região Sul) a prevalência próximo de 10,7 % (BENZAKEN *et al.*, 2008; LIMA *et al.*, 2014; PIAZZETTA *et al.*, 2011).

1.2 CARACTERÍSTICAS GERAIS

Na classificação taxonômica o gênero *Chlamydia* pertence à família Chlamydiaceae, compreendendo quatro espécies: *C. trachomatis*, *C. pneumoniae*, *C. psittaci*, *C. pecorum*, sendo esta última não relacionada a infecções humanas (TRABULSI & MENEZI, 2005). Devido sua condição de parasita celular obrigatória e sua dimensão, essas bactérias foram classificadas como vírus, entretanto a complexidade estrutural acabou as aproximando na classificação das bactérias (EJZENBERG, 1991). Na espécie *C. trachomatis* são reconhecidos 19 genótipos, sendo que os genótipos A, B, Ba e C estão relacionados ao tracoma endêmico; os genótipos D-K relacionados com infecções sexualmente transmissíveis; e os genótipos L1, L2 e L3 relacionados ao linfogranuloma venéreo (JOSEPH *et al.*, 2012).

A bactéria possui proteínas de membrana, que lhe conferem estrutura rígida à parede, são elas, proteína de membrana externa (MOMP) apresenta 40 KDa, a proteína do complexo B (*OmcB*) e as proteínas de membrana externa do complexo A (*OmcA*) (MILLMAN *et al.*, 2001). O conhecimento que se tem hoje sobre as variantes do genoma da CT é baseado no antígeno de superfície primária, a proteína de membrana externa (MOMP), e no gene que a codifica, *ompA*. A classificação do sorotipo utiliza uma série de anticorpos contra diferentes epitopos na MOMP, mas pesquisas recentes tem utilizado abordagens para a genotipagem através da análise da sequência do gene *ompA* (HARRIS *et al.*, 2012; BYRNE, 2010).

Novas ideias sugerem o envolvimento da variabilidade da proteína MOMP na diferença de virulência entre as estirpes e a formação de mosaicos de MOMP relacionadas com o potencial patogênico entre as estirpes, sugerindo que a recombinação natural desempenha um papel na geração de variabilidade entre cepas do trato genital (BYRNE, 2010).

1.3 CICLO BIOLÓGICO DE DESENVOLVIMENTO

O ciclo de desenvolvimento da *C. trachomatis* é bifásico, a forma infecciosa é o corpúsculo elementar, possui morfologia semelhante a um esporo, extracelular e metabolicamente inativo. Ao se desenvolver no interior da célula hospedeira se reorganiza em corpúsculo reticular, forma não infecciosa (LEVINSON & JAWETZ, 2005; FIELDS & HACKSTADT, 2002).

A bactéria tem a característica de induzir atividade fagocitária da célula hospedeira e permanecer dentro da vesícula fagocítica, ao passo que inibe a fusão fagolisossoma (EJZENBERG et al., 1991). O ciclo tem duração de 24- 48 horas, durante o processo de infecção, o corpúsculo elementar é fixado na célula hospedeira através do glicosaminoglicano presente na superfície da Chlamydia (JAWETZ et al., 2000). As vesículas com os corpúsculos elementares se fusionam uma com a outra e escapam da via endocítica para a exocítica, os endossomas são redistribuídos na região perinuclear transportado por auxílio dos microtubúlos, a organização do vacúolo contendo vários corpúsculos elementares forma a chamada inclusão citoplasmática (WYRICK, 2000).

No interior do vacúolo o corpúsculo elementar se reorganizada para corpúsculo reticular, ocorre aumento de tamanho, seguida de sucessivas divisões binárias para a geração de novos corpúsculos elementares que serão liberados da célula hospedeira para a infecção de novas células (JAWETZ et al., 2000). O esquema abaixo representa as etapas do ciclo de biológico da *C. trachomatis*.

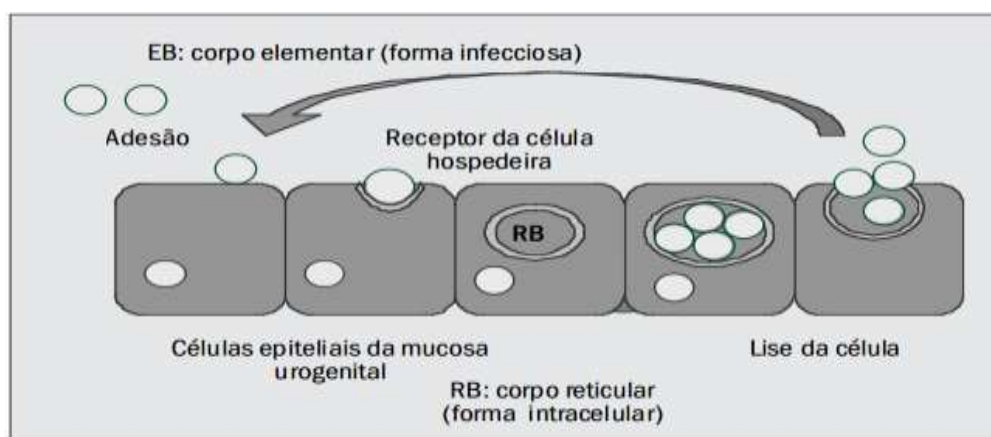


Figura 4. Ciclo biológico da Chlamydia trachomatis. Fonte: SEADI et al., 2002.

1.4 DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Ao se tratar da infecção causada pela *C. trachomatis*, o diagnóstico acaba sendo tardio, acarretando vários problemas e impactos negativos à saúde reprodutiva da mulher. Portanto, é necessário que haja disponibilidade de exames laboratoriais específicos e sensíveis para o diagnóstico efetivo da infecção (RONCONI & JEUKENS, 2012). Devido a infecção por *C. trachomatis* não apresentar sintomas específicos este parâmetro não pode ser considerado na hipótese diagnóstica (MELLESet *al.*, 2000).

A cultura é considerada o método “padrão ouro”, possui 100% de especificidade e sensibilidade de 80%. Entretanto a complexidade da técnica, demora em obtenção de resultado (tempo de inoculação), cuidados para o transporte, manter a viabilidade do micro-organismo e a limitação na apropriação de amostras desfavorece o método. O meio de cultura McCoy é o mais utilizado rotineiramente (MICHELONet *al.*, 2005; BE´BE´AR & BARBEYRAC 2009).

Os métodos que apresentam maior sensibilidade e especificidade e menor risco são os de detecção de ácido nucleico, entre esses a Reação em Cadeia Polimerase (PCR) é o mais difundido (SEADIet *al.*, 2002). A PCR de Chlamydia é um método de sensibilidade comparável com a cultura, apesar das chances de haver resultados falso-positivos (GEISLER,et *al.* 2008). Na PCR também pode ser empregada a genotipagem, que são reações de PCR mais específicas, apesar da perda de sensibilidade esta técnica é menos trabalhosa em comparação com a sorotipagem (SEADI & ROSSETTI, 1999). Testes de amplificação de ácido nucleico são recomendados para a detecção de infecções do trato reprodutivo feminino e masculino utilizando-se amostra de swab genital e urina, respectivamente, causadas por *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* (CDC, 2009).

A sorologia não é considerada o melhor método de diagnóstico na infecção por *C. trachomatis*, exceto nas infecções em neonatais, pacientes com infertilidade tubária e certos casos de infecções de LVG (CHERNESKY, 2005). No processo de infecção prévia os níveis séricos de anticorpos podem estar elevados e isto dificulta a distinção

temporal do processo infeccioso; reações cruzadas com outras espécies de *Chlamydia* também podem alterar o resultado (MICHELON *et al.*, 2005).

As principais técnicas de pesquisa de antígenos são a imunofluorescência direta (DFA) e ensaio imunoenzimático (EIA). A imunofluorescência utiliza anticorpos monoclonais reagentes específicos para proteína MOMP da *C. trachomatis*, possui sensibilidade de 80 a 90% e especificidade 98 a 99% com relação à cultura. O ensaio imunoenzimático detecta o LPS da *Chlamydia* a partir de anticorpos monoclonais ou policlonais marcados com uma enzima (CARDER *et al.*, 2006; BLACK, 1997).

1.5 INFECÇÃO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* NA MULHER

O microrganismo tem a capacidade de invadir o epitélio colunar e manter-se em estado latente na região endocervical, caso não haja diagnóstico e tratamento pode permanecer meses neste estado e ascender ao trato genital feminino assintomaticamente (CARVALHO *et al.*, 2004). Embora muitas mulheres não apresentem sintomas, algumas apresentam corrimento vaginal mucoide, inodoro e geralmente sem prurido externo. A infecção por *C. trachomatis* não pode ser distinguida de outras infecções urogenitais somente por sintomas (MILLER, 2006).

De diferentes formas a *C. trachomatis* pode ascender para o trato genital feminino. In vitro, a bactéria tem demonstrado capacidade de incidir no espermatozoide, desta forma possibilita rápida ascensão para o trato genital superior. A produção de muco cervical, característica que promove proteção contra microrganismos invasores, pode ser alterada devido flutuações hormonais durante o ciclo menstrual, o nível de hormônios durante a menarca induz um aumento de ectopia cervical em mulheres jovens, assim promove maior área susceptível a ação da bactéria. As contrações endoteliais, as quais são amplificadas durante o período de ovulação, também podem promover ascensão da *C. trachomatis* (TAYLOR & HAGGERTY, 2011).

As complicações decorrentes da infecção por *C. trachomatis* são mais graves na mulher, além do risco de afetar o recém-nascido. No trato genital superior a infecção pode causar esterilidade ou predispor à uma gravidez ectópica (LEVY, 2004). Nas manifestações clínicas as mulheres podem apresentar além dos quadros de ectopia, fragilidade com sangramento fácil da mucosa cervical, também é comum endocervicite

com muco cervical semelhante ao ocorrido na uretrite masculina (PASSOS& GIRALDO, 2010).

A infecção por *C. trachomatis* pode variar desde uma colonização assintomática até uma cervicite severa, que se não tratada pode levar uma infecção crônica causando processos com maior grau de gravidade como salpingite, podendo resultar em infertilidade ou gravidez ectópica (WUNDER & CAJUEIRO, 2005). O fator tubário é responsável por 15% a 35% dos casos de infertilidade, a infecção por *C. trachomatis* é a maior causa de Doença Inflamatória Pélvica (DIP) não associada à gestação ou procedimentos cirúrgicos. Mulheres com história de DIP têm de sete a dez vezes mais risco de gestação tubária (BONETTI & SILVA, 2008).

Infecções repedidas por *C. trachomatis* podem aumentar o risco de DIP, da mesma forma, infecções recorrentes também podem aumentar o risco de infertilidade e gravidez ectópica (HAGGERTY *et al.*, 2010). Outra complicação rara decorrente desta infecção não tratada é síndrome de Reiter: uma artrite severa que inclui uretrite (em mulheres ocasionalmente ocorre cervicite), conjuntivite e lesão mucocutânea indolor (MILLER, 2006).

1.6 FATORES DE RISCO

A maior incidência de infecção é em mulheres adolescentes e adultas jovens, a CDC recomenda a triagem em mulheres jovens com vida sexual ativa com idade de 25 anos ou mais jovens, também em mulheres mais velhas que apresentam fatores de risco como parceiro novo ou múltiplos parceiros sexuais e mulheres grávidas.

Dentre os principais fatores de risco no quadro de infecção pela *C. trachomatis* estão: início precoce da atividade sexual, ausência de parceiro fixo, multiplicidade de parceiros, baixa idade, concomitância com outra IST, não uso de preservativo, uso de contraceptivos hormonais orais em mulheres jovens e presença de ectopia cervical (WEIR, 2004; CARVALHO *et al.*, 2010).

Dentre características mais comuns em mulheres com cervicite por *C. trachomatis* estão: primeira relação sexual antes dos 17 anos, primeiro parceiro sexual mais velho e mais de um parceiro sexual (CARVALHO *et al.*, 2004).

1.7 PREVENÇÃO E TRATAMENTO

A natureza assintomática da *C. trachomatis* dificulta o diagnóstico, tratamento e prevenção de sequelas. No desenvolvimento de vacinas tem sido sugerido que um único antígeno não seria o ideal e que os antígenos de superfície são os principais candidatos para a vacina (TAYLOR& HAGGERTY, 2011).

Os programas de rastreamento são mais efetivos se as estratégias forem voltadas para a redução da incidência de novos casos de infecção na população, mesmo assim o rastreamento de infecções assintomáticas tem contribuído no controle da infecção através da prevenção de sequelas e complicações em longo prazo (GOTTLIEB *et al*, 2010).

O tratamento da infecção também envolve a prevenção de transmissão para o parceiro sexual, além disso, a CDC recomenda o uso antibiótico como azithromycin (dose única) ou doxycycline (duas vezes por dia durante uma semana).

Os riscos de infecção podem ser diminuídos através do correto uso de preservativo, porém a melhor maneira para garantir a prevenção seria não manter relações sexuais ou manter relações com um parceiro fixo e não infectado. Lavar a genitália, urinar ou fazer ducha interna após a relação sexual não previne IST. Três meses após o tratamento é necessária nova triagem para a confirmação de eliminação da infecção (CDC, 2012).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BE´BE´AR, C. & BARBEYRAC, B. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. **ClinMicrobiolInfect.15**: 4–10. 2009.
- BENZAKEN, A. S.; GALBAN, E.; MOHERDAUI, F. ; PEDROZA, V.; NAVECA, F. G. ; ARAÚJO, A.; SARDINHA, J. C. G. 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.** 2008. 20(1): 18-23.
- 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 / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Programa Nacional de DST e Aids. – Brasília: Ministério da Saúde, 2008.
- BYRNE, G. I. *Chlamydia trachomatis* Strains and Virulence: Rethinking Links to Infection Prevalence and Disease Severity. **The Journal of Infectious Diseases.** **201**:126–133. 2010.
- BLACK, C. M. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. **Clinicalmicrobiologyreviews.** **10**:160–184. 1997.
- BONETTI, T & SILVA, I. D. C. G. *Chlamydia trachomatis* reprodução. **Boletim da SBRH: artigos científicos.** **6**: 1 - 2. 2008
- CARDER, C.; MERCEY, D; BENN, P. *Chlamydia trachomatis*. **Sex Transm Infect** **82**: 10– 12. 2006
- CARVALHO, N. S.; ANGELI, R.; KRAJDEN, M. Prevalência dos agentes de cervicite: análise da literatura. **J bras Doenças Sex Transm.** **16**: 56-60. 2004.
- CARVALHO, N. S.; PEGORARO, M. G.; TAKIMURA, M.; OLIVEIRA JR, F. C. Prevalência da infecção por *Chlamydia trachomatis* em parturientes jovens atendidas em uma maternidade pública. **j bras doenças sex transm** **22**:141-144. 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. **Sexually Transmitted Disease Surveillance 2009**. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services. 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. National Center for HIV/AIDS, Viral Hepatitis, STD, and TB Prevention. Division of STD Prevention. 2012.

CHERNESKY M. A. The laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. **Can J Infect Dis Med Microbiol**. **16**: 39-44. 2005.

CRAVIOTO, M-C; MATAMOROS, O; ZAPATA, Y-V ; PEÑA, O ; LARA, E-G ; MARTÍNEZ, M; CASTELO, J ; OSORNIO, J-S. Prevalencia de anticuerpos anti-chlamydia Trachomatis y anti-neisseria gonorrhoeae em grupos de individuos de la población mexicana. **Rev. Salud Pública de México** .45.2003.

DE LIMA, Y. A. R.; TURCHIZ, M . L.; FONSECA, U. C.; GARCIA, F. L. B.; CARDOSO, F. A. B.; REIS, M. .N. G.; GUIMARAES, E. M.B.; ALVES, R. F. A.; CARVALHO, N. R.; COSTA ALVES, M. F. C. Sexually transmitted bacterial infections among young women in Central Western **Brazil**. **International Journal of Infectious Diseases** 25: 16–21. 2014.

EJZENBERG, B.; GRISI, S. J. E; BALDACCI, E. R. Infecções por Chlamydia trachomatis: I. aspectos biológicos e epidemiológicos / Chlamydia trachomatis infections: I. biological and epidemiological aspects. **Pediatrics (São Paulo)**;13:12-18, 1991.

FIELDS, K. A.; HACKSTADT, T. The Chlamydial inclusion: Escape from the Endocytic Pathway. **Annu. Rev. Cell Dev. Biol.** **18**: 221–45. 2002.

GEISLER, W. M.; WANG, C.; MORRISON, S. G.; BLACK, C. M.; BANDEA, C. I.; HOOK III, E. W. Natural history of Chlamydia in the interval between screening and treatment. **Sexually Transmitted Diseases**. **35**:119–123. 2008.

GOTTLIEB, S. L.; BERMAN, S. M.; LOW, N. Screening and Treatment to Prevent Sequelae in Women with Chlamydia trachomatis Genital Infection: How Much Do We Know? **The Journal of Infectious Diseases**. **201**: 156–167. 2010.

GONÇALVES, A. K. S.; SILVA; M. J. P. M. A.; ANDRADE, C. F.; PONTES, A. C.; DANTAS, G. L.; ELEUTÉRIO JUNIOR, J.; GIRALDO, P. C. Rastreamento universal para cervicite clamidiana: uma revisão sistemática. **Femina**. **37**: 535-541. 2009.

HAGGERTY, C. L.;GOTTLIEB, S. L.; TAYLOR, B. D.; LOW, N.; XU, F.; NESS, R.B. Risk of Sequelae after *Chlamydia trachomatis* Genital Infection in Women.**The Journal of Infectious Diseases**.**201**:134–155. 2012.

HARRIS, S R.;CLARKE, I. N.; SETH-SMITH, H. M. B.; SOLOMON, A. W.; CUTCLIFFE, L. T.; MARSH, P.; SKILTON, R. J.; HOLLAND, M. J.; MABEY, D.; PEELING, R. W.; LEWIS, D. A.; SPRATT, B. G.; UNEMO, M.; PERSSON, K.; BJARTLING, C.; BRUNHAM, R.; VRIES, H. J. C.; MORRÉ, S. A.; SPEKSNIJDER, A.; BÉBÉAR, C. M.; CLERC, M.; BARBEYRAC, B.; PARKHILL, J.; THOMSON, N. R. Whole-genome analysis of diverse *Chlamydia trachomatis* strains identifies phylogenetic relationships masked by current clinical typing. **Nature Genetics**. **44**: 413-420. 2012.

JAWETZ, MELNICK & ADELBERG. Clamídias. In: JAWETZ, MELNICK & ADELBERG. **Microbiologia Médica**. 21ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 2000. Cap. 28, p. 250- 273.

JOSEPH, S. J. & READ, T. .D. Genome-wide recombination in *Chlamydia trachomatis*. **Nature genetics**.**44**: 364- 366. 2012.

LEVINSON, W. & JAWETZ, E. Clamídias. In: LEVINSON, W. & JAWETZ, E. **Microbiologia médica e imunologia**. 7ª ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. Cap. 25, p. 171- 173.

LEVY, C. E. Manual de Microbiologia Clínica para o Controle de Infecção em Serviços de Saúde.**Edição Comemorativa para o IX Congresso Brasileiro de Controle de Infecção e Epidemiologia Hospitalar**. Salvador. 2004.

LIMA YA, TURCHI MD, FONSECA ZC, GARCIA FL, CARDOSO FAB, REIS MNG, GUIMARÃES EMB, ALVES RRF, CARVALHO NR, ALVES MFC. Sexually transmitted bacterial infections among young women in Central Western Brazil. *International Journal of Infectious Diseases*. 2014; 25:16-21.

MARCONE,V; RECINE,N; GALLINELLI,C; NICOSIA,R; LICHTNER,M; DEGENER,A-M; CHIARINI,F; CALZOLARI,E; VULLO,V. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* endocervical infection in a previously unscreened population in Rome, Italy, 2000 to 2009.**Euro Surveill** .**17**.2012 (no prelo).

MELLES, H. H. B.; COLOMBO, S.; LINHARES I. M.; SIQUEIRA, L. F.G.Avaliação de parâmetros para o diagnóstico laboratorial de infecção genital feminina pela

Chlamydia trachomatis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**33: 355-361. 2000.

MICHELON,J; BOENO,A; FILHO,E-V-C; STEIBEL,G; BERG,C; TORRENS,M-C-T.Diagnóstico da infecção urogenital por *Chlamydia trachomatis*. **Scientia Medica**.15: 97-102. 2005.

MILLER, K. E. Diagnosis and Treatment of *Chlamydia trachomatis* Infection.**American Family Physician**.73: 1411- 141.2006.

MILLMAN,K-L; TAVARE,S;DEAN,D.Recombination in the *ompA* gene but not the *omcB* gene of *Chlamydia* contributes to serovar-specific differences in tissue tropism, immune surveillance, and persistence of the organism. **Journal of Bacteriology**.183: 5997-6008. 2001.

PASSOS, M. R. L. & GIRALDO, P. C. Deesetologia no bolso: o que deve saber um profissional que atende DST. Niterói. 4: 176 p. 2010.

PIAZZETTA, R.C.P.; CARVALHO, N.S.; DE ANDRADE, R.P.; PIAZZETTA, G.; SILVIA REGINA PIAZZETTA, S.R.; ROSANGELA,C. Prevalência da infecção por Chlamydia Trachomatis e Neisseria Gonorrhoea em mulheres jovens sexualmente ativas em uma cidade do Sul do Brasil. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.** vol.33 no.11 Rio de Janeiro Nov. 2011

SEADI, C. F.; ORAVEC, R.; POSER, B. V.; CANTARELLI, V. V.; ROSSETTI, M. L. Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial** v. 38, n. 2, 2002.

SEADI, C. F. & ROSSETTI, M. L. Diagnóstico laboratorial de Chlamydia trachomatis. **Caderno de Farmácia**. 15: 59-64. 1999.

TAYLOR, B. D& HAGGERTY, C. L. Management of Chlamydia trachomatis genital tract infection: screening and treatment challenges. **Infection and Drug Resistance**. 4: 19–29. 2011.

TRABULSI L.R. & MARTINEZ, M.B. Chlamydia. In: **Microbiologia**.Trabulsi L.R. &Alterthum F. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap. 62, p. 441- 443.

WEIR E. Upsurge of genital Chlamydia trachomatis infection. **Canadian Medical Association Journal**12: 2004.

WUNDER, P. R. & CAJUEIRO, J. C. A imunologia e a imunopatologia das infecções causadas por *chlamydia trachomatis*: artigo de revisão. **Visão acadêmica**.6: 62- 71 2005

WYRICK, P. B. Intracellular survival by Chlamydia. **Blackwell Science Ltd, Cellular Microbiology**. 2: 275- 282. 2000.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Global Strategy for the Prevention and Control of Sexually Transmitted Infections. Genebra: 2006-2015: breaking the chain of STI transmission.1-60. 2007.

3. Anexo – artigo

Prevalência e genótipos da infecção endocervical por *Chlamydia trachomatis* em municípios do Arquipélago do Marajó, Amazônia, Brasil.

Maria Renata Mendonça dos Santos Vieira¹, Leonardo Miranda dos Santos¹, Danielle Murici Brasiliense², Mihoko Yamamoto Tsutsumi³, Ricardo Ishak⁴, Edna Aoba Yussi Ishikawa¹, Maisa Silva de Sousa¹

1 Laboratório de Biologia Celular e Molecular, Núcleo de Medicina Tropical, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.

2 Seção de Bacteriologia e Micologia, Instituto Evandro Chagas, Sistema de Vigilância e Saúde, Ananindeua, Pará, Brasil.

3 Laboratório de Citopatologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.

4 Laboratório de Virologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Pará, Belém, Pará, Brasil.

RESUMO

Introdução: *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) é a infecção sexualmente transmissível (IST) bacteriana mais prevalente no mundo. A característica assintomática da infecção, em cerca de 80% dos casos, e a falta de diagnóstico precoce podem determinar sequelas severas no aparelho reprodutivo feminino. No Norte do Brasil não há estudos sobre o rastreamento e a diversidade dos genótipos de *C. trachomatis* em infecções endocervicais. Este estudo objetivou verificar a prevalência e os genótipos de *C. trachomatis* circulantes em infecções endocervicais de mulheres que residem em municípios prioritários do Arquipélago de Marajó, Estado do Pará, região norte do Brasil. **Material e métodos:** O estudo incluiu 393 mulheres, investigadas entre Março de 2013 a Maio de 2015, em quatro municípios do Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil. Através da aplicação do questionário padronizado, foram investigadas variáveis sócio econômicas e comportamentais associadas à infecção. Foi coletada secreção endocervical para a pesquisa morfológica e molecular da bactéria. **Resultados:** A prevalência geral da infecção no estudo foi de 4% (n=16). Ter idade igual e/ou inferior a 25 anos e mais de um parceiro sexual no último ano, foram variáveis associadas à infecção endocervical por *C. trachomatis* ($p < 0,001$). A infecção apresentou 3,88 vezes mais chances (RP; IC 95%; 1,33-11,37; $p = 0,013$) de ocorrer em mulheres com renda familiar inferior de um salário mínimo e, naquelas que tiveram iniciado a vida sexual antes dos 15 anos de idade foi observada uma potencial maior para a infecção. Os genótipos F, D e E foram os mais prevalentes dentre os seis identificados. **Conclusão:** Foi encontrada baixa prevalência da infecção por *C. trachomatis*, associada principalmente aos genótipos urogenitais, às mulheres adultas jovens, de baixa renda, que iniciam a vida sexual cedo e que tem mais de um parceiro sexual no último ano.

PALAVRAS – CHAVE: *Chlamydia trachomatis*; PREVALÊNCIA; GENÓTIPOS; MARAJÓ

INTRODUÇÃO

Chlamydia trachomatis (*C. trachomatis*) é a infecção sexualmente transmissível (IST) bacteriana mais prevalente no mundo (WHO, 2005), cerca de 92 milhões de pessoas são diagnosticadas anualmente com esta infecção (WHO, 2012). A infecção assintomática afeta cerca de 80% das mulheres e a falta de diagnóstico precoce pode determinar sequelas severas no aparelho reprodutivo da mulher, como salpingite, Doença Inflamatória Pélvica (DIP), gravidez ectópica e infertilidade tubária com custos que podem chegar a quatro bilhões de dólares (STAMM, 1999; GOTTLIEB *et al*, 2010; MANIA-PRAMANIK *et al*, 2012; ELEUTÉRIO *et al*, 2007). Esta é a causa mais comum de infertilidade evitável em mulheres sexualmente ativas e é considerada fator de risco para outras IST (SAMOFF *et al*, 2005; NAKASHIMA *et al*, 2014; ABDELLA *et al.*, 2015; CUNHA *et al*, 2015).

A *C. trachomatis* é classificado em 19 genótipos baseado na heterogeneidade da sequência do gene *ompA* (KALTENBOECK *et al*, 1993) e causam diferentes doenças em seres humanos. Os genótipos de A, B, Ba e C estão associados ao tracoma (BURTON & MABEY, 2009), os genótipos D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J e K estão associados à infecção urogenital não-invasiva (MILLMAN *et al*, 2004), os genótipos L1, L2, L2 e L3 causam linfogranuloma venéreo (MANAVI, 2006).

No Brasil não há programas de rastreio disponíveis no serviço público de saúde, bem como de identificação dos genótipos de *C. trachomatis* envolvidos na infecção, porém, de acordo com estudos anteriores usando técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, esta infecção varia de 5,0% a 31% entre os adultos jovens brasileiros que frequentam ambulatórios e clínicas ginecológicas, sendo encontrada maior frequência dos genótipos E, F e D (LIMA *et al*, 2007; MACHADO *et al*, 2011; MACHADO *et al*, 2012).

A região Amazônica é composta por muitas comunidades semi-isoladas que apresentam baixa acessibilidade aos recursos assistenciais e carecem das medidas preventivas de atenção básica de saúde. As IST podem levar ao comprometimento da saúde reprodutiva das mulheres, quando não são previamente diagnosticadas e tratadas, além disso, é fundamental conhecer os indicadores sociais e epidemiológicos das IST na população para o estabelecimento das ações de promoção de saúde (DUARTE *et al*, 2010; COSTA *et al*, 2011; ISHAK *et al*, 2015).

No Norte do Brasil não há estudos sobre o rastreio e a distribuição dos genótipos de *C. trachomatis* em infecções endocervicais em mulheres de comunidades afastadas dos grandes centros urbanos. Este estudo foi verificar a prevalência e os genótipos de *C. trachomatis* circulantes em infecções endocervicais de mulheres que residem em comunidades semi-isoladas no arquipélago do Marajó, Estado do Pará, região norte do Brasil, descrevendo os fatores sociais, epidemiológicos e de queixas ginecológicas associadas à infecção.

MÉTODOS

Amostras Clínicas

Este estudo transversal foi desenvolvido entre março de 2013 a Maio de 2015, e teve como população alvo, mulheres residentes em quatro municípios prioritários (São Sebastião da Boa Vista, Anajás, Portel e Chaves) do Arquipélago de Marajó, Estado do Pará, Amazônia, Brasil.

Considerado um dos principais pólos turísticos do Estado do Pará, este arquipélago é formado por 16 municípios, compreendendo ainda as ilhas Caviana, Mexiana e Gurupá, possuindo hidrografia composta por inúmeros rios, igarapés, lagos e furos que entrecortam a ilha em todas as direções, dificultando o acesso terrestre à maioria das comunidades.

Para o cálculo do tamanho amostral necessário para o estudo, foi considerado o poder do teste 0,90 e nível alfa de 0,01, de acordo com o perfil populacional (População urbana, feminina e número de habitantes por domicílio) existente em cada município do estudo. A seleção dos domicílios foi feita de forma aleatória, nos dois lados da rua, intercalando-se as residências a partir de uma esquina. Após a identificação das residências da comunidade, cada casa sorteada foi visitada por um técnico experiente informando o objetivo da pesquisa e convidando a participar do estudo.

Quando em concordância, o técnico aplicou um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido- TCLE, que formalizou a participação de cada mulher no estudo. Ademais, foram também realizadas coletas associadas aos postos de saúde municipais. Para cada mulher incluída no estudo foi preenchida um ficha clínico-epidemiológica e foi realizada a coleta de amostras biológicas de secreção da cérvix uterina, para a realização do exame laboratorial. As amostras biológicas foram depositadas em tubos criogênicos contendo 1mL de tampão Tris-EDTA (TE) (10 mM Tris-HCl pH 8,5; 1 mM EDTA) e acondicionadas a uma temperatura de -20°C até a realização dos testes específicos. Foram investigadas as variáveis de faixa etária, estado civil, ocupação, escolaridade, renda familiar, uso de tabaco, idade de início da vida sexual, parceiro fixo, parceiros no último ano, parceiros na vida, uso de preservativo, uso de anticoncepcional na vida, gravidez, parto normal, aborto, realização do teste do Papanicolaou. Os resultados dos exames de Papanicolaou foram gentilmente cedidos pelo Laboratório de Citopatologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

Extração do DNA Genômico

A extração e purificação de DNA genômico foi realizada utilizando do kit PureLink™ Genomic DNA Purification (*Invitrogen*, Carlsbad, CA, USA) seguindo as instruções do fabricante (GREER *et al.*, 1991). Foi utilizado 5 pmol/μL dos oligonucleotídeos G73 (5'-GAAGAGCCAAGGACAGGTAC-3') e G74 (5'-CAACTTCATCCACGTTACC-3') para amplificação de 270pb do gene da β-globina humana, seguindo o protocolo de 3.5μL Go Taq® Green Master Mix (Promega,

Madison WI, USA), 2.0µL de água, 1µL do DNA, com volume final de 7µL. Os produtos desta amplificação foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2% submerso em TAE 1X (TRIS-HCL 10Mm, pH=8; EDTA 1mM; Acetato), contendo brometo de etídio (0,5mg/mL) e visualizadas sob Luz ultravioleta (UV).

Detecção do Gene *OmpA* de *C. trachomatis*

Para detecção molecular da infecção foi realizada uma reação de *Nested-PCR* que amplificou 394pb do gene *ompA* de *C. trachomatis*. Na primeira reação foi utilizado 6.0µL GoTaq® Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA), 5 pmol dos oligonucleotídeos P1(5'- GACTTTGTTTTGACCGTGTT -3')/P2 (5'AGCRTATTGGAAAGAAGCBCCTAA- 3') e 2µL de DNA genômico, 3µL Água estéril, para um volume final de 12µL. Na segunda reação, foi utilizado 6.0 µL Go Taq® Green Master Mix (Promega, Madison, WI, USA), 4,5 µL de Água estéril, 5 pmol/µL dos oligonucleotídeos CT P3 (5'-AAACWGATGTGAATAAAGARTF3)/ P4 (5'-TCCASARAGCTGCDGAGC-3) e 0,5µL do produto da primeira reação (JALAL *et al*, 2007).

As duas etapas de amplificação foram realizadas no termociclador da Biocycler MJ96G nas seguintes condições de desnaturação a 94°C por 4 minutos, seguida de 35 ciclos de amplificação, onde a temperatura de desnaturação será 94°C por 40 segundos, de hibridização a 54°C durante 30 segundos, temperatura de extensão a 72°C por 1 minuto, seguida de temperatura de extensão de 72°C por 10 minutos e resfriamento a 10°C por 5 minutos. Os produtos desta *Nested-PCR* foram submetidos a eletroforese em gel de agarose a 2% submerso em TAE 1X (TRIS-HCL 10Mm, pH=8; EDTA 1mM; Acetato), contendo brometo de etídio (0,5mg/mL) e visualizadas sob Luz ultravioleta (UV).

Sequenciamento

Para o sequenciamento nucleotídico, um fragmento de 990pb da região do gene *ompA* foi amplificado através da *Nested-PCR*. Na primeira etapa foi utilizado 0,5 µL dos oligonucleotídeo P1 (5-ATG AAAAACTCTTGAAATCGG-3) numa concentração de 10 pmol/µL, 0,5 µL do oligonucleotídeo OMP2 (5-ACTGTAAGTGGTATTTGTCTG-3), numa concentração de 10 pmol/µL, 5,0µL de DNA genômico, 14 µL de água estéril, 2,5 µL de *buffer*(10x), 1,0 µL de DNTP(10mM), 1,0 µL de MgCl₂, 0,5 µL de Hotstar *Taq* DNA Polimerase 1.5U (Quiagen), para um volume final de 25µL. Em seguida, na segunda etapa da *Nested-PCR*, utilizou-se 0,5 µL do oligonucleotídeos MOMP87 (5-TGAACCAAGCCTTATGATCGACGGA-3) e RVS 1059 (5-GCAATACCGCAAGATTTCTAGATTTTCATC-3) em uma concentração de 10 pmol/µL, 1,5µL de DNA amplificado, 17,5 µL de água estéril, 2,5 µL de *buffer* (10x), 1,0 µL de DNTP(10mM), 1,0 µL de MgCl₂, 0,5 µL de Hotstar *Taq* DNA Polimerase 1.5U (Quiagen), para um volume final de 25µL (LYSÉN, *et al.*, 2004). As duas etapas de amplificação foram realizadas no termociclador da Biocycler MJ96G nas seguintes condições de desnaturação a 94°C por 15 minutos, seguida de 35 ciclos de amplificação, a temperatura de desnaturação foi de 94°C por 30 segundos, de hibridização a 55°C durante 30 segundos, extensão a 72°C por 90 segundos, seguida de temperatura de extensão de 72°C por 7 minutos, e por fim, resfriamento a 10°C por 3 minutos.

Na segunda etapa as condições mantiveram-se semelhante a da etapa anterior, exceto a temperatura de hibridização que foi de 60°C. O produto de PCR do fragmento do gene *ompA* foi purificado com o *Kit Wizard® SV Gel and PCR Clean-Up System* (Promega, Madison, WI, USA) de acordo com instruções do fabricante, e para a reação de sequenciamento foi utilizado o kit *BigDye Terminator Cycle* (Foster City, Califórnia, USA), seguindo as recomendações do fabricante. O sequenciamento ocorreu no modelo *ABI 3130* (Applied Biosystems by life). O *BigDye X Terminator® Purification Kit* (Applied Biosystems by life) foi usado para purificação da reação.

Genotipagem

As sequências nucleotídicas de *ompA* obtidas foram avaliadas usando o software *Ugene Integrated Bioinformatics Tools* (versão 1.16; disponível em [<http://www.ugene.unipro.ru/>]). A genotipagem das cepas ocorreu via comparação das sequências nucleotídicas com as disponíveis no *GenBank*, do National Center for Biotechnology Information (NCBI), pelo número de acesso: B/IU-1226 AF063208.1, C/TW3 M17343.1, C FJ943516.1, C FJ943514.1, D/B-120 X62918.1, D/IC-Cal8 X62920.1, E/BourX52557, E JN192145.1, E DQ155296.1, E DQ155297.1, E DQ155297.1, F/IC-Cal3 X52080, G DQ155299.1, H FJ943537.1, H/Wash X16007, Ia FJ943541.1, Ia FJ943542.1, Ia FJ943540.1, Ia FJ943539.1, J DQ287921.1, J FJ943544.1, J FJ943543.1, J/UW36 AF063202, K DQ155300.1, K/UW31 AF063204.

Ética

Este trabalho compreende uma das etapas do projeto “Marcadores Epidemiológicos em Saúde no Arquipélago do Marajó”, que foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa do Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará, estando de acordo com Res. CNS 196/96; Parecer nº 0003.0.324.000-10. Todas as mulheres incluídas tiveram conhecimento e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participarem do estudo.

Análise Estatística

Os dados foram submetidos a análise descritiva para obtenção das frequências absoluta e relativa das variáveis analisadas, e da prevalência no desfecho investigado. Associações bivariadas de infecção endocervical por *C. trachomatis* com variáveis socio-demográficas, epidemiológica e de uso de métodos de prevenção das IST foram examinadas usando testes de qui-quadrado para determinar diferenças significativas entre os grupos. Para a aplicação do teste estatístico, foi utilizado o Statistical Package for Social Sciences (SPSS) v. 21.0 (SPSS, Chicago, Illinois, EUA). Foi utilizada a regressão de Poisson, para estimar a razão de prevalência (RP) bruta e ajustada relacionadas com as variáveis investigadas. Nesta análise foi utilizado o programa Stata V. 12.0 (StataCorp, College Station, TX). Em todos os testes de hipóteses, o intervalo de confiança foi de 95% e o *P valor* ≤ 0,05 foi considerado significativo.

RESULTADOS

A prevalência geral da infecção endocervical por *C. trachomatis* na população de estudo foi de 4% (16/393). A idade das participantes deste estudo variou entre 16 e 96 anos e a média de idade foi de 41 anos (\pm 15 anos). No perfil sócio-demográfico, 82,2% da população investigada teve idade superior a 25 anos, 68,7% são casadas, 66% não apresentaram ocupação informal, 74,3% apresentaram baixa escolaridade, 55,7% tinha renda familiar maior que um salário mínimo, 86,8% declararam não usar tabaco. Mulheres que apresentavam idade menor ou igual de 25 anos foram significativamente mais propensas para esta infecção (14,3% vs 2,1%, $p = <0,001$). Não houve significância estatística em outras variáveis socio-demográficas investigadas, tal como, solteiras (7,3%), ocupação formal (5,7%), baixa escolaridade (4,8%), renda de até um salário mínimo (5,2%) e não uso tabaco (4,4%) (Tabela 1). Apenas 13 sequências mostraram qualidade para serem genotipadas, e foram encontrados os genótipos F (38,4%, n=5), seguido do D (23 %, n=3), E (15,3%, n=2), B (7,6%, n=1), I (7,6%, n=1) e J (7,6%, n=1).

Tabela 01 Características sócio-demográficas das mulheres com infecção por *C. trachomatis* em municípios do Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil.

| Variáveis | Infecção por CT | | | | Total | | p |
|---|-----------------|------|-----|------|-------|------|--------|
| | Sim | | Não | | n | % | |
| | n | % | n | % | | | |
| Faixa etária | | | | | | | |
| ≤25 anos | 10 | 14,3 | 60 | 85,7 | 70 | 17,9 | <0,001 |
| >25 anos | 6 | 2,1 | 317 | 97,9 | 323 | 82,2 | |
| Estado civil ¹ | | | | | | | |
| Solteira | 7 | 7,3 | 89 | 92,7 | 96 | 24,4 | 0,021 |
| Casada | 6 | 2,2 | 264 | 97,8 | 270 | 68,7 | |
| Ocupação ² | | | | | | | |
| Ocupação informal | 8 | 3,1 | 251 | 96,9 | 259 | 66 | 0,238 |
| Estudante / escolarizados | 6 | 5,7 | 99 | 94,3 | 105 | 26,7 | |
| Escolaridade baixa (até fundamental) ³ | | | | | | | |
| Sim | 14 | 4,8 | 278 | 95,2 | 292 | 74,3 | 0,266 |
| Não | 2 | 2,2 | 91 | 97,8 | 93 | 23,7 | |
| Renda Familiar ⁴ | | | | | | | |
| Até 1 salário mínimo | 8 | 5,2 | 146 | 94,8 | 154 | 39,1 | 0,469 |
| Maior que 1 salário mínimo | 8 | 3,7 | 211 | 96,3 | 219 | 55,7 | |
| Uso do tabaco ⁵ | | | | | | | |
| Sim | 1 | 2,1 | 47 | 97,9 | 48 | 12,2 | 0,449 |
| Não | 15 | 4,4 | 326 | 95,6 | 341 | 86,8 | |

p: Probabilidade do Teste Qui-quadrado (X^2)

Sobre o uso dos métodos contraceptivos, de saúde reprodutiva e prevenção do câncer cervical, as mulheres investigadas neste estudo declararam não usar anticoncepcionais orais (51,1%), já terem engravidado (90,5%), ter o parto normal (90,3%), relataram não terem sofrido aborto (66,1%) e realizam periodicamente o teste do Papanicolau (80%), conforme descrito na tabela 2. Entre as identificadas para infecção

endocervical por *C. trachomatis*, foi mais frequente o não uso do anticoncepcional (53%), não ter engravidado (86,6%), parto normal (86,6%), sem histórico de aborto (80%) e realizara periodicamente o exame de Papanicolau (4,3%).

Tabela 2 Características de uso de anticoncepcionais, reprodução e exame preventivo de câncer de colo uterino das mulheres com infecção por *C. trachomatis* em municípios do Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil.

| Variáveis | Infecção por CT | | | | Total | | p |
|--|-----------------|-----|-----|------|-------|------|-------|
| | Sim | | Não | | n | % | |
| | n | % | n | % | n | % | |
| Uso de anticoncepcional na vida ¹ | | | | | | | |
| Sim | 7 | 3,7 | 181 | 96,3 | 188 | 47,9 | 0,895 |
| Não | 8 | 4,0 | 193 | 96,0 | 201 | 51,1 | |
| Gravidez ² | | | | | | | |
| Sim | 13 | 3,7 | 343 | 96,3 | 356 | 90,5 | 0,465 |
| Não | 2 | 6,3 | 30 | 93,8 | 32 | 8,1 | |
| Parto Normal ³ | | | | | | | |
| Sim | 13 | 3,7 | 342 | 96,3 | 355 | 90,3 | 0,521 |
| Não | 2 | 5,9 | 32 | 94,1 | 34 | 8,6 | |
| Aborto ⁴ | | | | | | | |
| Sim | 3 | 2,3 | 125 | 97,7 | 128 | 32,5 | 0,275 |
| Não | 12 | 4,6 | 248 | 95,4 | 260 | 66,1 | |
| Realização do exame Papanicolau ⁵ | | | | | | | |
| Sim | 12 | 3,8 | 308 | 96,3 | 320 | 81,4 | 0,815 |
| Não | 3 | 4,3 | 66 | 95,7 | 69 | 17,5 | |

p: Probabilidade do Teste Qui-quadrado (χ^2).

No perfil epidemiológico, as mulheres identificadas com a infecção endocervical por *C. trachomatis*, declararam não apresentar vida sexual ativa (4,3%), tiveram início da vida sexual menor de 15 de idade (7,1%), não apresentam parceiro fixo (7,4%), mais de um parceiro sexual no ultimo ano (20%), mais de três parceiros sexuais durante toda a vida (8,0%) e o usam preservativo (6,8%)(Tabela 03).

Tabela 3 Características de comportamento sexual das mulheres com infecção por *C. trachomatis* em municípios do Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil.

| Variáveis | Infecção por CT | | | | Total | | P |
|---|-----------------|-----|-----|------|-------|-------|-------|
| | Sim | | Não | | n | % | |
| | n | % | n | % | n | % | |
| Vida sexual ativa ¹ | | | | | | | |
| Sim | 12 | 4,1 | 283 | 95,9 | 295 | 100,0 | 0,921 |
| Não | 4 | 4,3 | 89 | 95,7 | 93 | 100,0 | |
| Idade de início da vida sexual ² | | | | | | | |
| <15 anos | 9 | 7,1 | 118 | 92,9 | 127 | 35 | 0,064 |
| ≥15 anos | 7 | 2,9 | 232 | 97,1 | 239 | 61 | |
| Parceiro fixo ³ | | | | | | | |
| Sim | 9 | 3,1 | 276 | 96,9 | 285 | 72,5 | 0,073 |
| Não | 7 | 7,4 | 87 | 92,6 | 94 | 24 | |

| | | | | | | | |
|--------------------------------------|----|------|-----|------|-----|------|-------|
| Parceiros no último ano ⁴ | | | | | | | |
| 1 parceiro | 10 | 4,2 | 228 | 95,8 | 238 | 60,5 | 0,023 |
| >1 parceiro | 2 | 20,0 | 8 | 80,0 | 10 | 2,5 | |
| Parceiros na vida ⁶ | | | | | | | |
| ≤3 parceiros | 8 | 3,3 | 231 | 96,7 | 239 | 60,9 | 0,089 |
| >3 parceiros | 6 | 8,0 | 69 | 92,0 | 75 | 19 | |
| Uso de preservativo ⁷ | | | | | | | |
| Sempre | 4 | 6,8 | 55 | 93,2 | 59 | 15 | 0,285 |
| Nunca / às vezes | 12 | 3,7 | 309 | 96,3 | 321 | 81,7 | |

p: Probabilidade do Teste Qui-quadrado (χ^2).

As mulheres com idade igual e/ou inferior a 25 anos foram significativamente associadas à infecção endocervical por *C. trachomatis* ($p < 0,001$) (tabela 1), e manteve significância tanto na análise bruta 7,69 (IC 95%; 2,89-20,49; $p < 0,001$), quanto na análise ajustada 10,01 (IC 95%; 2,83-35,47; $p < 0,001$). As chances de adquirir a infecção endocervical foi 3,28 vezes maior (IC 95%; 1,13-9,53; $p = 0,029$) em mulheres solteiras e 4,76 vezes maior (IC 95%; 1,19-18,97; $p = 0,027$) nas que apresentavam mais de um parceiro sexual no último ano. Em análises ajustadas, a chance de infecção foi maior 3,88 (RP; IC 95%; 1,33-11,37; $p = 0,013$) em mulheres que apresentavam renda familiar inferior de um salário mínimo, e as que tiveram vida sexual inferior a 15 anos de idade foi observada uma potencial significância para a infecção (RP: 2,93; IC 95%; 0,91-9,47; $p = 0,073$) (Tabela 04).

Tabela 4: Infecção por *C. trachomatis* segundo fatores sócio-demográficos, de comportamento sexual e de reprodução das mulheres dos municípios do Arquipélago do Marajó, Estado do Pará, Brasil.

| Variável | Categorias | RP bruta (IC _{95%}) | p | RP ajustada (IC _{95%}) | p |
|---|------------------------|----------------------------------|--------|-------------------------------------|--------|
| Infecção por CT e Variáveis sócio-demográficas | | | | | |
| Faixa etária | ≤25 anos | 7,69(2,89-20,49) | <0,001 | 10,01(2,83-35,47) | <0,001 |
| | >25 anos | 1 | | 1 | |
| Estado civil | Solteira | 3,28(1,13-9,53) | 0,029 | 1,72(0,54-5,53) | 0,360 |
| | Casada/separada/viúva | 1 | | 1 | |
| Ocupação | Ocupação sem formação | 0,54(0,19-1,52) | 0,244 | 0,59(0,21-1,65) | 0,316 |
| | Estudante/Escolarizada | 1 | | 1 | |
| Renda familiar | <1 salário mínimo | 1,42(0,54-3,71) | 0,472 | 3,88(1,33-11,37) | 0,013 |
| | ≥1 salário mínimo | 1 | | 1 | |
| Tabagismo | Sim | 0,47(0,06-3,51) | 0,465 | 0,88(0,12-6,31) | 0,901 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Infecção por CT e Variáveis sobre comportamento sexual | | | | | |
| Vida sexual ativa | Sim | 0,95(0,31-2,87) | 0,921 | 0,67(0,15-2,97) | 0,595 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Idade de início da atividade sexual | <15 anos | 2,42(0,92-6,35) | 0,073 | 2,93(0,91-9,47) | 0,073 |
| | ≥15 anos | 1 | | 1 | |
| Parceiro fixo | Sim | 2,36(0,90-6,17) | 0,080 | 2,78(0,74-10,49) | 0,132 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Parceiros no último ano | >1 parceiro | 4,76(1,19-18,97) | 0,027 | 1,03(0,13-7,95) | 0,974 |
| | 1 parceiro | 1 | | 1 | |
| Parceiros na vida | ≤3 parceiros | 2,39(0,86-6,68) | 0,97 | 1,94(0,51-7,44) | 0,329 |
| | ≤3 parceiros | 1 | | 1 | |

| | | | | | |
|---|----------------------------|----------------------|-------|-----------------------|-------|
| Uso de preservativos | Sempre Nunca / às vezes | 0,55(0,18-1,65) 1 | 0,288 | 0,46(0,13.-1,67) 1 | 0,238 |
| Infecção por CT e Variáveis sobre reprodução | | | | | |
| Anticoncepcional: uso na vida | Sim | 0,94(0,35-2,53) | 0,896 | 0,92(0,31-2,76) | 0,891 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Gravidez | Sim | 0,58(0,14-2,58) | 0,466 | 0,59(0,13-2,58) | 0,484 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Parto | Sim | 0,62(0,15-2,65) | 0,521 | 0,63(0,14-2,79) | 0,543 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Aborto | Sim | 0,51(0,15-1,77) | 0,288 | 0,53(0,15-1,90) | 0,328 |
| | Não | 1 | | 1 | |
| Realização do Preventivo (PCCU) | Sim | 0,86(0,25-2,98) | 0,815 | 0,85(0,21-3,38) | 0,818 |
| | Não | 1 | | 1 | |

RPbruta: variáveis não ajustadas - análise bivariada. **IC_{95%}:** Intervalo de confiança de 95%. **p:** nível descritivo do teste de associação χ^2 . **RPajustada:** variáveis ajustadas entre si em cada grupo - análise múltipla.

Do total de mulheres, 58,2% (n=229) apresentaram alteração citológica. Entre as positivas para *C. trachomatis*, 25% (n= 4) apresentaram resultado citológico normal, 50% (n= 8) inflamação, 12,5% (n=2) células escamosas atípicas e 12,5% (n=2) lesão de baixo grau. Nenhuma das amostras positivas apresentou nítida inclusão intracitoplasmática característica de *C. trachomatis*. Não houve associação entre alterações citológicas e a infecção por *C. trachomatis* (p= 0, 2572).

DISCUSSÃO

Este é um estudo pioneiro no Brasil, que realizou o rastreamento de *C. trachomatis* na infecção endocervical em moradoras de comunidades semi-isoladas da Amazônia brasileira e identificou os respectivos genótipos circulantes nesta população. Neste estudo a prevalência de *C. trachomatis* em infecções endocervicais foi de 4% sendo as mulheres jovens com idade igual e/ou inferior a 25 anos, com variabilidade de parceiros sexuais no último ano, solteiras e de baixa renda foram significativamente mais propensas para esta infecção. Medidas de rastreamento nestas populações são fundamentais para a prevenção de danos tubários tardios, pois ter menos de 20 anos de idade é um fator de risco para desenvolver DIP (MAY et al, 2015), além do mais, os recursos básicos de saúde e o diagnóstico das IST são escassos em comunidades afastadas dos grandes centros urbanos na região Amazônica (COSTA et al, 2011).

Estudos mundiais, com prevalências variadas, mostram que as infecções endocervicais por *C. trachomatis* acometem significativamente mulheres jovens, com idade inferior a 25 anos que já iniciaram a vida sexual. No interior da Espanha, a alta prevalência foi de 9,1% (LOPEZ-CORBETO et al, 2015), e mostrou infecção em mulheres adultas jovens. Na Grã-Bretanha, uma alta prevalência (12,3%) entre as mulheres adultas jovens, de baixa renda e com vários parceiros sexuais foi associada à infecção (HOODWALL et al, 2015). Na Austrália, as taxas de infecção endocervical por *C. trachomatis* são 23 vezes maiores em comunidades não urbanas (GRAHAM et al 2012). Prevalência semelhante a nossa foi encontrada em um grande grupo populacional de Roma (5,2%), sendo a variabilidade de parceiros sexuais e a idade até 19 anos significativa para a infecção (MARCONE et al, 2012) e em jovens mulheres de Kashan,

no Irã (2,4%), não havendo significância nas variáveis devido ao pequeno número de participantes (AFRASIABI et al, 2015).

Nossos resultados estão de acordo com um estudo realizado por FAGEEH et al, 2015, que encontraram prevalência estatisticamente semelhante a nossa (8,7%) nas mulheres presidiárias de origem mulçumana, sendo que a idade inferior a 25 anos foi o fator que esteve associado com a prevalência de *C. trachomatis*. Nesta região é proibida a promiscuidade sexual e o sexo fora do casamento, caracterizando-se como populações isoladas (FAGEEH et al, 2015). Mesmo que a maioria das participantes do nosso estudo tenham se declarado casadas ou em união estável, a infecção foi maior entre as solteiras e, percebemos também que a baixa renda e a variabilidade de parceiros sexuais foram significativas para esta infecção. Nossos resultados estão em concordância com a literatura, pois os jovens de baixas condições socioeconômicas estão mais sujeitos às IST (SHERINGHAM et al, 2013) e estas são comum em diversos tipos de populações (HILLIS et al, 1994; ISHAK, 2001). Mulheres das comunidades semi-isoladas da Amazônia estão distantes da prevenção de danos na saúde reprodutiva, e ao contrário, os estudos mencionados são de países onde é prioridade o rastreio urogenital de *C. trachomatis* pelas Técnicas de Amplificação de Ácidos Nucleicos (NAAT) nas jovens mulheres inferiores a 25 anos de idade (ECDC, 2009; U. S., 2007; HOCKING et al, 2008; LANJOUW et al, 2010).

Nossa prevalência de infecção endocervical por *C. trachomatis* é significativamente menor que em outras regiões do Brasil, como no Rio Grande do Norte (10,9%) (MAGALHÃES et al, 2015), no interior de Goiás (9,6%) (LIMA et al, 2014) e no Paraná (12,7%)(de ABREU et al, 2012). Nestes estudos, a infecção endocervical por *C. trachomatis* esteve relacionada com a idade jovem e com o comportamento sexual e, apenas no Rio Grande do Sul (11%) (GARÇÊS et al, 2013) mostrou a baixa renda como fator significativo para esta infecção. Na Bahia (31%) (MACHADO et al, 2012) e em Pernambuco (23,8%) (TAVARES et al, 2014), apesar das altas prevalências, não houve significância entre as variáveis analisadas, possivelmente devido ao pequeno tamanho amostral. Nossa prevalência está de acordo com dois estudos do Amazonas, o primeiro realizado na capital (4,3%), onde a infecção endocervical por *C. trachomatis* foi significativa entre 18 a 29 anos de idade em mulheres co-infectadas com HIV que frequentam clínicas de DST (SILVA et al, 2012). O segundo na zona rural deste mesmo Estado(6,4%), não havendo associação da positividade para *C. trachomatis* com as variáveis estudadas (ROCHA et al, 2014).

Os genótipos F, D e E foram os mais comuns em nossa população, e são mais comumente encontrados em populações heterossexuais de diferentes regiões do mundo (Tunísia GHARSALLAH et al, 2012), (Espanha FERNÁNDEZ-BENÍTEZ et al, 2013), (Alemanha FIESER et al, 2013), (Iran BENI et al, 2012) e (Japão TAKAHASHI et al, 2007). O genótipo F, um dos mais encontrados em nosso estudo está entre os mais frequentes na literatura mundial juntamente com os genótipos D e E ((VERWEIJ et al.,2014). Em mulheres inférteis no México ele foi o mais encontrado, com frequências de 54,2% (F); 8,7% (E); 8,7% (L); 8,7% (K); 8,7% (L2) e cada um com 4,5% (D, H e Ia) (HARO-CRUZ et al, 2011). Na China a maior prevalência do genótipo F foi significativa entre os casados, com maiores frequências para o genótipo F (22,3%), seguido de E (22,0%) e D / Da (12,7%) (JUAN et al, 2012).

Estudos anteriores já relataram a distribuição sorológica de *C. trachomatis* em algumas comunidades Amazônicas, e foi verificado que o sorotipo A é o mais prevalente (ISHAK et al., 1993; ISHAK & ISHAK, 2001; ISHAK et al 2015), entretanto a pesquisa sorológica apresenta menor especificidade e por isso, fizemos uso das NAAT, que são atualmente recomendadas para a triagem e genotipagem de *C. trachomatis* relacionadas à IST (CDC, 2014). Apesar da baixa prevalência, e três amostras positivas não terem sido sequenciadas, possivelmente devido a baixa qualidade do DNA (van Dommelen et al, 2013), encontramos seis genótipos diferentes nas mulheres de comunidades isoladas na Amazônia, e mesmo com poucos dados nacionais de genotipagem de *C. trachomatis* em infecções endocervicais, esta é a maior variabilidade genotípica já identificada em uma só região no Brasil.

Existem dois únicos estudos sobre genotipagem de *C. trachomatis* Brasil, o primeiro ocorreu em um pequeno grupo de mulheres atendidas em clínicas de IST de uma grande cidade do Sudeste, e encontraram quatro genótipos de *C. trachomatis* com as seguintes frequências E (33,3%); D (33,3%); F (16,7%) e K (16,7%) (LIMA et al, 2007). O segundo estudo envolveu 187 amostras positivas de *C. trachomatis* de duas grandes capitais do Centro-oeste e do Sudeste do país, e identificaram os seguintes genótipos E (39.3 %), F (16.6 %), D (15.9 %), I (8.6 %), J (7.4 %), G (4.9 %), K (3.1 %), H (2.4 %) e B (1.8 %) não havendo associação dos genótipos a nenhuma variável analisada (MACHADO et al, 2011). Esta baixa prevalência da infecção, associada à alta diversidade de genótipos possivelmente se deve a dinâmica epidemiológica das infecções sexuais ser mais complexa em populações mais isoladas.

Apesar do presente estudo, não encontrar associação entre as alterações citológicas e a infecção por *C. trachomatis*, outros estudos têm verificado esta associação. Oliveira *et al.* (2008) relata uma frequência de infecção por *C. trachomatis* significativamente maior em pacientes com alterações citológicas (80% vs. 14,3%), no entanto, não foi encontrada associação estatística entre a infecção por *C. trachomatis* e o resultado citológico. Edelman *et. al.* (2000) não correlacionou a prevalência de *C. trachomaitis* e a citologia oncótica anormal. Reesink-Peters *et al.*(2001) não encontrou associação de infecção por *C. trachomatis* com a gravidade da lesão neoplásica e progressão da neoplasia cervical. A *C. trachomatis* não é considerada um co-fator preponderante para anomalias cervicais, mas alterações citológicas inflamatórias podem ser resultado da infecção (GRUEVA, 2014).

CONCLUSÃO

Em conclusão, esta é a primeira descrição da prevalência e da distribuição dos genótipos sexuais de *C. trachomatis* em mulheres de comunidades semi-isoladas na Amazônia, acometendo principalmente as jovens de baixa renda, e com mais de um parceiro sexual no último ano. A baixa prevalência e a distribuição genotípica semelhante a outras regiões do mundo mostram a universalidade desta infecção. Os dados obtidos neste estudo tem implicações para o desenvolvimento de medidas de controle e prevenção aos danos reprodutivos nas populações amazônicas. Estudos posteriores são necessários para elucidar as redes sexuais das infecções genitais simples e múltiplas de *C. trachomatis* nestas comunidades.

REFERENCIAS

Abdella RM, Abdelmoaty HI, Elsherif RH, Sayed AM, Sherif NA, Gouda HM, El Lithy A, Almohamady M, Abdelbar M, Hosni AN, Magdy A, Ma Y. Screening for Chlamydia trachomatis in Egyptian women with unexplained infertility, comparing real-time PCR techniques to standard serology tests: case control study. BMC Womens Health. 2015 Jun 2;15:45.

Afrasiabi S, Moniri R, Samimi M, Khorshidi A, Mousavi SG. The Prevalence of Endocervical Chlamydia trachomatis Infection Among Young Females in Kashan, Iran. Jundishapur J Microbiol. 2015; 8(4):e15576.

Burton MJ, Mabey DC. The global burden of trachoma: A review. PLoS Negl Trop Dis. 2009; 3:e 460.

CDC. Recommendations for the Laboratory-Based Detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* - 2014. Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR). Recommendations and Reports. 2014, Vol. 63, No. 2.

Costa JHG, Souza IRA, Santos EJA, Prazeres BAP, Andrade ML, Melo MFC, Tsutsumi MY, Sousa MS. Prevention of cervical cancer in riparian communities assisted by the Light in Amazonia Program in Pará State, Brazil. ORIGINAL ARTICLE. Rev Pan-Amaz Saude 2011; 2(4):17-22.

Cunha CB, Friedman RK, de Boni RB, Gaydos C, Guimarães MR, Siqueira BH, Cardoso SW, Chicayban L, Coutinho JR, Yanavich C, Veloso VG, Grinsztejn B. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and syphilis among men who have sex with men in Brazil. BMC Public Health. 2015;15:686.

de Abreu AL, Nogara PR, Souza RP, da Silva MC, Uchimura NS, Zanko RL, Ferreira EC, Tognim MC, Teixeira JJ, Gimenes F, Consolaro ME. Molecular detection of HPV and *Chlamydia trachomatis* infections in Brazilian women with abnormal cervical cytology. Am J Trop Med Hyg. 2012; 87(6):1149-51.

Duarte DV, Brito EB, Canto ASS, Ishikawa EAY, Pinheiro JG, Costa JHG, Sousa MS. Frequency and genotyping of *human Papillomavirus* in women from riparian communities in the Municipality of Abaetetuba, Pará State, Brazil. Rev Pan-Amaz Saude. 2010; 1(3):75-82.

Edelman M, Fox A, Alderman E, Neal W, Shapiro A, Silver EJ. Cervical Papanicolaou smear abnormalities and Chlamydia trachomatis in sexually active adolescent females. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2000. 13: 65-9.

European Centre for Disease Prevention and Control, Chlamydia control in Europe, ISBN 978-92-9193-165-1. Stockholm, 2009.

Eleutério RMN, Junior JE, Giraldo PC, Muniz AMV. *Chlamydia trachomatis* Cervicitis in Sexual Active Women From a Private Gynecologic Service, in Fortaleza City, Role-based access control, vol. 2007; 39(4): 287-290.

Fageeh W, Badawood S, Al Thagafi H, Yasir M, Azhar E, Farraj S, Alomary M, Alsaeed M, Yaghmoor S, Kumosani T. *Chlamydia trachomatis* infection among female inmates at Birman prison in Saudi Arabia. BMC Public Health. 2014 Mar 20;14:267.

Fernández-Benítez C, Mejuto-López P, Otero-Guerra L, Margolles-Martins MJ, Suárez-Leiva P, Vazquez F. Prevalence of genital *Chlamydia trachomatis* infection among young men and women in Spain. BMC Infectious Diseases. 2013; 13:388.

Fieser N, Simnacher U, Tausch Y, Werner-Belak S, Ladenburger-Strauss S, von Baum H, Reischl U, Essig A. *Chlamydia trachomatis* prevalence, genotype distribution and identification of the new Swedish variant in Southern Germany. Infection. 2013;41(1):159-66.

Gharsallah H, Frikha-Gargouri O, Sellami H, Besbes F, Znazen A, Hammami A. *Chlamydia trachomatis* genovar distribution in clinical urogenital specimens from Tunisian patients: high prevalence of *C. trachomatis* genovar E and mixed infections. BMC Infect Dis. 2012; 12:333.

Gottlieb SL, Berman SM, Low N. Screening and treatment to prevent sequelae in women with *Chlamydia trachomatis* genital infection: how much do we know? J Infect Dis. 2010; 201(suppl 2):S156–67.

Graham S, Guy RJ, Donovan B, McManus H, Su J, El-Hayek C, Kwan K S H, Dyda A, Wand H C, Ward J S. Epidemiology of chlamydia and gonorrhoea among Indigenous and non-Indigenous Australians, 2000–2009. Med J Aust. 2012; 197 (11): 642-646.

Greer, CE, Lund, J. K, Manos, MM. PCR amplification from paraffin- embedded tissues: recommendations on fixatives for Long-term Storage and prospective Studies. PCR Methods Appl. v.1, 1991; 46 – 50.

Grueva E. Cytology in patients with chlamydial endocervicitis. Akush Ginekol (Sofia). 2014; 53(7):3-8.

Hay PE, Kerry SR, Normansell R, Horner PJ, Reid F, Kerry SM, Prime K, Williams E, Simms I, Aghaizu A, Jensen J, Oakeshott P. Which sexually active young female students are most at risk of pelvic inflammatory disease? A prospective study. Sex Transm Infect. 2015; 16. 2015-052063.

Haro-Cruz MJ, Deleón-Rodríguez I, Escobedo-Guerra MR, López-Hurtado M, Arteaga-Troncoso G, Ortiz-Ibarra FJ, Guerra-Infante FM. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from cervical specimens of infertile Mexican women. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(2):102–108.

Hillis S D, Nakashima A, Marchbanks P A, Addiss D G, Davis J P. Risk factors for recurrent *Chlamydia trachomatis* infections in women American Journal of Obstetrics and Gynecology. Volume 170, Issue 3.1994; 801-806.

ISHAK, M. O. G.; ISHAK, R.; CRUZ, A. C.; SANTOS, D. E. & SALGADO, U., 1993. Chlamydial infection in the Amazon region of Brazil. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 87:60-62.

Ishak MO, Costa MM, de Almeida NC, Santiago AM, de Brito WB, Vallinoto AC, Azevedo VN, Ishak R. *Chlamydia trachomatis* serotype A infections in the Amazon region of Brazil: prevalence, entry and dissemination. Rev Soc Bras Med Trop. 2015; 48(2):170-4.

Ishak MO, Ishak R. *Chlamydia* infection impact among native Indian groups of the Brazilian Amazon region. Cad Saude Publica. 2001 Mar-Apr;17(2):385-96

Jalal H, Stephen H, Alexander S, Carne C, Sonnex C. Development of real-time PCR assays for genotyping of *Chlamydia trachomatis*. Journal of Clinical and Microbiology. 2007; 45(8):2649-53.

Kaltenboeck B, Kousoulas KG, Storz J. Structures of and allelic diversity and relationships among the major outer membrane protein (*ompA*) genes of the four chlamydial species. J. Bacteriol. 1993; 175:487–502.

Machado MSC, Silva, BFBC, Gomes ILC, Santana IU, Grassi MFR. Prevalence of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents from Salvador, Brazil. The Brazilian Journal of Infectious Diseases, v. 16, n. 2, 2012; 188-191.

Hocking J S, Walker J, Regan D, Chen M Y, Fairley C K. Chlamydia screening — Australia should strive to achieve what others have not. Med J Aust. 2008; 188 (2): 106-108.

Lanjouw E, Ossewaarde JM, Stary A, Boag F, van der Meijden WI. European guideline for the management of *Chlamydia trachomatis* infections. Int J DST AIDS.2010; 21 (11):. 729-37.

Lima YA, Turchi MD, Fonseca ZC, Garcia FL, Cardoso FAB, Reis MNG, Guimarães EMB, Alves RRF, Carvalho NR, Alves MFC. Sexually transmitted bacterial infections among young women in Central Western Brazil. International Journal of Infectious Diseases. 2014; 25:16-21.

Lima H E, Oliveira MB, Valente, BG, Afonso DAF, Darocha WD, Souza MCM, Alvim TC, Barbosa-Stancioli EF, Noronha FSM. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* From Cervical Specimens in Brazil, Sexually Transmitted Diseases, Vol. 34, No. 9, p.709–717, 2007.

Lysén M, Osterlund A, Rubin CJ, Persson T, Persson I, Herrmann B. Characterization of *ompA* Genotypes by Sequence Analysis of DNA from All Detected Cases of *Chlamydia*

trachomatis Infections during 1 Year of Contact Tracing in a Swedish County. Journal of Clinical Microbiology. 2004, 42(4):1641-7.

López-Corbeto E, González V, Casabona J; Grupo de estudio CT/NG-ASSIR. Prevalence and re-infection rate of *C. trachomatis* genital infections in young people under 25 years in Catalonia. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2015 Aug 21. pii: S0213-005X(15)00286-4.

Machado MSC, Silva BFBC, Gomes ILC, Santana IU, Grassi MFR. Prevalence of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents from Salvador, Brazil. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. v. 16, 2012; 2: 188-191.

Machado ACS, Bandea CI, Alves MFC, Joseph K, Igietseme J, Miranda AE, Guimarães EMB, Turchi, MD, Black CM. Distribution of *Chlamydia trachomatis* genovars among youths and adults in Brazil, Journal of Medical Microbiology. 2011; 60; 472-476.

Magalhães PA, Miranda CA, Lima ÉG, Moizéis RN, de Lima DB, Cobucci RN, de Medeiros Fernandes TA, de Azevedo JC, de Azevedo PR, de Araújo JM, Fernandes JV. Genital tract infection with *Chlamydia trachomatis* in women attended at a cervical cancer screening program in Northeastern from Brazil. Arch Gynecol Obstet. 2015;291(5):1095-102.

Manavi K. A review on infection with *Chlamydia trachomatis*. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2006;20:941–51.

Mania-Pramanik J, Kerkar S, Sonawane S, Mehta P, Salvi V. Current *Chlamydia trachomatis* Infection, A Major Cause of Infertility, Journal of Reproduction and Infertility. 2012. 13(4): 204–210.

Marcone V, Recine N, Gallinelli C, Nicosia R, Lichtner M, Degener AM, Chiarini F, Calzolari E, Vullo V. Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* endocervical infection in a previously unscreened population in Rome, Italy, 2000 to 2009. Eurosurveillance. Volume 17, Issue 25, 21 June 2012.

Millman K, Black CM, Johnson RE, Stamm WE, Jones RB, Hook EW, Martin DH, Bolan G, Tavaré S, Dean D. Population-based genetic and evolutionary analysis of *Chlamydia trachomatis* urogenital strain variation in the United States. J Bacteriol. 2004; 186:2457–2465.

Nakashima K, Shigehara K, Kawaguchi S, Wakatsuki A, Kobori Y, Nakashima K, Ishii Y, Shimamura M, Sasagawa T, Kitagawa Y, Mizokami A, Namiki M. Prevalence of *human papillomavirus* infection in the oropharynx and urine among sexually active men: a comparative study of infection by papillomavirus and other organisms, including *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma* spp., and *Ureaplasma* spp. BMC Infectious Diseases. 2014; 27: 14-43.

Oliveira, ML.; Amorim, MMR.; Souza, ASR.; Albuquerque, LCB; Costa, AAR. Infecção por chlamydia em pacientes com e sem lesões intra-epiteliais Cervicais. Rev Assoc Med Bras 2008; 54(6): 506-12

Preventive Services US. Task Force. Screening for chlamydial infection: U.S. Preventive Services Task Force recommendation statement. Ann Intern Med. 2007;147:128–134.

Rocha DA, Filho RA, Mariño JM, Santos CM. "Hidden" sexually transmitted infections among women in primary care health services, Amazonas, Brazil. Int J DST AIDS 2014 outubro; 25 (12): 878-86.

Reesink-Peters N, Ossewaarde JM, Van Der Zee AGJ, Burger MPM, Adriaanse AH. No association of anti-chlamydia trachomatis antibodies and severity of cervical neoplasia. Sex transminfect. 2001.77:101-2.

Stamm WE Chlamydia trachomatis infections: progress and problems. The Journal of infectious diseases. 1999. Mar;179, Suppl 2:S380–3 10081511.

Samoff E, Koumans EH, Markowitz LE, Sternberg M, Sawyer MK, Swan D, et al. Association of Chlamydia trachomatis with persistence of high-risk types of human papillomavirus in a cohort of female adolescents. Am J Epidemiol. 2005;162(7):668–75.

Sheringham J, Mann S, Simms I, Stafford M, Hart G J, Raine R . It matters what you measure: a systematic literature review examining whether young people in poorer socioeconomic circumstances are more at risk of Chlamydia. Sex Transm Infect. 2013;89:175-180.

Silva LC, Miranda AE, Batalha RS, Sabino CC, Dib E, Costa CM, Ramasawmy R, Talhari S. *Chlamydia trachomatis* infection among HIV-infected women attending an AIDS clinic in the city of Manaus, Brazil. The Brazilian Journal of Infectious Diseases. 2012; 16(4):335-338.

Taheri beni B, Jenab Um, Roghanian R, Motamedi H, Golbang N, Golbang P, Yazdi JZ. Genotyping of Endocervical Chlamydia trachomatis Strains and Detection of Serological Markers of Acute and Chronic Inflammation in Their Host. Int J Fertil Steril. 2012; 6 (2): 101-6.

Takahashi S, Yamazaki T, Satoh K, Inoue M, Takahashi S, Ishihara O, Oka Y, Horiguchi Y, Okuwaki Y, Suzuki S, Kishimoto T. Longitudinal epidemiology of *Chlamydia trachomatis* serovars in female patients in Japan. Jpn J Infect Dis. 2007;60(6):374-6.

Tavares MCM, Macêdo JL, Lima Júnior SF, Heráclio SA, Amorim MM, Maia MMD, Souza PRE. *Chlamydia trachomatis* infection and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. Mol Biol Rep. 2014; 41:865–874.

Van Dommelen L, Wolffs PF, van Tiel FH, Dukers N, Hengreen SB, Bruggeman CA, Hoebe CJ. Influence of temperature, medium, and storage duration on *Chlamydia trachomatis* DNA detection by PCR. J Clin Micro. 2013; 51:990–2.

Vodstrcil LA, McIver R, Huston WM, Tabrizi SN, Timms P, Hocking JS. The Epidemiology of *Chlamydia trachomatis* Organism Load During Genital Infection: A Systematic Review. *J Infect Dis.* 2015 May 15;211(10):1628-45.

Woodhall SC, Soldan K, Sonnenberg P, Mercer CH, Clifton S, Saunders P, da Silva F, Alexander S⁵, Wellings K, Tanton C, Field N, Copas AJ, Ison CA, Johnson AM. Is chlamydia screening and testing in Britain reaching young adults at risk of infection? Findings from the third National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles (Natsal-3). *Sex Transm Infect.* 2015 Aug 19. pii: sextrans-2015-052013.

World Health Organization. *Prevalence and Incidence of Selected Sexually Transmitted Infections.* (World Health Organization, Geneva, 2011).

World Health Organization (WHO). Prevalence and incidence of selected sexually transmitted infections. *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, syphilis and *Trichomonas vaginalis*. Methods and results used by WHO to generate 2005 estimates; 2005. Available on site <http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/9789241502450/en/>

Zhang JJ, Zhao GL, Wang F, Hong FC, Luo ZZ, Lan LN, Zhang CL, Peng Y, Liu XL, Feng TJ, Chen XS. Molecular epidemiology of genital *Chlamydia trachomatis* infection in Shenzhen, China. *Sex Transm Infect.* 2012 Jun;88(4):272-7.