

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Gabriela Martinez Moura Tavares

**PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA GENÉTICA DE *NEISSERIA*
GONORRHOEAE EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO
PAULO**

São Paulo

2022

Gabriela Martinez Moura Tavares

**PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA GENÉTICA DE *NEISSERIA*
GONORRHOEAE EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO
PAULO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* da Universidade Santo Amaro – UNISA, para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

Coorientador: Prof. Dr. Lucas Melo Neves

São Paulo

2022

T23p Tavares, Gabriela Martinez Moura.

Prevalência e resistência genética de *Neisseria gonorrhoeae* em mulheres da zona sul de São Paulo. — São Paulo, 2023.

70 p.: il., color.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) — Universidade Santo Amaro, 2023.

Orientador: Prof. Me. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali.

Coorientador: Prof. Me. Dr. Lucas Melo Neves.

1. Infecções Sexualmente Transmissíveis. 2. Gonorreia. 3. Resistência a doença. I. Nali, Luiz Henrique da Silva, orient. II. Neves, Lucas Melo, coorient. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

Fernando Carvalho — CRB8/10122

Dedico essa dissertação ao meu avô Sr. Luiz Moura (*in memorian*), que durante toda sua vida trabalhou em sua farmácia de bairro. Ele me mostrou que o amor e o cuidado com o próximo e o amor pelo o que exercemos/trabalhamos andam lado a lado, se entrelaçando, para que no fim o dever seja cumprido com êxito. Cuidou de gerações de pessoas que até hoje são marcadas com muita gratidão.

Ele sempre quis ter uma neta da área da saúde, e me alegro verdadeiramente em honrar esse desejo. Infelizmente durante o meu primeiro ano da graduação em Biomedicina em 2015 ele faleceu. A comoção foi intensa, família, amigos e a comunidade sofreram com a sua perda. E apesar das saudades, prossegui, finalizei minha graduação e hoje sou uma profissional da saúde. Profissional que deseja que sua carreira seja honrosa como a que o vi exercer desde quando eu era pequena.

A você meu vô querido e a toda minha amada família eu dedico este trabalho e todos os próximos que virão.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus por me fortalecer, me ajudar nesta caminhada.

Ao Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali por me orientar com muita maestria, paciência e humildade, por me incentivar arduamente durante esses dois anos, por estar sempre estar disponível e disposto a ajudar e por me dar toda a autonomia necessária para me desenvolver e crescer para que eu pudesse concluir esse trabalho com êxito.

À Prof Dra Carolina Nunes França pelo ótimo trabalho como Coordenadora do Programa de Mestrado, pela ajuda nos processos administrativo da Universidade, pelo incentivo e encorajamento e por possibilitar (junto ao meu orientador) a contemplação da bolsa-CAPEs no meu projeto no último semestre.

A todo corpo docente do Programa de Mestrado em Ciências da Saúde pela extrema competência e domínio ao lecionar e nos inserir com muita responsabilidade e sabedoria na jornada acadêmica. Com toda certeza vocês são exemplos e me inspiro em vocês para seguir carreira na Docência/Pesquisa.

Ao meu querido marido Wendell Tavares de Souza pelo companheirismo, por demonstrar todo o seu amor e carinho, pelo incentivo diário e apoio não somente nesses dois anos de caminhada, mas em todas as outras caminhadas que tivemos e que ainda teremos juntos, eu amo você.

Aos meus queridos pais Vanessa Martinez Moura e Fabricio Marques Moura por tudo o que fizeram e fazem por mim, pelo apoio, carinho, amor, e criação que me deram. Eu amo vocês.

À minha maravilhosa e única irmã Isabella Martinez Moura pelo apoio e por fazer parte da minha vida, eu amo você.

À minha querida cunhada Bianca Tavares de Souza pelo apoio e por ser uma amiga para todas as horas, eu amo você.

Aos maravilhosos e amados membros da minha família.

Aos meus colegas do Programa: Bruna, Elaine, Kevin, Giovana, Estella, Hannar e Graciela por toda ajuda na caminhada.

À querida amiga Me. Amanda Maria de Jesus Bertani, pela ajuda e disponibilidade. Desde quando era minha veterana na graduação e até mesmo hoje em dia em seu Doutorado é um grande exemplo na minha carreira.

Ao Prof. Dr. Gabriel Monteiro por permitir que realizássemos a pesquisa com suas pacientes do ambulatório de Ginecologia do HEWA. Aos resistentes da Medicina que realizaram a coleta do material cervico-vaginal das participantes. E a toda equipe administrativa do HEWA que me prestou suporte.

E claro, à todas as pacientes que de forma voluntária aceitaram participar desse estudo.

Ao programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da UNISA e a CAPES pela bolsa de estudos.

À Comissão Científica do “25º Congresso de Iniciação Científica, 19º Mostra de Pós-Graduação e 5ª Web Conferência Internacional de Pesquisa da Universidade Santo Amaro – UNISA e Universidade Católica Portuguesa –UCP” que concedeu a este projeto de pesquisa o 1º lugar na categoria de Pós-Graduação, agradeço imensamente a avaliação, a menção honrosa e prêmio concedido.

Epígrafe

***“Pois dele, por ele e para ele são todas as coisas.
A ele seja a glória para sempre! Amém. ”***

(Romanos 11:36)

RESUMO

As Infecções Sexualmente Transmissíveis são causadas por vírus, bactérias e outros microrganismos e a transmissão ocorre por meio do contato sexual (oral, vaginal e anal) sem o uso de preservativo e também pode ocorrer pela gestação, parto ou amamentação, inclusive existe a possibilidade de um indivíduo ter e transmitir mesmo sem sinais e sintomas. A gonorreia é uma doença infecciosa do trato urogenital, bacteriana, transmitida quase que exclusivamente por contato sexual ou perinatal causada pela *Neisseria gonorrhoeae*, um diplococo Gram-negativo, não flagelado, não formador de esporos, encapsulado e anaeróbio facultativo. As infecções por *N. gonorrhoeae* representam um importante problema de saúde pública, uma vez que pode trazer consequências clínicas consideráveis, bem como não é uma doença de notificação compulsória, o que dificulta o entendimento epidemiológico da doença, bem como causa impacto nas estratégias de tratamento, uma vez que a capacidade de aquisição de resistência a antimicrobianos é uma consequência esperada. Esse cenário se torna pior quando observamos regiões populosas e periféricas, a região sul da capital é a região mais populosa e, especialmente nos bairros do extremo sul, moram cerca de 2.5 milhões de pessoas (22,1%) da população de toda capital.

Objetivo: Avaliar a frequência de *N. gonorrhoeae* em mulheres atendidas no Hospital Wladimir Arruda na Zona Sul de São Paulo, associar a infecção com outros tipos de infecções e classificar a frequência por faixa etária e de acordo com fatores socioeconômicos e caracterizar a resistência à doxiciclina, azitromicina e ciprofloxacina (detecção do gene *tetM* e suas variantes, do gene ribossomal 23S rRNA e do polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) da *DNA Gyrase A Ser91Phe*. **Métodos:** Estudo é observacional e descritivo. Foram realizadas coletas por conveniência do material cervico-vaginal de pacientes femininas do serviço de ginecologia do Hospital Escola Wladimir Arruda. As amostras foram processadas por PCR em Tempo Real para avaliação da frequência e da prevalência além dos ensaios de resistência genética.

Resultados e Discussão: No total das 127 amostras analisadas por PCR em Tempo Real para identificação do gênero 23 foram positivas e corresponde a uma prevalência geral de uma infecção gonocócica de 17% (IC:95%), e as participantes eram casadas (43,48%), tinham vida sexual ativa (56,52%) e não

faziam uso de nenhum tipo de preservativo na relação sexual (52,17%). No sexo feminino a infecção é considerada sempre um achado clínico nos exames de rastreio. A maioria das infecções por *N. gonorrhoeae* nas mulheres da região estava sempre associada a outras infecções como HPV, clamídia e *Gardnerella vaginalis*. Na citologia as amostras positivas para *N. gonorrhoeae* foram de inflamatórias (82,71%) e a flora bacilar (52,17%) e no ensaio de genotipagem molecular para HPV os achados foram: 16, 39, 51, 58, 68 e 70. A maior prevalência dos ensaios de resistência foi a do gene *tetM* com 60% (IC=95%), seguida do polimorfismo da DNA Gyrase A (Ser91Phe) com 40% (IC=95%) e por fim a menor prevalência foi do gene 23S rRNA com 18% (IC=95%)

Descritores: Infecções sexualmente transmissíveis, gonorreia, resistência genética, antimicrobianos, microbiologia, biologia molecular.

ABSTRACT

Sexually Transmitted Infections (STI) are caused microorganisms, by viruses, bacteria and transmission from sexual contact (or anal transmission) can also occur through pregnancy, childbirth or birth through. And there is a possibility that an individual can have and transmit it even without signs and symptoms. Gonorrhea is an infectious, bacterial disease, almost exclusively by sexual or perinatal contact, infectious, by *Neisseria*, non-spore flagellant, encapsulated and facultative. Infections by *N. gonorrhoeae* represent an important public health problem, since it can bring about considerable clinical conditions, as well as it is not a notifiable disease, which hinders the epidemiological understanding of the disease, as well as causes an impact on treatment strategies, since the ability to acquire antimicrobial resistance is an expected consequence. This scenario becomes worse when we observe populous and peripheral regions, the southern region of the capital is the most populous region and, especially in the extreme south neighborhoods, live about 2.5 million people (22.1%) of the population of the entire capital, according to the São Paulo Prefecture in 2018. **Objective** To evaluate the frequency of *N. gonorrhoeae* in women treated at the Wladimir Arruda Hospital in the South Zone of São Paulo, associated with infection with other types of infections and classify the frequency by age group and according to socioeconomic factors and characterizing resistance by age group, azitro and ciproflaxin (detection of the *tetM* gene and its variants, ribosomal rRNA and single rRNA polymorphism (SNPs) of DNA *Gyra* A Ser91Phe **Methods:** This study is observational and descriptive with convenience collects of cervico-vaginal material from female patients at the gynecology service of the Hospital Escola Wladimir Arruda. Samples were processed by Real Time PCR to assess frequency and prevalence in addition to genetic resistance assays. **Results and Discussion:** Of the 127 samples analyzed by Real Time PCR for gender identification, 23 were positive and corresponds to an overall prevalence of a gonococcal infection of 17% (CI: 95%), and the participants were married (43, 48%), were sexually active (56.52%) and did not use any type of condom during sexual intercourse (52.17%). In females, the infection is always considered a clinical finding in screening tests. Most *N. gonorrhoeae* infections in women in the region were always associated with other infections such as HPV, *chlamydia* and

Gardnerella vaginalis. In the cytology, the positive samples for *N. gonorrhoeae* were inflammatory (82.71%) and the bacillary flora (52.17%) and in the molecular genotyping assay for HPV the findings were: 16, 39, 51, 58, 68 and 70. The highest prevalence of resistance assays was for the *tetM* gene with 60% (CI=95%), followed by the DNA Gyrase A polymorphism (Ser91Phe) with 40% (CI=95%) and finally the lowest prevalence was of the 23S rRNA gene with 18% (CI=95%).

Descriptors: Sexually transmitted infections, gonorrhea, genetic resistance, antimicrobials, microbiology, molecular biology.

Lista de Abreviatura

AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
SIDA	<i>Síndrome da Imunodeficiência Adquirida</i>
CDC	<i>Centro para Prevenção e Controle de Doenças – do inglês Center for Disease Control and Prevention</i>
CIM	<i>Concentração Inibitória Mínima</i>
CLSI	<i>Clinical Laboratory Standard Institute</i>
DIP	<i>Doença Inflamatória Pelvica</i>
DNA	<i>Desoxyribonucleic Acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
ESBL	<i>β-lactamases de espectro estendido, do inglês Extended Spectrum Beta-Lactamases</i>
E-Test	<i>Episolometer Test</i>
GASP	<i>Programa de Vigilância Antimicrobiana Gonocócica,</i>
HEWA	<i>Hospital Escola Wladimir Arruda</i>
URC	<i>Unisa Research Center</i>
PAPLAB	<i>Laboratório de Pesquisa em Citopatologia</i>
HIV	<i>Human Immuno-Deficiency Virus</i>
HPV	<i>Human Papillomavirus</i>
IV	<i>Intravenoso</i>
IM	<i>Intramuscular</i>
VO	<i>Via Oral</i>
IST	<i>Infecções Sexualmente Transmissíveis</i>
LOS	<i>Lipooligosacarídeo</i>
LPS	<i>Lipopolissacarídeo</i>
OMS	<i>Organização Mundial de Saúde</i>
PABA	<i>Ácido 4-aminobenzoico</i>

PBP	<i>Proteínas de ligação a penicilina, do inglês penicilin biding protein</i>
PorB	<i>Proteína porina</i>
PCR	<i>Polimerase Chain Reaction</i>
Rmp	<i>Reduction modifiable protein</i>
ROS	<i>Reactive Oxygen Species</i>
SUS	<i>Sistema Único de Saúde</i>
HSH	<i>Homem que faz sexo com outro homem</i>
MFS	<i>Major Facilitator Family</i>
MATE	<i>Multidrug and Toxic Efflux</i>
RDN	<i>Resistance-Nodulation-Division Family</i>
SMR	<i>Small Multidrug Resistance</i>
ABC	<i>Adenosine Triphosphate Binding Cassette</i>
ROS	<i>Espécies Reativas de Oxigênio</i>
MDR	<i>Multidrug Resistance</i>
PCDT	<i>Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas</i>
TM	<i>Temperatura de Melting (Dissociação)</i>
CT	<i>Cycle Threshold (Ciclo de Quantificação)</i>
CONITEC	<i>Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde</i>

Lista de Figuras

Figura 1. Prevalência estimada de clamídia, gonorreia, tricomoníase e sífilis em mulheres de 15 a 49 anos por região da OMS.....	22
Figura 2. Prevalência estimada de clamídia, gonorreia, tricomoníase e sífilis em homens de 15 a 49 anos por região da OMS.....	22
Figura 3. PCR em Tempo Real para cultura de <i>N. gonorrhoeae</i> com replicatas. Curvas de amplificação com os gráficos de fluorescências no decorrer do ciclo de cada duplicata. Curvas de temperatura de Melting de cada amplificação.....	53
Figura 4. Gráfico de curva padrão da amostra de cultura de <i>N. gonorrhoeae</i>	53

Lista de Tabelas

Tabela 1. Modos de ação e mecanismos de resistência dos antibióticos	35
Tabela 2. Descrição dos tipos de possíveis mutações genéticas de resistência	37
Tabela 3. Primers utilizados nos ensaios de PCR para identificação de genero (por Vicã et al, 2021)	48
Tabela 4. Padronização de quantidade para Master Mix de Reagentes (Protocolo URC)	48
Tabela 5. Padronização de quantidade de amostra em cada poço da microplaca de PCR (Protocolo URC)	48
Tabela 6. Etapas do procedimento da ciclagem conforme suas condições	49
Tabela 7. Primers utilizados no ensaio tetM (Turner, Gough e Leeming, 1999)	50
Tabela 8. Primers utilizados no ensaio 23S rRNA (Valentina Doná et al, 2018)	50
Tabela 9. Primers utilizados no ensaio DNA Gyrase A (Valentina Doná et al, 2018)	50
Tabela 10. Resultados da Cultura (amostra controle) no Nanodrop	52
Tabela 11. Resultados de Amostras de Cultura de todos os ensaios de PCR.	53
Tabela 12. Prevalência da infecção por N gonorrhoeae nas participantes (n=127)	54
Tabela 13. Sintomas e manifestações das pacientes positivas para N. gonorrhoeae	54
Tabela 14. Resultados das variantes encontradas no ensaio tetM	55
Tabela 15. Características sócio demográficas das participantes (n=127)	56
Tabela 16. Achados de citopatológicos e de microbiota nas amostras	58

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	19
1.1	Infecções sexualmente transmissíveis	19
1.2	História das IST em relação às mulheres	19
1.3	Contexto histórico-social de mulheres em relação às IST	20
1.4	Epidemiologia	21
1.4.1	Incidência mundial de IST	21
1.4.2	Incidência mundial de gonorreia	21
1.4.3	Incidência de gonorreia no Brasil	23
1.5	Manifestações clínicas de gonorreia em mulheres	23
1.6	Infecção bacteriana	25
1.6.1	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	25
1.6.2	Patogenicidade da <i>N. gonorrhoeae</i>	26
1.7	Diagnóstico de IST	29
1.8	Diagnóstico de gonorreia	29
1.9	Tratamento de gonorreia	30
1.10	Abordagem geral sobre antimicrobianos	31
1.11	Classificação das famílias de antimicrobianos	32
1.11.1	Antimicrobianos que inibem a síntese da parede celular	32
1.11.2	Antimicrobianos que inibem a síntese da proteína dos ribossomos	33
1.11.3	Antimicrobianos que inibem a síntese da membrana citoplasmática	33
1.11.4	Antimicrobianos que alteram a síntese de ácidos nucleicos	34
1.11.5	Antimicrobianos que alteram os metabolismos celulares	34
1.12	Resistência a antimicrobianos	36
1.12.1	Bases genéticas da resistência	36
1.12.2	Mecanismo de resistência intrínseca ou natural	38
1.12.3	Mecanismo de resistência adquiridos	39
1.12.4	Mecanismos de ação de antimicrobianos associados à resistência genética de <i>N. gonorrhoeae</i>	40
1.12.5	Resistência às Quinolonas	41

	17
1.12.6 Resistencia aos Macrolídeos	42
1.12.7 Resistência as Tetraciclina	42
1.13 Relação entre saúde pública e resistência antimicrobiana	43
2. JUSTIFICATIVA	45
3. OBJETIVO	46
3.1 Objetivo geral	46
3.2 Objetivos secundários	46
4. METODOLOGIA	47
4.1 Coleta de material cervico-vaginal e cultura de <i>N. gonorrhoeae</i>	47
4.2 Caracterização genotípica dos isolados para <i>N. gonorrhoeae</i>	47
4.2.1 Extração de DNA	47
4.2.2 PCR em Tempo Real identificação do gênero <i>Neisseria</i>	47
4.2.3 PCR em Tempo Real para curva padrão da amostra de cultura utilizada como controle positivo	49
4.3 Detecção e genotipagem da resistência à Tetraciclina	49
4.4 Detecção e genotipagem da resistência à Azitromicina	50
4.5 Detecção e genotipagem da resistência à Ciprofloxacina	50
4.6 Caracterização citopatológica e genotipagem de HPV	51
4.7 Análises estatísticas	51
5. RESULTADOS	52
5.2 Descrição da população do estudo	52
5.2.1 Quantificação da amostra de cultura (controle positivo)	52
5.2.2 PCR em Tempo Real para curva padrão da amostra de cultura	52
5.2.3 Prevalência da infecção por <i>N. gonorrhoeae</i> em mulheres da Zona Sul de São Paulo	54
5.2.4 Sintomatologia e manifestações clínicas das pacientes positivas para <i>N. gonorrhoeae</i>	54
5.2.5 Resistencia genética a Tetraciclina (gene <i>tetM</i> e variantes)	55
5.2.6 Resistencia genética a Azitromicina (gene 23S <i>rRNA</i>)	55
5.2.7 Resistencia genética a Ciprofloxacina (DNA Gyrase A)	55
5.2.8 Dados epidemiológicos das mulheres da Zona Sul de São Paulo	56
5.3 Descrição dos dados das amostras por citopatologia	57

	18
5.4 Descrição dos dados de genotipagem de HPV	58
6. DISCUSSÃO	61
6.2 Desafios e limitações do estudo	62
7. Conclusão	63
8. REFERENCIAS	64
9. ANEXOS	71

1. INTRODUÇÃO

1.1 Infecções sexualmente transmissíveis

As infecções sexualmente transmissíveis (IST) são causadas por vírus, bactérias e outros microrganismos e a transmissão ocorre por meio do contato sexual (oral, vaginal e anal) sem o uso de preservativo e também pode ocorrer pela gestação. Representam um grande problema na saúde pública, pois causam impacto na vida de brasileiros e de pessoas ao redor do mundo e também são consideradas de suma importância e representam desafios às autoridades governamentais de saúde devido à sua magnitude e dificuldade de acesso ao tratamento adequado¹.

O tratamento inadequado das infecções sexualmente transmissíveis (IST) ou o não tratamento pode resultar em complicações como a doença inflamatória pélvica (DIP), gravidez ectópica, infertilidade masculina e feminina, cânceres, abortos, prematuridade, natimortos, mortalidade neonatal e infecções congênitas, além de aumentar o risco de transmissão do HIV (*human immunodeficiency virus*). No Brasil, a verdadeira situação epidemiológica dessas doenças e de suas complicações não são bem conhecidas, devido ao fato da maioria das IST não ser de notificação compulsória, além da escassez de estudos sentinelas e de base populacional¹.

1.2 História das IST em relação às mulheres

O estudo do corpo feminino pela medicina reforçou a ideia, ao longo da história, de que a função da mulher era exclusivamente a procriação^{2,3}. O modelo de saúde feminina era o modelo do corpo da boa mãe utilizado para definir a saúde física, mental e moral da mulher⁴. Assim, consagrou-se a maternidade, que possibilitava à mulher limpar a sujeira do coito com a gestação. A maternidade retirava o conteúdo sujo e nefasto da sexualidade⁵.

No caso brasileiro, durante o período colonial, a Igreja também foi a responsável por buscar normatizar o comportamento feminino³. Para alcançar algum reconhecimento social, a mulher deveria contrair matrimônio. A partir daí, poderia iniciar a vivência de sua sexualidade, exclusivamente dedicada à procriação, bem como a tarefa de cuidar dos filhos e da casa². Nessa época,

então, tanto o ideal religioso como médico regulavam o que deveria ser o comportamento feminino⁵.

Durante o século XX, as discussões a respeito de saúde coletiva e vigilância sanitária, no que concerne às doenças sexualmente transmissíveis, apresentavam um misto de argumentos técnico-científicos e moralistas. Os cuidados com a saúde da mulher remetiam a contradições. De um lado, a preocupação com as manifestações corporais da mulher e com a maternidade e, de outro, a preocupação com a moralidade e a honra feminina^{5,6}.

1.3 Contexto histórico-social de mulheres em relação às IST

As mulheres são especialmente mais vulneráveis às IST por características biológicas e questões sociais, que impõem a elas condições de submissão e inferioridade em relação aos homens, privando-as, inclusive, do poder de decisão acerca da atividade sexual com proteção; atividade sexual precoce, baixa escolaridade, baixa renda e à dependência econômica das mulheres, especialmente nos países em desenvolvimento. Além disso, existe a falta de percepção da população feminina em contrair uma IST, visto que as mesmas atrelam esse risco em outras mulheres e não em si mesmas. Destaca-se também, que a maioria das mulheres associa o uso do preservativo como forma de evitar uma gravidez não planejada e não como prevenção contra IST^{7,8}.

A vulnerabilidade pode ser definida como uma situação resultante de um conjunto de fatores individuais, programáticos, sociais e culturais, interdependentes e mutuamente influenciáveis, relacionados ao grau e modo de exposição a uma dada situação, que acarretam maior suscetibilidade ao adoecimento^{9,10}. A vulnerabilidade são processos provenientes do não reconhecimento, ou desrespeito, com consequências danosas para aqueles que o sofrem, ao mesmo tempo em que expõem fragilidades (afetivas, normativas e éticas) que reclamam respostas que podem se estender do plano das relações interpessoais até o campo macro político da conformação das normatividades sociais e estruturas institucionais^{10,1}.

1.4 Epidemiologia

1.4.1 Incidência mundial de IST

As IST persistem como problema de Saúde Pública mundial. Em 2016, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou uma incidência de 376,4 milhões de casos de IST curáveis em pessoas de 15 a 49 anos de idade, entre os quais destacaram-se 127,2 milhões de casos de clamídia, 86,9 milhões de casos de gonorreia e 6,3 milhões de casos de sífilis. Na Região das Américas, estimaram-se 29,8 milhões de casos de clamídia, 13,8 milhões de casos de gonorreia e 2 milhões de casos de sífilis¹¹, (conforme figuras 1 e 2). Tais estimativas indicam alta frequência das IST e justificam a estratégia global da OMS e a definição de ações prioritárias para alcançar metas de eliminação das IST até 2030^{12,13}.

1.4.2 Incidência mundial de gonorreia

Existem evidências de que no final dos anos 1990, a incidência de gonorreia voltou a aumentar, especialmente em algumas subpopulações. Nos Estados Unidos da América, Europa e Austrália foi observado crescimento da incidência na população de HSH (homens que fazem sexo com homens). Na Austrália, taxas em alguns centros cresceram em 1998 em até 50%. No mesmo período, a transmissão endêmica da gonorreia foi bastante significativa na Suécia e na Dinamarca, especialmente em HSH. Desde 1990, tem ocorrido aumento no número de casos na Inglaterra e no país de Gales, tanto em homens quanto em mulheres. Em países do leste europeu houve substancial aumento da incidência de gonorreia e outras doenças sexualmente transmissíveis. Nesses países foi verificada mudança no comportamento sexual, com aumento da liberdade sexual, promiscuidade e prostituição^{14,15}.

Estimativas globais, publicadas pela Organização Mundial de Saúde em 2000, indicavam cerca de 62 milhões de novos casos de gonorreia anualmente no mundo, com maior número de novos casos estimados ocorrendo no Sul e Sudeste da Ásia (29,11 milhões), África Subsaariana (15,67 milhões) e na América Latina e Caribe (7,12 milhões)¹⁶.

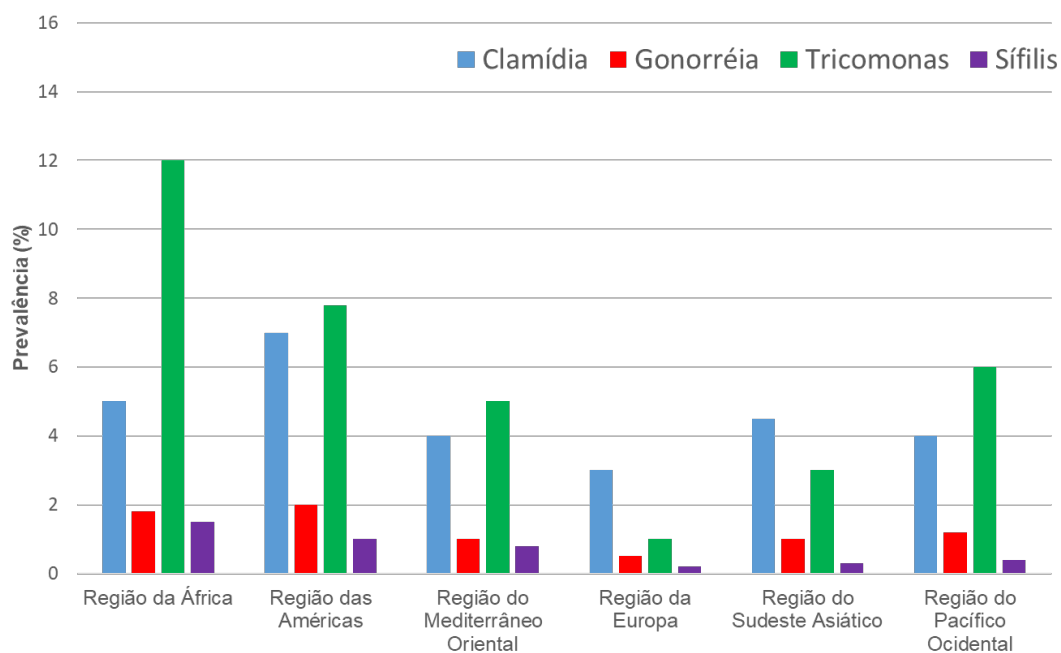


Figura 1. Prevalência estimada de clamídia, gonorreia, tricomoníase e sífilis em mulheres de 15 a 49 anos por região da OMS, com base em dados de 2009-2016. (WHO,2016) – Adaptado

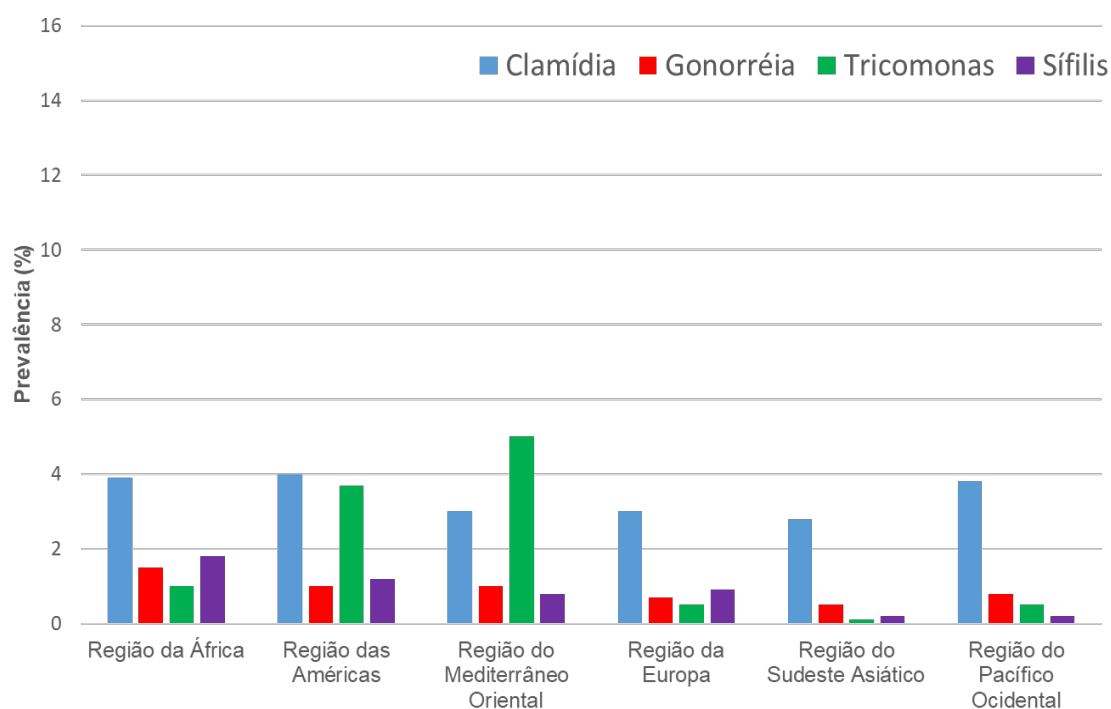


Figura 2. Prevalência estimada de clamídia, gonorreia, tricomoníase e sífilis em homens de 15 a 49 anos por região da OMS, com base em dados de 2009-2016. (WHO,2016) - Adaptado

1.4.3 Incidência de gonorreia no Brasil

No Brasil, não há um mapa de distribuição das doenças sexualmente transmissíveis e os dados da gonorreia são escassos. Segundo a última estimativa do Ministério da Saúde, ocorrem no país anualmente cerca de 1.541.800 casos de gonorreia. Provavelmente, esses dados estão subestimados, visto que a notificação das doenças sexualmente transmissíveis não é integralmente obrigatória. Essas portarias, entretanto, não preconizam a distinção entre casos de uretrite gonocócica e uretrite não gonocócica, e não há garantia de que os casos estejam sendo realmente notificados nem da qualidade dos relatórios emitidos. O Ministério da Saúde procurou conhecer durante o período de 2004 a 2005, em seis capitais (Goiânia, Fortaleza, Porto Alegre, São Paulo, Rio de Janeiro e Manaus), a prevalência das doenças sexualmente transmissíveis no Brasil, sendo encontrada para gonorreia a prevalência de 0,9% para homens trabalhadores de indústria, 1,5% para gestantes, e 7,4% para usuários de clínicas de doenças sexualmente transmissíveis, sendo 3,3% para as mulheres e 18,5% para os homens¹³.

As IST que fazem parte da lista nacional de notificação compulsória incluem os casos de síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA), HIV, HIV em gestantes, hepatites virais, sífilis em gestantes, sífilis adquirida e síndrome do corrimento uretral masculino. Os protocolos de HIV e hepatites são específicos e tratados separadamente^{13, 17}.

Em países em desenvolvimento as IST estão entre as 10 causas mais frequentes de procura por serviços de saúde, com consequências de natureza sanitária, social e econômica. A falta de acesso a serviços de saúde efetivos e confiáveis se refletem no aumento das IST em muitos países e essas infecções podem representar até 17% de perdas econômicas, causadas pelo binômio saúde-doença¹.

1.5 Manifestações clínicas de gonorreia em mulheres

A gonorreia é doença infecciosa do trato urogenital, bacteriana, transmitida quase que exclusivamente por contato sexual ou perinatal. Acomete primariamente as membranas mucosas do trato genital inferior e menos

frequentemente aquelas do reto, orofaringe e conjuntiva. Trata-se de afecção de manifestações clínicas pleomórficas, variando desde a ausência total de sintomas até a ocorrência de salpingite aguda, uma das causas mais comuns de infertilidade feminina no mundo. Além disso, são consequências adicionais importantes as infecções bacteriêmicas, a conjuntivite neonatal e a epididimite aguda^{18,19}.

Apesar da maioria das mulheres não sentirem sintomas quando estão com gonorreia, podem surgir os seguintes sinais: dor e ardor ao urinar, incontinência urinária, corrimento branco-amarelado e inflamação das glândulas de Bartholin. Aqui o local primário da infecção genital situa-se na endocérvice porém a *N. gonorrhoeae* é também frequentemente recuperada da uretra ou reto e ocasionalmente das glândulas periuretrais de Skene e dos ductos das glândulas de Bartholin¹⁸. Entre 10% a 20% das mulheres que estão com gonorreia, a infecção ascende via endométrio para as tubas uterinas gerando salpingite e a doença inflamatória pélvica (DIP)²⁰. Infecções concomitantes por *Chlamydia trachomatis* ocorre em 35% a 50% das mulheres gerando uma infecção gonocócica disseminada (IGD), que pode ocasionar pericardite, endocardite, meningite e perihepatite^{21,22}.

As principais complicações nas mulheres são: Bartholinite que é uma inflamação na Glândula de Bartholin que gera a formação de cistos e abscessos profundos na parede vaginal. É o sintoma mais comum na mulher, sendo um fator de risco na idade reprodutiva, pois pode ocasionar infertilidade²³. A salpingite, também conhecida como anexite é uma inflamação pélvica das tubas uterinas e provoca endometrite, ooforite, abscessos tubo-ovariano e peritonite e trata-se de causa significativa de infertilidade, gravidez ectópica e dor pélvica crônica²⁴. Pode ocasionar a famosa DIP que é observada em 90% dos casos. Os sintomas nesses casos incluem dor na mobilidade cervical, dor uterina, corrimento vaginal secundário, endometrite e cervicite^{24,25}.

A faringite gonocócica é uma infecção na faringe que acomete entre 10% a 20% das mulheres que tem contato sexual com homens infectados por *N. gonorrhoeae* e cerca de 70% dos casos de faringite gonocócica são assintomáticos, porém se essa infecção se tornar crônica pode causar conjuntivite crônica e endocardite bacteriana²². A perihepatite aguda (síndrome de Fitz-Hugh e Curtis) ocorre primariamente por extensão direta da *N.*

gonorrhoeae ou da *Chlamydia trachomatis* da tuba uterina à cápsula hepática e ao peritônio adjacente¹⁸.

A gonorreia nas gestantes associa-se com risco aumentado de aborto espontâneo, parto prematuro, ruptura prematura de membranas e mortalidade fetal perinatal, porém não está claro se a infecção gonocócica se responsabiliza por estas consequências ou se constitui simplesmente um marcador para alto risco devido a outros mecanismos patogênicos. As manifestações clínicas da gonorreia não se alteram na gravidez, exceto que a doença inflamatória pélvica e a perihepatite revelam-se raras após o primeiro trimestre, quando o concepto obstrui a cavidade uterina. Mães infectadas podem transmitir a *N. gonorrhoeae* para o concepto intrauterino, durante o parto, ou no período pós-parto. A conjuntivite gonocócica do neonato (oftalmia neonatal) representa a manifestação mais comumente reconhecida¹⁸.

1.6 Infecção bacteriana

1.6.1 *Neisseria gonorrhoeae*

A gonorreia encontra-se entre as mais antigas doenças humanas conhecidas, havendo referências da uretrite venérea nos escritos chineses, no Velho Testamento bíblico e em outras literaturas da antiguidade. O nome gonorreia origina-se do grego e foi Galeno (130-200 d.C.) que assim a denominou - gonorreia (gonos = espermatozoide + rhoia = corrimento), pela confusão do exsudato purulento com sêmen²⁶. Neisser em 1879 descreveu o organismo e Leistikow e Loeffler o cultivaram em 1882, quando recebeu a denominação de *N. gonorrhoeae*^{26,18}.

O gênero *Neisseria* apresenta cerca de 10 espécies saprófitas ou patogênicas ao homem, sendo a *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. pharyngis* e a *N. catarrhalis* são as que apresentam maior importância de saúde pública. A diferenciação das espécies pode ser feita através da oxidação dos açúcares. A *N. gonorrhoeae* oxida a glicose, mas não a maltose, sacarose ou lactose²⁷.

A *N. gonorrhoeae* é um diplococo Gram-negativo, não flagelado, não formador de esporos, encapsulado, anaeróbio facultativo, com diâmetro entre 0,6 a 1,06µ. Na bacterioscopia corada pelo método de Gram, apresenta-se como duas estruturas reniformes justapostas, espelhadas pela concavidade e

aproximadas pela extremidade, quase sempre agrupadas em massa no espaço extracelular e/ou no citoplasma dos polimorfonucleares abundantes²⁸. Como todas as bactérias Gram-negativas, o gonococo possui envelope celular composto de três camadas distintas: uma membrana citoplasmática interna, a parede celular de peptidoglicano e membrana externa. A camada de peptidoglicano da *N. gonorrhoeae* pode também contribuir para a resposta inflamatória, porque os fragmentos de peptidoglicano gonocócicos mostram-se tóxicos às tubas uterinas e causam consumo de complemento^{29, 24}.

O gonococo não tolera redução da umidade e as amostras devem ser inoculadas imediatamente em meio apropriado. Obtém-se crescimento melhor em temperaturas de 35 a 37°C, e muitas amostras requerem uma certa quantidade de dióxido de carbono ou de bicarbonato. Colônias típicas surgem em 24 a 48 horas, porém sua viabilidade no meio perde-se rapidamente por autólise³⁰.

Muitos gonococos possuem plasmídeo de conjugação e, portanto, podem transferir outros plasmídeos não-próprios com alta eficiência^{31,32}.

1.6.2 Patogenicidade da *N. gonorrhoeae*

A *N. gonorrhoeae* primeiramente se fixa às células da mucosa, penetram e se multiplicam no interior das células, aderindo-se ao epitélio urogenital. Em seguida, causa uma lesão subepitelial. A presença de pili é importante para a fixação da bactéria. A proteína de opacidade - Opa (media a aderência á células epiteliais) se fixa na superfície da célula hospedeira e, dirige a migração das bactérias para as células epiteliais. Acredita-se que a proteína porina- Por (promove a sobrevivência intracelular) tem a capacidade de proteger as bactérias fagocitadas da destruição intracelular ao inibir a fusão do fagolisossomo. O Lipo-oligossacarídeo- LOS gonocócico que tem efeito tóxico e mimetiza estruturas da membrana celular estimula a resposta inflamatória e a liberação de TNF- α responsável pela maioria da sintomatologia associada à *N. gonorrhoeae*³³.

A habilidade que a *N. gonorrhoeae* tem em modular os seus antígenos de superfície com elevada rapidez aliada à elevada ocorrência de mutações pontuais no seu cromossoma são a base do seu sucesso como patógeno estritamente humano. Várias moléculas são produzidas pela bactéria para

permitir a colonização e/ou infecção do hospedeiro, incluindo adesinas, que são fatores cruciais na colonização inicial da mucosa humana³⁴.

O fator mais marcante da virulência desta bactéria é precisamente a sua capacidade de modular a expressão dos seus antígenos de superfície tanto “*in vitro*” como “*in vivo*”. Assim, a bactéria pode evadir-se do sistema imunitário do hospedeiro e modular a adesão e invasão de diferentes células. A sua integração nas células epiteliais envolve a integração de vários fatores de virulência sendo, o pili, lipopoligossacarídeo (LOS), proteína porina, proteína de opacidade, e outras proteínas tais como a Rpm, Fbp, H8³⁵.

A *N. gonorrhoeae* possui Pili do Tipo IV que são filamentos flexíveis longos, constituídos por subunidades da proteína pilina de peso molecular 16.5 a 21.5 kDa, e podem estender-se por vários micrómetros a partir da superfície da célula, são codificados pelo gene *pilE*. Os pili tipo IV estão fortemente relacionados com a virulência dos gonococos e sua capacidade de causar doença. Esta estrutura sofre continuamente variação antigênica, o que presumidamente possibilita a reinfeção em grupos de risco. São os pili do tipo IV que promovem a adesão e fixação no processo de infecção sendo o primeiro fator de virulência no ataque inicial da bactéria às células das mucosas dos tecidos humanos e, somente as bactérias que os possuem, são capazes de produzir infecção. Além da adesão e fixação, os pili estão envolvidos em outras funções como facilitação da captação de DNA estranho do meio extracelular, aumentando a frequência de transformação da bactéria e mantendo a diversidade genética que sustenta o sucesso das espécies de *Neisseria* no hospedeiro humano^{34,36}.

Possuem também a porina (Por ou proteína I) que é a principal proteína da membrana externa da *N. gonorrhoeae*, sendo essencial para a sobrevivência e viabilidade da bactéria. É termoestável com 34 a 35 kDa, codificada pelo gene *porB* que possui dois alelos, o *porA1a* e *porB1b*. Ocupa toda a espessura da membrana e tem como função controlar a entrada e saída de moléculas para o espaço periplasmático. Uma dada cepa produz uma ou outra, mas nunca as duas proteínas *PorA* (P1A) ou *PorB* (P1B). A porina P1B de *N. gonorrhoeae* tem a propriedade de modular a apoptose da célula eucariótica através da interação com os canais dependentes de voltagem aniônica nas mitocôndrias. As porinas também auxiliam na invasão celular e cooperam com os pili para modular a

sinalização celular através da indução sequencial do fluxo de cálcio e na mobilização do cálcio intracelular para as células alvo. Estas proteínas têm sido utilizadas em pesquisas epidemiológicas para caracterização fenotípica dos gonococos³⁶.

Possuem proteínas Opa (adesinas) que são da família de moléculas transmembranares e formam oito cadeias de estruturas em folha β na membrana externa da bactéria com quatro loops expostos à superfície. Estas proteínas facilitam a aderência entre as bactérias e as células eucariotas (neutrófilos e células epiteliais) e atuam na evasão ao sistema imune por variação antigénica, coadjuvando a invasão do hospedeiro. Uma única estirpe pode expressar de nenhuma a quatro ou cinco proteínas Opa simultaneamente e a alternância da fase “on/off” dos distintos genes *opa* aumentam a variação antigénica. As proteínas Opa sofrem variação de fase (Opa+ e Opa-) e variação antigénica (*opaA*, *opaB*, *opaC*...), de uma forma análoga às pilis. Cada gene *opa* é um gene completo com zona promotora, e é sempre transcrito em ácido ribonucleico (RNA)³⁴.

Na membrana externa da *N. gonorrhoeae* tem a Proteína Rpm – Proteína III, também conhecida como proteína de redução modificável (*reduction modifiable protein - Rmp*) e tem um peso molecular de 30 a 31 kDa. Tem relação estreita com o LOS e a Por, poucas variações intra e inter estirpes, e demonstra acentuada semelhança antigénica com a proteína da membrana externa da *E. coli*, a OmpA³⁴.

Existe uma proteína que se conhece pouco, que é a proteína H8, mas existem pelo menos duas proteínas com epítipo de ligação reconhecido por anticorpos monoclonais H8, em *N. gonorrhoeae*. Uma delas é a lipoproteína azurina (Laz) que está envolvida na defesa contra o stress oxidativo e toxicidade do cobre³⁴.

A *N. gonorrhoeae* possui receptores funcionais de transferrina e hemoglobina, mas nem todos possuem receptores funcionais de lactoferrina. Desta forma, os receptores de lactoferrina e transferrina parecem ser funcionalmente importantes para a infeção da mucosa. A expressão do receptor de hemoglobina é sujeito a variação de fase e foi demonstrado que os isolados de mulheres nas primeiras duas semanas do ciclo menstrual têm maior expressão destes receptores quando comparados com os isolados de mulheres

na outra metade do ciclo ou isolados de homens, sugerindo que a disponibilidade de hemoglobina seja uma vantagem seletiva para a bactéria *in vivo*³⁴.

1.7 Diagnóstico de IST

De acordo com o Departamento de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis (Ministério da Saúde) as IST têm múltiplas apresentações clínicas. No que diz respeito ao diagnóstico das IST, a anamnese, a identificação das diferentes vulnerabilidades e o exame físico constituem-se como elementos essenciais. Durante o exame físico, deve-se proceder, quando indicado, à coleta de material biológico para a realização de testes laboratoriais ou rápidos³⁷.

A abordagem sindrômica, que se baseia nos aspectos clínicos para classificar os principais agentes etiológicos e definir o tratamento sem o apoio de testes laboratoriais ou rápidos, não possui cobertura completa nos diferentes aspectos das IST. Dessa forma, sempre que possível, os testes laboratoriais ou rápidos devem ser utilizados para auxiliar na definição do diagnóstico. É importante ressaltar que, mesmo que não haja sinais e sintomas, as IST podem estar presentes e ser, inclusive, transmissíveis³⁷.

Para auxiliar no diagnóstico efetivo existem uma ampla gama de testes laboratoriais, e estes dividem-se em três tipos: Detecção direta do microrganismo: Por meio de cultura, detecção de antígeno ou ácido nucleico, além da microscopia com o uso de coloração apropriada. Detecção da resposta do hospedeiro: Por meio de testes sorológicos. E de metabólicos microbianos, por meio de materiais que alteram o "pH" das secreções vaginais³⁸.

1.8 Diagnóstico de gonorreia

O diagnóstico laboratorial da gonorreia depende da identificação da *N. gonorrhoeae* em um local infectado. O diagnóstico é confirmado quando a *N. gonorrhoeae* é detectada via exame microscópico com utilização de coloração de Gram ou cultura dos líquidos genitais²⁰.

O isolamento por cultura é o método de diagnóstico padrão sendo realizado com um meio de cultura seletivo o Thayer-Martin modificado, a partir de amostras endocervicais e uretrais²⁰.

A coloração Gram é sensível e específica para gonorreia em amostras colhidas de homens com secreção uretral. Normalmente, são vistos diplococos intracelulares Gram-negativos. A coloração de Gram é muito menos precisa para as infecções de cérvix, faringe e reto, não sendo recomendada para diagnóstico destes locais³⁹.

As linhagens de gonococos são frágeis, as amostras obtidas precisam ser rapidamente semeadas em meio apropriado e transportadas para o laboratório em um ambiente com acréscimo de dióxido de carbono. As amostras do sangue e de líquidos articulares devem ser enviadas ao laboratório com notificação de suspeita de infecção gonocócica²⁰.

A amplificação do DNA pela reação em cadeia da polimerase (PCR) oferece sensibilidade comparável ou até mesmo superior a cultura, pois é um método específico, sensível e rápido²⁰.

Tem-se o material endocervical utilizando-se um swab no orifício externo, com cuidado para evitar contato com a mucosa vaginal ou com secreções. A escolha dos pontos anatômicos de obtenção de material para estudo depende dos sítios expostos e das manifestações clínicas^{22,18}.

1.9 Tratamento de gonorreia

Os medicamentos aceitáveis para o tratamento da gonorreia devem ter eficácia próxima de 100%. Deve-se considerar que os padrões de sensibilidade antimicrobiana variam de acordo com a área geográfica ou com a população estudada e flutuam ao longo do tempo, devendo o tratamento ser individualizado de acordo com os dados epidemiológicos. Umas variedades de fatores, além da sensibilidade antimicrobiana, influenciam as decisões terapêuticas na gonocócica. Estes incluem características farmacocinéticas do agente, eficácia nas infecções complicada e não-complicada, toxicidade, conveniência da administração e custo¹⁸.

A terapia preconizada atualmente para o tratamento da gonorreia utiliza dois antibióticos com mecanismos de ação diferentes, com objetivo de melhorar a eficácia do tratamento e retardar o desenvolvimento de resistência. Para essa finalidade, recomenda-se uma única dose de 250 mg de ceftriaxona pela via intramuscular e 1 g de azitromicina pela via oral, os quais acabam com a

infecção, mas não reparam qualquer lesão causada pela doença. A utilização da azitromicina no tratamento de gonorreia se deve ao fato de que pessoas infectadas com a *N. gonorrhoeae* possuem alta probabilidade de estarem infectadas com *C. Trachomatis*, desta forma, a dupla terapia se torna eficaz tanto para o tratamento de gonorreia como também para o tratamento de clamídia^{18,22}.

Recomenda-se como terapia inicial um dos quatro esquemas terapêuticos alinhados abaixo: ceftriaxona 250mg intramuscular, cefixime 400mg via oral, ciprofloxacina 500mg via oral ou ofloxacina 400mg via oral, sendo todos administrados em dose única²⁶. A Ciprofloxacina e ofloxacina devem ser evitadas em gestantes e não apresentam atividades contra a sífilis²².

Esquemas em dose única com várias outras cefalosporinas, quinolonas ou outros antibióticos podem ser utilizados, mas não mostram vantagens sobre esses quatro regimes recomendados. A espectinomicina 2g intramuscular em dose única pode ser utilizada em gestantes com história de alergia à penicilina ou às cefalosporinas. Independente do antibiótico de única dose escolhido, o tratamento inicial deve ser seguido de uma terapia ativa contra *Chlamydia trachomatis*⁴⁰. Os esquemas recomendados são a doxiciclina 100mg 12/12h por via oral diariamente por 7 dias, ou dose única de azitromicina 1g via oral⁴¹. Mulheres grávidas com gonorreia não complicada devem ser tratadas com ceftriaxona em dose única de 250mg intramuscular. A doxiciclina e as quinolonas mostram-se contraindicadas na gravidez, sendo que é recomendado realizar novos testes para se documentar cura, exceto quando há persistência dos sintomas^{18,42}.

Os pacientes com infecção gonocócica disseminada devem ser tratados inicialmente com ceftriaxona 1g intravenosa ou intramuscular diariamente por 14 dias. Infecções não complicadas em crianças e neonatos devem ser tratadas com ceftriaxona 25-50mg/kg, não excedendo 125mg. A conjuntivite e a doença disseminada devem ser tratadas com essa dose por 7 a 10 dias¹⁸.

1.10 Abordagem geral sobre antimicrobianos

Os primeiros antibióticos eram substâncias produzidas por diversas espécies de microrganismos que impediam o desenvolvimento de outros microrganismos. Estes diferem uns dos outros nas suas propriedades físicas, químicas, farmacológicas, no espectro e mecanismos de ação^{43,44}. Para que os

antibióticos tenham um efeito eficaz é importante que a sua concentração, no local da infecção, seja suficiente. Os antibióticos podem apresentar duas funções distintas, a inibição do crescimento bacteriano através da ação bacteriostática, e a destruição de uma população bacteriana, por uma ação bactericida. A ação bacteriostática impede o crescimento das bactérias, mantendo o mesmo na fase estacionária⁴⁵. E a bactericida atua em processos vitais para a célula levando à morte celular^{43,44}.

Os antibióticos ideais definem-se por diversas características, tais como, alvo seletivo, alcançar rapidamente o alvo, bactericida, espectro estreito de forma a não afetar a flora saprófitas, com baixo nível tóxico e elevados níveis terapêuticos, poucas reações adversas, quer seja toxicidade ou alergia, várias vias de administração, tais como, oral, intravenosa (IV) e intramuscular (IM). Deve ter uma boa absorção e caso seja administrado por via oral, ter uma boa absorção intestinal, boa distribuição no local de infecção e ser um antibiótico pró-hospedeiro, isto é, que não contraria as defesas imunológicas, não deve induzir resistências e deve ter uma boa relação custo/eficácia. No entanto nem todas estas características conseguem ser obtidas, pois a relação entre os antibióticos e as bactérias não é linear⁴⁴.

1.11 Classificação das famílias de antimicrobianos

Ao longo dos anos foram descobertos e posteriormente descritos os antimicrobianos hoje conhecidos. A classificação mais comum dos antibióticos baseia-se no seu mecanismo de ação. Assim são descritos cinco mecanismos de ação: Inibição da síntese da parede celular; destruição ou dano da membrana plasmática; inibição da síntese proteica nos ribossomos; inibição da síntese dos ácidos nucleicos; inibição da síntese de metabolismos celulares^{43,44,46}.

1.11.1 Antimicrobianos que inibem a síntese da parede celular

Para a sobrevivência de qualquer bactéria é essencial manter a integridade da parede celular, sendo importante referir que a parede celular das bactérias Gram positivas e das bactérias Gram negativas é diferente. A parede celular é suficientemente flexível em virtude da sua estrutura entrelaçada do seu principal constituinte, o peptidoglicano, com o alto índice de ligações cruzadas⁴³.

Os antimicrobianos β -lactâmicos, com suas estruturas químicas são bastante prescritos nos dias atuais, dada a sua eficácia terapêutica e baixa toxicidade. Este grupo de antibióticos engloba as penicilinas, cefalosporinas, carbapenems, monobactâmicos e alguns inibidores das β -lactamases. Todos estes antibióticos contêm na sua estrutura molecular um anel β -lactâmico, diferindo nas cadeias laterais^{43,47}.

As cefalosporinas são classificadas por gerações: 1ª geração exibe atividade na presença de microrganismos Gram positivos e atividade moderada na presença de bactérias Gram negativas; 2ª geração tem atividade melhorada na presença de Gram negativos e incluem fármacos com atividade anti-anaeróbica; 3ª geração apresenta atividade na presença de Gram positivos e Gram negativos, nomeadamente na presença da família de Enterobacteriaceae; as cefalosporinas de 4ª geração têm um espectro semelhante ao das cefalosporinas de 3ª, porém com maior estabilidade face às β -lactamases⁴³.

1.11.2 Antimicrobianos que inibem a síntese da proteica dos ribossomos

Os ribossomos bacterianos são organelas celulares constituídos por duas subunidades, 30s e 50s, onde ocorre a ligação dos fármacos de forma a inibir ou modificar a síntese proteica^{43,44}. São exemplo de antibióticos que inibem a síntese proteica, os aminoglicosídeos, tetraciclinas, anfenicóis, macrólitos, lincosamida e oxazolidonas. São separados entre os que possuem ação na Subunidade 30s, ação na Subunidade 50s, e ação sobre a tARN⁴⁷.

As tetraciclinas apresentam um espectro de ação amplo, que engloba a maioria das bactérias Gram positivas e Gram negativas, quer anaeróbicas como aeróbicas^{46,43,44}. Os macrólitos possuem na sua constituição anéis de lactona aos quais se ligam um ou mais açúcares. Deste grupo fazem parte a eritromicina, claritromicina e azitromicina. Os macrólitos inibem a síntese das proteínas através da sua ligação reversível à subunidade 50s⁴³.

1.11.3 Antimicrobianos que inibem a síntese da membrana citoplasmática

Existem antimicrobianos que conseguem desorganizar a membrana citoplasmática, podendo ser agentes ânions, cátions ou nêutrons. Como por

exemplo polimixinas (Polimixina C ou Colistina ou Polimixina E) que são moléculas anfipáticas tensoativas, pois contém grupos tanto lipofílicos como lipofóbicos. Estas interagem com a molécula de polissacarídeo presente na membrana externa, retirando o cálcio e o magnésio necessário à estabilidade da mesma. A permeabilidade na membrana modifica-se imediatamente em contato com o fármaco e a subsequente entrada de água na célula causa a sua destruição. A sensibilidade à polimixina B está relacionada com o conteúdo fosfolipídico da parede celular. Também apresenta atividade anti-endotoxina, através da ligação da polimixina B à porção lipídica A do lipossacarídeo das Gram negativas e inativando a endotoxina^{43,44,46}.

1.11.4 Antimicrobianos que alteram a síntese de ácidos nucleicos

Os antimicrobianos que interferem na síntese dos ácidos nucleicos são as fluoroquinolonas (ciprofloxacina, norfloxacina e ofloxacina) e a rifampicina (é um antibiótico ativo na presença de quase todos os microrganismos)⁴⁷.

As quinolonas são os antibióticos mais antigos, em particular o ácido nalidíxico, que era usado no tratamento de infecções do sistema urinário. Tem uma utilidade terapêutica limitada e um rápido desenvolvimento de resistência bacteriana^{43,44,46}. A enzima DNA girase presente em *Escherichia coli* apresenta duas subunidades A e B, codificadas pelos genes *gyrA* e *gyrB* respectivamente. As duas subunidades A desempenham a função de corte dos filamentos da enzima girase, constituindo o local de ação das quinolonas. Os fármacos inibem a superespiral do DNA de forma que impede o crescimento bacteriano. As mutações do gene que codifica o polipeptídeo das subunidades A podem conferir resistência a esses fármacos^{46,43,44}.

1.11.5 Antimicrobianos que alteram os metabolismos celulares

O metabolismo celular retratado neste ponto é a síntese do ácido fólico, que pode ser inibido pelas sulfonamidas ou da sua combinação com o trimetoprim. As sulfonamidas foram dos primeiros antibióticos a serem utilizados em doenças infecciosas. Estes possuem um espectro de ação bastante amplo, na presença de Gram positivos e Gram negativos. No entanto nos últimos anos surgiu o desenvolvimento de estirpes resistentes. As sulfonamidas exercem o efeito bacteriostático em *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*,

Haemophilus influenzae e *ducreyi*, *Nocardia* sp., *Actinomyces* sp., *Calymmatobacterium granulomatis* e *Chlamydia trachomatis*^{46,43,44}.

O trimetoprim é o agente mais ativo que exerce um efeito sinérgico quando utilizado com uma sulfonamida. Trata-se de um precursor inibidor competitivo e selectivo da diidrofolato redutase microbiana. Desta forma a administração concomitante destes leva a bloqueios sequenciais na síntese de tetraidrofolato do microrganismo a partir de moléculas precursoras^{43,46,47}.

Na tabela abaixo segue todas as classes de antimicrobianos, especificando o seu alvo e mecanismo de ação.

Tabela 1. Modos de ação e mecanismos de resistência dos antibióticos

Classe de Antimicrobianos	Exemplos	Alvo	Modo(s) de Resistencia
Lactâmicos	Penicilinas (ampicilina), cefalosporinas (cefamicina),	Biossíntese de peptidoglicano	Hidrólise, efluxo, alvo alterado
Aminoglicosídeos	Gentamicina, estreptomicina, espectinomicina	Tradução	Fosforilação, acetilação, nucleotidilação, efluxo, alvo alterado (Reprogramação da biossíntese de peptideoglicano)
Glicopeptídeos	Vancomina, teicoplanina	Tradução da biossíntese de peptidoglicano	
Tetraciclinas	Minociclina, tigeciclina		
Macrolídeos	Eritromicina, azitromicina		Hidrólise, glicosilação, fosforilação, efluxo, alvo alterado
Lincosamidas	Clindamicina		Nucleotidilação, efluxo, alvo alterado CO liase
Estreptograminas	Quinuspristina/ Dalfopristina	Tradução	(estreptograminas tipo B), acetilação (estreptograminas tipo A), efluxo, alvo alterado
Oxazolidinonas	Linezolida		Ef fluxo, alvo alterado
Fenicóis	Cloranfenicol		
Quinolones	Ciprofloxacina	Replicação de DNA	Acetilação, efluxo, alvo alterado
Pirimidinas	Trimetoprima	C1 metabolismo	
Sulfonamidas	Sulfametoxazol		

Rifamicinas	Rifampicina	Transcrição	ADP-ribosilação, efluxo, alvo alterado
Lipopeptídeos	Daptomicina	Célula membrana	Alvo alterado
Peptídeos Catiônicos	Colistina		Alvo aletrado, efluxo

Adaptado de Wright, GD (2007)

1.12 Resistência a antimicrobianos

O uso bem-sucedido de qualquer agente terapêutico é comprometido pelo desenvolvimento potencial de tolerância ou resistência a esse composto desde o momento em que é empregado pela primeira vez. Uma ampla gama de mecanismos bioquímicos e fisiológicos podem ser responsáveis pela resistência. No caso específico dos agentes antimicrobianos, a complexidade dos processos que contribuem para o surgimento e disseminação da resistência não pode ser superestimada, e a falta de conhecimento básico sobre esses tópicos é uma das principais razões pelas quais houve tão poucos avanços significativos na prevenção e controle eficazes do desenvolvimento de resistência⁴⁸.

Muitos dos patógenos bacterianos associados a epidemias de doenças humanas evoluíram para formas multirresistentes após o uso de antibióticos. O termo "superbactérias" refere-se a micróbios com morbidade e mortalidade aumentadas devido a múltiplas mutações que conferem altos níveis⁴⁸.

1.12.1 Bases genéticas da resistência

A resistência acontece através de dois grandes mecanismos: existência intrínseca ou mutação num *loci* do cromossoma ou transferência horizontal de genes, isto é, por aquisição de genes de resistência anteriormente presentes noutros microrganismos⁴⁹. Os genes responsáveis pela resistência contidos em plasmídeos, normalmente codificam enzimas que inativam os antibióticos ou reduzem a permeabilidade das células. Em contraste, a resistência conferida por mutações cromossomais envolve a modificação do alvo⁵⁰.

As mutações são alterações na estrutura dos genes, que podem ocorrer durante a replicação. As mutações induzidas devem-se à ação da radiação, como por exemplo a ultravioleta ou ionizante, os agentes alquilantes, a hidroxilamina ou a presença de espécies reativas de oxigénio (ROS). Se o erro

for um benefício para a bactéria, como no caso da resistência aos antibióticos, então tenderá a predominar naquela espécie. Assim o maior problema da resistência mediada por mutação é a sua transmissão às gerações seguintes, o que torna a bactéria resistente predominante^{50,47}.

Tabela 2. Descrição dos tipos de possíveis mutações genéticas de resistência

Tipo de mutação		Descrição	Consequências da mutação
Reposição	Transição	Troca de uma pirimidina por outra ou de uma purina por outra	Formação de códons <i>nonsense</i> que origina peptídeos incompletos ou formação de códons <i>missense</i> que altera a proteína.
	Transversão	Troca de uma purina por uma pirimidina ou vice-versa	Peptídeos incompletos
Deleção	Macrodeleção	Remoção de vários nucleotídeos	<i>Frame shift</i> resulta em códon <i>nonsense</i> ou em peptídeos incompletos
	Microdeleção	Remoção de um ou dois nucleotídeos	Peptídeos incompletos
Inserção	Macroinserção	Inclusão de vários nucleotídeos	<i>Frame shift</i> resulta em códon <i>nonsense</i> ou em peptídeos incompletos
	Microinserção	Inclusão de um ou dois nucleotídeos	Codificação de proteínas não funcionais
Inversão		Remoção de uma porção de DNA e inserção da mesma noutro local do cromossoma de forma invertida	

Adaptado de Neihardt, 2004 e Galvão, M 2013

A transferência horizontal de genes é um processo de aquisição de material genético entre bactérias da mesma espécie ou espécies diferentes. Pode ocorrer por três mecanismos, transformação, transdução ou conjugação e ainda por transposição^{49,47}. Este processo de transmissão de genes é possível devido à presença de estruturas específicas no DNA designadas de integrons.

Estes são porções de DNA com capacidade para capturar genes que codificam a resistência a antibióticos por recombinação num local específico⁵¹.

Na transformação a bactéria recebe partes de DNA presentes no meio envolvente. A bactéria receptora irá englobar no seu material genético as fracções de DNA adquiridas. Esta porção de DNA tem de ter pelo menos 500 nucleotídeos para se conseguir integrar no DNA hospedeiro, e resulta da morte ou lise de outra bactéria^{49,50}.

A transdução envolve a presença de bacteriófagos (também designados de fagos), que funcionam como vectores do DNA, do dador para o hospedeiro. Cada fago transporta uma porção pequena de DNA da bactéria destruída anteriormente, protegendo a sua integridade das nucleases existentes no meio envolvente. Ao infectar uma nova bactéria, a porção de DNA irá integrar-se no DNA da bactéria infectada^{49,47}.

A conjugação é um processo que ocorre entre células bacterianas, da mesma ou de diferentes espécies, que ao entrarem em contato direto trocam pequenas porções de material genético, como plasmídeos^{49,50}. O plasmídeo apresenta-se como uma porção de DNA extra cromossômico, que contém genes que permitem a sua replicação autónoma e transferência para outras células. Alguns plasmídeos contêm um grupo de genes, designados de *tra*, que significa *transfer*, e que têm a capacidade de realizar a transferência do mesmo da bactéria dadora (F+) para a receptora (F-), por formação do pili, codificado pelo fator F (ou fator de fertilidade)⁵⁰.

A transposição é um processo de transferência genética, resultante da interacção entre duas bactérias diferentes, que na maioria das vezes utiliza a conjugação como via⁴⁷.

1.12.2 Mecanismo de resistência intrínseca ou natural

No sentido tradicional, a resistência a antibióticos é frequentemente considerada uma característica adquirida por bactérias previamente suscetíveis, cuja base pode ser atribuída à aquisição horizontal de novos genes⁴⁸, ou a ocorrência de mutações espontâneas dentro de genes localizados cromossomicamente que são subsequentemente transmitidos verticalmente conforme a bactéria se replica⁵². Além da capacidade das bactérias de 'adquirir' resistência, elas também são intrinsecamente resistentes a diferentes classes de

antibióticos; um traço que é universalmente encontrado no genoma de uma espécie bacteriana, é independente da pressão seletiva do antibiótico e não é credenciado para transferência horizontal de genes. De fato, o exemplo convencional de resistência intrínseca a antibióticos é o fenótipo multirresistente a drogas (MDR) exibido por bactérias Gram-negativas, que são insensíveis a muitas classes de antibióticos Gram-positivos clinicamente eficazes. A base molecular desse fenômeno é a presença da membrana externa Gram-negativa, que é impermeável a muitas moléculas, e a expressão de numerosas bombas de efluxo MDR que reduzem efetivamente a concentração intracelular da droga em questão^{53,54}.

A resistência intrínseca refere-se à existência de genes nos genomas bacterianos que poderiam gerar um fenótipo de resistência, ou seja, proto ou quase resistência. Diferentes gêneros, espécies e cepas exibem faixas de fenótipos de resposta a antibióticos. Desde o início deste milênio, a disponibilidade de técnicas de mutagenese em todo o genoma e o sequenciamento rápido do genoma bacteriano revelou muitas funções genéticas potenciais / intrínsecas em bactérias que podem levar a fenótipos de resistência em situações clínicas. Por exemplo, uma rota genética comum para aumentar a resistência aos antibióticos é a amplificação do gene, principalmente para resistência às sulfonamidas⁵⁵ e trimetoprima^{56,48}.

Muitos dos supostos genes de "suscetibilidade" identificados, como genes que são geneticamente recessivos, podem não levar a um fenótipo de resistência. No entanto, tais abordagens identificam genes *r* potenciais e fornecem informações sobre a biologia de sistemas de resistência. As análises de microarray de RNA dos efeitos dos antibióticos forneceram informações preditivas semelhantes⁵⁷. Simplificando, o aumento do número de cópias dos genes-alvo de um antibiótico pode levar à redução da concentração intracelular do inibidor como resultado da titulação^{58,48}.

1.12.3 Mecanismo de resistência adquiridos

Existem quatro grandes mecanismos de resistência aos antibióticos que são: a alteração da permeabilidade, a alteração do local de ação, a bomba de efluxo e o mecanismo enzimático que altera a estrutura química do antibiótico⁴⁷.

A permeabilidade da membrana celular é essencial para que o antibiótico tenha o efeito desejado, quer seja bactericida quer bacteriostático⁴³. Nas bactérias Gram negativas, a membrana interna é constituída por fosfolípidos e a membrana externa por lípidos. A sua constituição confere uma lenta penetração do fármaco e a passagem pela membrana externa é realizada através das porinas, que formam canais hidrofílicos. Os fármacos podem penetrar através da membrana celular de três formas, através da difusão pela porinas, por difusão na bicamada fosfolipídica ou por *self promoted uptake*⁴⁹.

O tipo de resistência que ocorre pela alteração do local de ação caracteriza-se pela diminuição ou mesmo ausência de afinidade do antibiótico ao local de ligação. Esta ocorre por alteração da estrutura do peptidoglicano, interferência na síntese de proteínas ou na síntese de DNA⁴⁹.

As bombas de efluxo são proteínas presentes nas membranas. Neste tipo de resistência ocorre um transporte ativo dos antibióticos do meio intracelular para o meio extracelular⁴⁷. Existem diversos tipos de bombas de efluxo, que se categorizam em cinco classes de transportadores, tais como, *major facilitator family* (MFS), *multidrug and toxic efflux* (MATE), *resistance-nodulation-division family* (RND), *small multidrug resistance* (SMR), *adenosine triphosphate binding cassette* (ABC)⁴⁹.

O mecanismo enzimático de resistência devido a inativação do fármaco resulta da produção, pela bactéria, de enzimas que degradam ou inativam o antibiótico. Existem três grandes estratégias, tais como, hidrólise, transferência de um grupo ou processo *redox*^{49,47}.

1.12.4 Mecanismos de ação de antimicrobianos associados à resistência genética de *N. gonorrhoeae*

Desde que os primeiros antibióticos como as sulfonamidas, foram adotados como estratégia de tratamento, evidenciou-se uma grande capacidade dessa bactéria em desenvolver resistência, foi observado em vários estudos à existência de linhagens de *N. gonorrhoeae* com alta susceptibilidade para muitas classes de antibióticos²².

Isso acontece porque certas bactérias têm habilidades de alterar o seu material genético por meio de seleção natural, mutações gênicas ou adquirir plasmídeos de resistência. Esses genes podem estar localizados em

cromossomos ou plasmídeos gerando assim, dois possíveis meios de resistência. As alterações cromossômicas afetam os “sítios-alvos” dos antibióticos ou o funcionamento das porinas e das bombas de efluxo, enquanto as alterações plasmidiais podem conter genes que codificam enzimas modificadoras de antibióticos^{59,22}.

As espécies comensais de *Neisseria spp.* geralmente habitam o corpo humano e são expostas com maior frequência aos antibióticos de uso geral, assim a resistência pode ter surgido inicialmente nas espécies comensais de *Neisseria spp.* e posteriormente transferindo genes de resistência para a *N. gonorrhoeae*. Além disso, a vigilância ineficaz in vitro e as falhas terapêuticas são provavelmente uma das principais causas da resistência^{59,60,22}.

Estudos feitos em murinos comprovaram que a *N. gonorrhoeae* possui um aumento da expressão gênica que gera uma bomba de efluxo de resistência a múltiplos fármacos a MtrC-MtrD-MtrE, devido à maior atividade do promotor de transcrição (MtrA), o que ocasiona a retirada dos fármacos de dentro do citoplasma bacteriano, tornando o fármaco ineficaz^{61,62,22}.

1.12.5 Resistência às Quinolonas

As quinolonas são inibidoras das enzimas DNA-girase resultando em sua atividade bactericida. A *N. gonorrhoeae*, desenvolveu resistência às quinolonas através de mutações que alteram a conformação das enzimas DNA-girase, reduzindo a afinidade com as quinolonas. As mutações no gene (*gyrA*) da *N. gonorrhoeae* estão associadas com essa resistência^{60,22}. As duas “subunidades A” desempenham a função de corte dos filamentos da enzima girase, constituindo o local de ação das quinolonas. Os fármacos inibem a super espiral do DNA de forma a impedir o crescimento bacteriano. As mutações do gene que codifica o polipeptídeo das “subunidades A” podem conferir resistência a esses fármacos^{46,43,44}.

Compreendem uma classe de antibióticos de largo espectro usados para tratar uma variedade de infecções, são derivadas do ácido nalidíxico. O mecanismo de ação ocorre através da inibição da atividade da DNA-girase (em bactérias Gram negativas) e da topoisomerase, especificamente a IV (em bactérias Gram positivas), que são enzimas essenciais para a replicação do DNA bacteriano. Entretanto, qualquer fator capaz de separar os filamentos resulta no

super enrolamento positivo excessivo do DNA em frente do ponto de separação. Para combater este processo a enzima bacteriana DNA girase é responsável pela introdução contínua de espirais negativas no DNA. Trata-se de uma reação dependente de adenosina trifosfato (ATP) e requer a ruptura de ambos os filamentos de DNA para permitir a passagem de um segmento do ADN através da separação, que posteriormente é selada^{46,43,44}.

1.12.6 Resistencia aos Macrolídeos

A resistência bacteriana aos macrolídeos pode ocorrer através da modificação do alvo ribossômico por mutações específicas no rRNA 23S ou por metilação devido à produção de uma rRNA metilase. Pode ser ainda devido a um sistema de bomba de efluxo super expresso. As rRNA metilases podem causar resistência ao macrolídeo por meio do bloqueio da ligação do macrolídeo ao rRNA 23S por metilação. Os genes que codificam a rRNA metilase são *ermB*, *ermC* e *ermF*. Na *N. gonorrhoeae*, os genes *ERM* podem conferir resistência elevada à eritromicina e conseqüentemente redução da suscetibilidade ou resistência à azitromicina na ausência de outros determinantes de resistência, tais como mutações *mtrR* ou uma bomba de efluxo codificada por *mef*^{63,64}.

A resistência gonocócica aos macrolídeos devido aos sistemas de efluxo super expressos, particularmente a bomba de efluxo MtrCDE, mas também MacAB e codificadas por *mef*^{65,64,22}.

1.12.7 Resistência as Tetraciclinas

As tetraciclinas inibem a ligação do tRNA ao mRNA-ribossômico, o que gera inibição da síntese de proteínas. A resistência à tetraciclina é mediada pelo gene *tetM* presente na *N. gonorrhoeae*. O gene *tetM* confere resistência à tetraciclina devido sua semelhança com o fator de alongamento G (EF-G) envolvido na síntese de proteínas, e também sua atividade de GTPase dependente de ribossomos. Sua ligação aos ribossomos causa a liberação da molécula de tetraciclina e a continuação da síntese de proteínas. O plasmídeo contendo o gene *tetM* pode ser transferido por conjugação para diferentes linhagens gonocócicas, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* e *Escherichia coli*⁶⁶. A resistência à tetraciclina mediada por cromossomos na *N. gonorrhoeae* acontece devido às mutações nos genes *tet-2*, *mtrR* e *penB* que

modificam a estrutura da proteína ribossomal gerando proteínas diferentes, aumento do efluxo e redução da permeabilidade à tetraciclina^{60,22}.

1.13 Relação entre saúde pública e resistência antimicrobiana

No Brasil, as primeiras linhagens de *N. gonorrhoeae* resistente à penicilina foram isoladas em 1985 em São Paulo. Com o passar dos anos, a resistência da *N. gonorrhoeae* se estendeu para outros antibióticos, como tetraciclina, cloranfenicol, azitromicina, ofloxacina e ciprofloxacina^{67,22}.

Em São Paulo, Rio de Janeiro e Minas Gerais foi detectado linhagens de *N. gonorrhoeae* com resistência superior a 5% à ciprofloxacina, ultrapassando o limite internacional aceitável para uso de um antibiótico. No estado do Amazonas também já foram identificadas linhagens de *N. gonorrhoeae* isoladas de homens com uretrite resistentes à ciprofloxacina, chegando assim em mais uma região do Brasil^{68,22}.

Em 1999, o Ministério da Saúde Brasileiro preconizou a utilização de uma ampla variedade de antibióticos para o tratamento da gonorreia, dentre eles estão a ofloxacina, cefixima, ciprofloxacina, ceftriaxona e tianfenicol^{69,22}. Em 2006 o Ministério da Saúde publicou um novo manual que alterou as opções terapêuticas para o tratamento da gonorreia, incluindo apenas duas opções para o tratamento da infecção. A primeira opção consistia no uso de ceftriaxona intramuscular juntamente com doxicilina via oral. Já a segunda opção compreendia o uso de cefixima por via oral e espectinomicina por via intramuscular^{24,22}. Em 2015 o Ministério da Saúde modificou novamente a dupla terapia, recomendando que a primeira opção para o tratamento de gonorreia fosse uma dose única de ciprofloxacina junto com dois comprimidos de azitromicina por via oral e ceftriaxona via intramuscular. A segunda opção consistia na utilização de dose única de cefotaxima intramuscular junto com dois comprimidos de azitromicina via oral. Esses protocolos (1999, 2006, 2015) foram atualizados devido à alta taxa de ineficácia nos tratamentos de gonorreia, mostrando que esta infecção precisa ser monitorada^{70,22}.

Destaca-se a publicação, no ano de 2015, do primeiro Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para Atenção Integral às Pessoas com IST, aprovado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no Sistema Único de Saúde (Conitec). O documento define critérios para diagnóstico,

preconiza tratamento, estabelece mecanismos de controle clínico – a serem seguidos pelos gestores do Sistema Único de Saúde (SUS) – baseia-se em evidência científica e avalia parâmetros de eficácia, segurança, efetividade e custo-efetividade das tecnologias recomendadas^{24,12}.

Entre 2015 e 2016, a parceria do Ministério da Saúde com a Universidade Federal de Santa Catarina e sítios sentinelas, para o desenvolvimento de estudo sobre resistência do gonococo (Projeto SenGono). A pesquisa de vigilância, de âmbito nacional, analisou cepas de gonococo em sete sítios sentinelas (compostos por serviços de assistência para IST e laboratórios de apoio local) e constatou alta resistência da bactéria à tetracilina, à penicilina e ao ciprofloxacina¹².

Em 2018, iniciou-se nova fase do Projeto SenGono, com a instalação de mais sítios de coleta e a inclusão de dois novos antimicrobianos (espectinomicina e gentamicina) nas análises. No âmbito do Projeto SenGono, estão sendo pesquisados *N. gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* e *Trichomonas vaginalis*, nas amostras de corrimento uretral; e vírus do herpes simples tipos 1 e 2, *Treponema pallidum* e *Haemophilus ducreyi*, nas amostras de úlceras genitais. Os resultados do Projeto SenGono levaram à publicação, em 17 de junho de 2020, da Portaria GM/MS nº 1.553/2020, pela qual o Ministério da Saúde instituiu a vigilância sentinela da síndrome do corrimento uretral masculino para monitorar dados em unidades de saúde habilitadas¹².

O rápido crescimento da resistência antimicrobiana da *N. gonorrhoeae* a múltiplos antibióticos ameaça os esforços para controle dessa infecção. Um total de 66% dos 67 países participantes do “*Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme*” já apresentou elevação da resistência clínica e in vitro às cefalosporinas de espectro estendido⁷¹. A evolução das pesquisas deve ter prioridade, incluir o desenvolvimento de novos antimicrobianos para tratamento, da vacina contra o gonococo e de novos testes rápidos^{16,12}.

2. JUSTIFICATIVA

As infecções sexualmente transmissíveis acometem pessoas de todas as faixas etárias e de todas as classes sociais. Quando não existe a prevenção, um diagnóstico preciso e um tratamento assertivo, estas geram condições clínicas graves e até irreversíveis ao indivíduo. Nota-se que, em 2020, ainda não existem dados oficiais produzidos de forma sistemática, sobre gonorreia, clamídia, tricomoníase ou herpes genital no Brasil, uma vez que essas IST não fazem parte da lista nacional de notificação compulsória, e ainda em 2022 este cenário não mudou, o que implica em fatores éticos, políticos e técnicos que irão diminuir incidência.

O município de São Paulo conta com cerca de 12 milhões de habitantes, sendo que, destes, 52,5% são mulheres. Ainda hoje há lacunas na estimativa da magnitude das IST entre homens e mulheres residentes neste município. Acredita-se que o presente estudo na região Sul de São Paulo obterá importantes dados sobre a infecção por *N. gonorrhoeae* em mulheres, que dependem majoritariamente do Sistema Único de Saúde (SUS).

Sobre o aumento da resistência á antimicrobianos sabe-se que o cenário se modificou entre o período pré e pós pandemia da infecção do SARS-CoV-2. E também por conta da vasta difusão de opções terapêuticas e falta de controle notificadorio.

Diante deste cenário aproveitaremos para avaliar três genes de resistência pertencentes a *N. gonorrhoeae*, de três diferentes classes para suprir a a necessidade de avaliação de um amplo espectro de resistência **ESCOLHA DAS DROGAS**

3. OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Avaliar a frequência da infecção por *N. gonorrhoeae* em mulheres atendidas no Hospital Escola Wladimir Arruda na Zona Sul de São Paulo entre o Janeiro 2021 e Junho de 2022.

3.2 Objetivos secundários

- Associar as infecções gonocócicas com outros tipos de infecções sexualmente transmissíveis.
- Classificar a frequência das infecções por faixa etária
- Associar a prevalência das infecções com fatores socioeconômicos e sócio demográficos
- Identificar a resistência a doxiciclina (tetraciclina) através da detecção do gene plasmidial *tetM* e suas variantes Americana e Holandesa
- Identificar a resistência a azitromicina (macrolídeos) através da detecção do gene da subunidade ribossomal 23S *rRNA*.
- Identificar a resistência a ciprofloxacina (fluoroquinolonas) através da detecção de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) da *DNA Gyrase A* nas posições de aminoácidos *GyrA Ser91Ph*.

4. METODOLOGIA

O seguinte estudo é observacional e descritivo. Foram realizadas coletas por conveniência do material cervico-vaginal de pacientes femininas do serviço de ginecologia do HEWA (Hospital Escola Wladimir Arruda) localizado na Zona Sul de São Paulo, que é coordenado pelo Dr. Gabriel Monteiro. Todas as voluntárias que aceitaram participar do projeto preencheram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) sob o número de parecer 4.237.904.

O processamento das amostras, técnicas de Biologia Molecular e de Microbiologia foram realizadas no Centro de Pesquisa da Universidade Santo Amaro (URC – UNISA RESEARCH CENTER).

4.1 Coleta de material cervico-vaginal e cultura de *N. gonorrhoeae*

A primeira coleta de amostragem de isolados clínicos para *N. gonorrhoeae* foi realizada com a utilização de swab somente em raspado cervico-vaginal e depositada em tubo ThinPrep® (armazenamento para meio de cultura líquido).

4.2 Caracterização genotípica dos isolados para *N. gonorrhoeae*

4.2.1 Extração de DNA

A extração de DNA da amostra doada de cultura (utilizada como controle positivo) e das amostras clínicas das participantes do estudo foram realizadas utilizando um kit de sílica e purificação (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit), conforme as instruções do fabricante ThermoFisher®. A amostra de cultura já congelada em solução Greaves de *N. gonorrhoeae* foi gentilmente doada pela Prof.^a Silvia Figueiredo Costa do Laboratório de Bacteriologia do Instituto de Medicina Tropical da Universidade de São Paulo – USP.

4.2.2 PCR em Tempo Real identificação do gênero *Neisseria*

Utilizaremos a técnica de PCR em Tempo Real que se baseia na repetição exponencial da duplicação de DNA das amostras de cultura e de amostras clínicas, a partir do uso de primers, selecionados com base na literatura (conforme a tabela 3) e solicitados ao fabricante Invitrogen® estes foram

resuspendidos para a concentração de 100nM e diluídos na proporção 1:10 (10nM) com água ultrapura (nuclease free Thermo Fisher).

Tabela 3. Primers utilizados nos ensaios de PCR para identificação de gênero (por Vicã et al, 2021)

Primer	Região	Sequencia
Foward	5'3'	GGA TAC GAC GTA ACC TTG ACT ATG G
Reverse	5'3'	CCG ATG TAG AAG ACC CTT TTG C

É utilizado também o sistema do corante SYBR Green®, o sinal de fluorescência aumenta à medida que mais amplicons se acumulam durante a ciclagem, o que permite o monitoramento em tempo real do aumento da concentração de amplicons⁷². Amplicons são fragmentos de DNA, ou seja, produtos provenientes do processo. Processo que envolveu as seguintes etapas: desnaturação, anelamento e por fim a polimerização que foram analisadas pelo Software StepOne v2.3. do programa StepOne Plus (ThermoFisher®).

Iniciou-se a ciclagem de PCR na amostra de cultura e nas 127 amostras clínicas. Primeiramente foi realizado o preparo do Master Mix conforme a tabela 4. Este que foi adicionado nas amostras, além da cultura e dos dois controles negativos (utilizou-se H₂O ultrapura) em cada poço da microplaca de PCR (conforme a quantidade especificada na tabela 5). Dessa forma ocorrerá a amplificação e análise de cada amostra em seu respectivo poço.

Tabela 4. Padronização de quantidade para Master Mix de Reagentes (Protocolo URC)

Produtos	Quantidade (µl)
Master Mix (SYBR Green)	12,5 µl
H ₂ O (ultrapura) (rnase e dnase free)	7,5 µl
Primer Reverse (3,2 pmol final de concentração)	1,0 µl
Primer Foward (Alíquota diluída)	1,0 µl

Tabela 5. Padronização de quantidade de amostra em cada poço da microplaca de PCR (Protocolo URC)

Poço	Quantidade (µl)
Amostra (cerca de 30-150ng de dna)	3 µl
Master Mix	22 µl
Total	25 µl

Por fim é gerado uma quantidade de DNA suficiente para analisar os produtos amplificados à medida que foram sintetizados durante os ciclos e suas condições de temperatura e tempo (conforme especificados na tabela 6).

Tabela 6. *Etapas do procedimento da ciclagem conforme suas condições*

Processo	Temperatura/Tempo (min ou seg)
Holding Stage	95°C – 10
Cycling Stage (40x)	95°C – 0:15 / 60°C – 1:00
Curva de <i>Melting</i>	95°C – 0:15 / 60°C – 1:00 / 90°C – 0:15

Após o término do procedimento obtém-se curvas de desnaturação e a curva de amplificação. No software é possível observar a curva de Amplificação de cada amostra, e assim compará-la com a Curva de Amplificação da Cultura para constatar a presença de gonococos na amostra.

4.2.3 PCR em Tempo Real para curva padrão da amostra de cultura utilizada como controle positivo

Para a construção da Curva Padrão da amostra de cultura foi realizada uma diluição na proporção 1:10 (10nM) da amostra de cultura (concentração de verificada com o Nanodrop) com água ultrapura. Depois realizou um ensaio de PCR-RT com os primers e produtos da reação, conforme tabela 4. Em cada poço da placa foi colocada uma quantidade de 25 µl de amostra com o Master Mix conforme a tabela 5. A amostra de cada diluição foi colocada em duplicata. E as etapas de ciclagem realizadas conforme a tabela 6.

4.3 Detecção e genotipagem da resistência à Tetraciclina

Para detectar a presença do gene de resistência à tetraciclina em amostras positivas, foi realizado um ensaio de PCR em tempo real seguindo a padronização dos ensaios anteriores, porém com um conjunto de primers previamente descritos por (Turner, Gough e Leeming em 1999), para determinar a presença e também as variantes holandesa ou americana conforme tabela 7.

Tabela 7. Primers utilizados no ensaio *tetM* (Turner, Gough e Leeming, 1999)

Primer	Região	Sequencia
Universal	5'3'	CTC GAA CAA GAG GAA AGC
Variante Americana	5'3'	TGC AGC AGA GGG AGG
Variante Holandesa	5'3'	CGA TTC CAC TTC CCA AC

4.4 Detecção e genotipagem da resistência à Azitromicina

Para detectar a resistência à azitromicina nas amostras positivas, foi realizado um ensaio de PCR em tempo real seguindo a padronização dos ensaios anteriores, usando os primers direcionados a mutação do gene ribossomal 23S rRNA. Esse conjunto de primers (tabela abaixo) foi descrito anteriormente por (Valentina Doná et al, 2018)

Tabela 8. Primers utilizados no ensaio 23S rRNA (Valentina Doná et al, 2018)

Primer	Região	Sequencia
Foward	5'3'	AAC GTC GTG AGA CAG TTT GGT TT
Reverse	5'3'	GAA CTT AGC TAC CCG GCT ATG CA

4.5 Detecção e genotipagem da resistência à Ciprofloxacina

Por fim, para detectar a resistência à ciprofloxacina nas amostras positivas, foi realizado o último ensaio de PCR em tempo real seguindo a padronização dos ensaios anteriores usamos os seguintes primers (tabela abaixo) direcionados a detecção de um polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) da *DNA Gyrase A* nas posições de aminoácidos *Ser91Ph*, que também foram descritos anteriormente por (Valentina Doná et al, 2018).

Tabela 9. Primers utilizados no ensaio *DNA Gyrase A* (Valentina Doná et al, 2018)

Primer	Região	Sequencia
Foward	5'3'	AAT ACC ACC CCC ACG GCG ATC T
Reverse	5'3'	TCT ATC AGC ACA TAA CGC ATA GCG

4.6 Caracterização citopatológica e genotipagem de HPV

Para validação dos resultados de PCR-RT e comparação com estes, foi realizada a técnica citopatológica de leitura por microscópio de 103 lâminas para detectar alterações da morfologia celular e achados da microbiota. A alíquota foi colocada em uma lâmina de vidro estéril, fixadas com Etanol 95% e seguidas de coloração papanicolau. Analisadas e classificadas de acordo com o protocolo de Bethesda. O preparo das amostras, coloração de Papanicolau e leitura das lâminas foram realizadas no PAPLAB – Laboratório de Pesquisa em Citopatologia no Centro de Pesquisa da Universidade Santo Amaro (URC). A técnica foi gentilmente realizada pela Mestre e Especialista Prof.^a Priscila Paruci.

O rastreamento e genotipagem de HPV foi realizado com o kit HPV-DNA pelo PapilloCheck® (Greiner Bio-One), um sistema de microarray de DNA baseado em reação em cadeia da polimerase (PCR) que pode identificar 25 tipos de HPV (sendo 12 de alto risco). O teste foi gentilmente realizado pela Me. Hannar Alvarenga.

4.7 Análises estatísticas

Todos os dados estatísticos foram analisados com o *GraphPad Prism 8* utilizando o teste de Cochran para verificar a significância de três ou mais variáveis, e o teste Qui-quadrado para comparar diferentes variáveis qualitativas entre dois grupos. A significância para todos os valores de p foi estabelecida em 0,05. As análises foram gentilmente realizadas pela Especialista em Estatística Prof.^a Dra. Yara Juliano – Universidade Santo Amaro.

5. RESULTADOS

5.2 Descrição da população do estudo

O estudo contemplou mulheres a partir de 16 anos e a variação na idade das participantes era de 36-45 anos, elas residem da região de Interlagos e recebem atendimento no ambulatório de ginecologia do Hospital Escola Wladimir Arruda.

Conforme o levantamento realizado com o teste do Qui-quadrado, elas são casadas (36,22%), e possuem escolaridade até o Ensino Médio Completo (29,13%) e uma renda familiar de até 1 salário mínimo (48,03%). Quanto as características de comportamento sexual, as participantes tiveram a primeira relação sexual com mais de 16 anos (62,99%), a maioria tem a vida sexual ativa (74,02%) e possuem um único parceiro sexual (44,88%), a grande maioria não faz uso de nenhum método contraceptivo (65,35%) e aproximadamente metade das participantes tiveram 3 ou mais gestações (50,39%) e a maioria nunca teve nenhum aborto (71,65%).

5.2.1 Quantificação da amostra de cultura (controle positivo)

Para cada ensaio de PCR-RT foi pipetada uma quantidade de 22 µl da amostra de cultura, que foi homogeneizada com 3 µl de Master Mix. Segue na tabela abaixo a quantificação em ng/µl de DNA bacteriano (*N. gonorrhoeae*) feita no equipamento Nanodrop que utiliza a técnica de espectrofotometria. A medição foi realizada antes dos ensaios.

Tabela 10. Resultados da Cultura (amostra controle) no Nanodrop

Amostra	Ensaio	ng/µl	A260/A280	A260/A280
Cultura 1	PCR 001	10,60	1,76	1,33
Cultura 2	PCR 002	10,10	2,04	1,58
Cultura 3	PCR 003	10,10	2,07	1,48
Cultura 4	PCR 004	10,70	2,27	1,24
Cultura 5	PCR 005	10,90	1,82	1,16

5.2.2 PCR em Tempo Real para curva padrão da amostra de cultura

No ensaio em PCR em Tempo Real paralelo para construção da curva padrão da amostra de cultura, demonstrou-se que verdadeiramente que o DNA

de *N gonorrhoeae* foi reprodutível na técnica através curvas de amplificação (obtidas mesmo com diluições seriadas) e pela temperatura de Melting (tabela 11 e figura 3). Na análise da progressão linear da curva padrão (figura 4) obteve-se valores satisfatórios com o y-intercept:46.982, slope: - 3.984 e R2: 0,997.

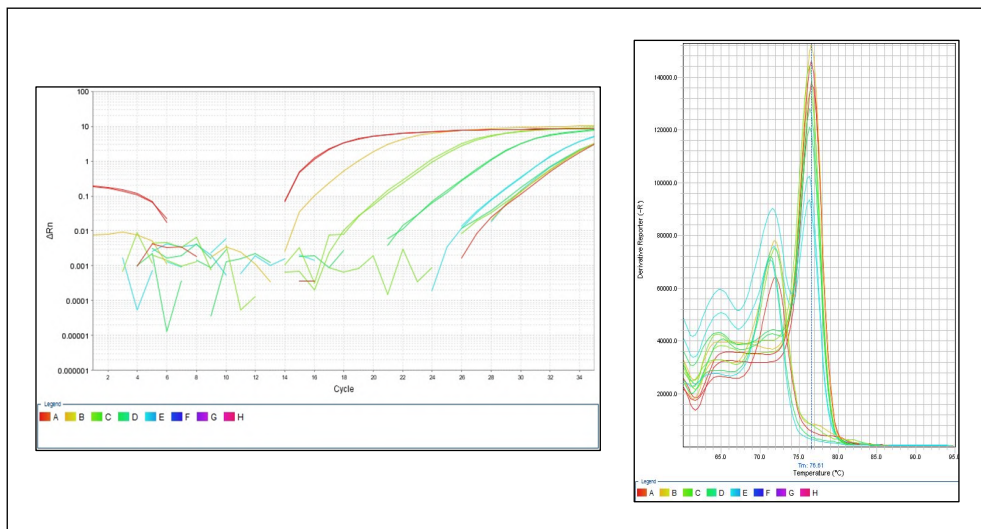


Figura 3. PCR em Tempo Real para cultura de *N. gonorrhoeae* com replicatas. Curvas de amplificação com os gráficos de fluorescências no decorrer do ciclo de cada duplicata. Curvas de temperatura de Melting de cada amplificação

Tabela 11. Resultados de Amostras de Cultura de todos os ensaios de PCR

Amostra	Ensaio	TM (°C)	CT	Curva de Amplificação
Cultura 1	PCR 001	76.9	22,78	10
Cultura 2	PCR 002	76.4	37,04	11
Cultura 3	PCR 003	69.1	37,04	10
Cultura 4	PCR 004	76,6	36,07	11
Cultura 5	PCR 005	69,9	38,03	11

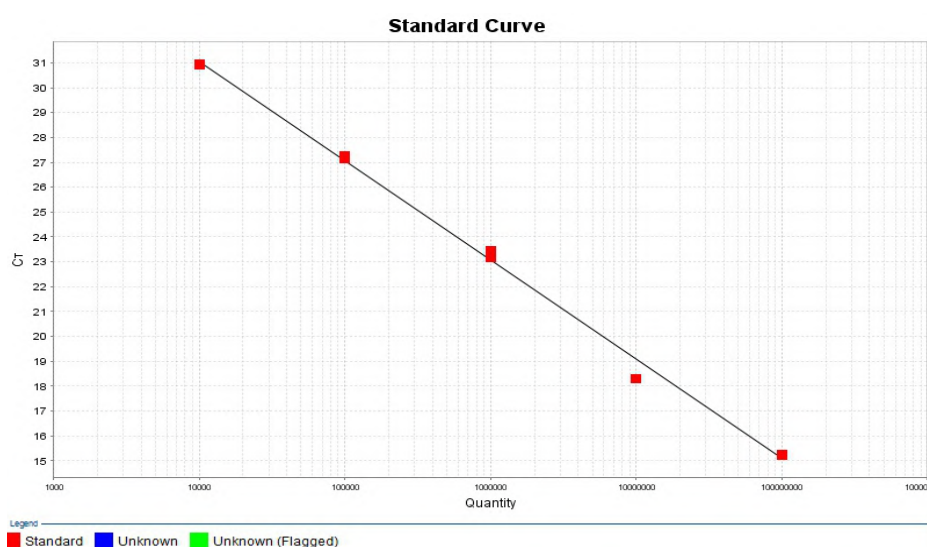


Figura 4. Gráfico de curva padrão da amostra de cultura de *N. gonorrhoeae*

5.2.3 Prevalência da infecção por *N. gonorrhoeae* em mulheres da Zona Sul de São Paulo

No total das 127 amostras cervico-vaginais de pacientes do HEWA analisadas por PCR em Tempo Real 23 foram positivas e corresponde a uma prevalência geral de uma infecção gonocócica na população estudada de 18% (IC= 95%) conforme a tabela abaixo.

Tabela 12. Prevalência da infecção por *N. gonorrhoeae* nas participantes (n=127)

Infecção por <i>N. gonorrhoeae</i>	N	%
Positiva	23	18,11
Negativa	104	81,89

No entanto as pacientes com resultado positivo para *N. gonorrhoeae* eram casadas (43,48%), tinham vida sexual ativa (56,52%) e não faziam uso de nenhum tipo de preservativo na relação sexual (52,17%).

5.2.4 Sintomatologia e manifestações clínicas das pacientes positivas para *N. gonorrhoeae*

De acordo com os prontuários físicos das pacientes que estão no HEWA, as principais manifestações clínicas, sintomas e/ou motivos para as pacientes positivas para *N. gonorrhoeae*, procurarem o ambulatório de ginecologia do serviço de saúde.

Tabela 13. Sintomas e manifestações das pacientes positivas para *N. gonorrhoeae*

Sintoma / Manifestação	%
Miomatose uterina	13,54
Atrofia uterina	13,54
Colpocistocele	9,09
Incontinência urinária	18,18
Dor em baixo ventre / dismenorreia	18,18
Presença de secreção / leucorréia	13,54
Presença de alterações em epitélio (cisto e/ou pólipos)	9,09
Infecção por <i>Gardnerella vaginalis</i>	4,55
Sem queixas ou alterações/ rotina	9,09
Sem prontuário localizado e/ou histórico	31,82

De todas pacientes positivas, duas delas tinham mioma, atrofia uterina e dor em baixo ventre, três queixavam-se de incontinência urinária e duas chegaram ao ambulatório sem apresentar queixas. E nenhuma apresentou mais de dois sintomas e/ou manifestações no mesmo momento. Por conta de os prontuários serem físicos e a maioria antigos, muitos não foram localizados.

5.2.5 Resistencia genética à Tetraciclina (gene *tetM* e variantes)

Das 23 amostras positivas para *N. gonorrhoeae* nesta população, detectamos 14 amostras positivas com resistência do gene ribossomal *tetM*, com uma prevalência de 60% (IC= 95%), que é considerada alta. Os detalhes dos resultados são encontrados na tabela abaixo.

Tabela 14. Resultados das variantes encontradas no ensaio *tetM*

Achados (ensaio <i>tetM</i>)	N	%
Variante holandesa	9	39,13
Variante americana	5	27,73
Ambas	4	17,39

Foi possível genotipar e caracterizar, pois, as variantes revelaram duas temperaturas de fusão distintas.

5.2.6 Resistencia genética à Azitromicina (gene 23S rRNA)

Das 23 amostras positivas para *N. gonorrhoeae* nesta população, tivemos 4 amostras positivas com mutação ribossômica do gene 23S rRNA, conferindo resistência à Azitromicina com prevalência de 18% (IC= 95%)

5.2.7 Resistencia genética à Ciprofloxacina (DNA Gyrase A)

Das 23 amostras positivas para *N. gonorrhoeae* nesta população tivemos 9 amostras positivas com um polimorfismo de nucleotídeo único (SNPs) da DNA Gyrase A nas posições de aminoácidos *Ser91Ph* conferindo resistência à Ciprofloxacina com prevalência de 40% (IC= 95%).

5.2.8 Dados epidemiológicos das mulheres da Zona Sul de São Paulo

Descrevemos conforme questionário das participantes todas as características das participantes (tabela 20) conforme o teste de *Cochran* comparando os três grupos de idade das participantes a cada variável.

Tabela 15. Características sócio demográficas das participantes (n=127)

Variáveis		16 -35 anos (34)		36 -50 year anos (35)		51 anos ou + (32)		p- value
		N	%	N	%	N	%	
Estado civil	Solteira/ união estável	18	14,17	13	10,24	7	5,51	0.40
	Casada	15	11,81	23	18,1	13	10,24	0.39
	Divorciada	2	1,57	0	0	2	1,57	0.25
	Viúva	0	0	0	0	11	8,66	0,20
Nível de escolaridade	Analfabeta/ Ensino Fund. Incompleto	2	1,57	5	3,94	13	10,24	0.32
	Ensino Fund. Completo / Ensino Médio Incompleto	7	5,51	7	5,51	8	6,30	0.40
	Ensino Médio Completo / Ensino Técnico/ Graduação Incompleta	22	17,32	19	14,96	9	7,09	0.32
	Graduação Completa	3	2,36	5	3,94	3	2,36	0.22
Renda Familiar (SM)	0-1 Salário Mínimo	16	12,60	22	17,32	19	14,96	0,20
	1-2 salários mínimos	14	11,02	9	7,09	12	9,45	0,21
	3 ou mais salários mínimos	4	3,15	4	3,15	2	1,57	0,18
Frequencia	Rara	10	7,87	15	11,81	17	13,39	0,30

sexual (por semana)	Moderada	18	14,17	13	10,24	13	10,24	0,40
	Alta	7	5,51	8	6,30	3	2,36	0,21
Parceiros Sexuais (Últimos 6 meses)	0	4	3,15	11	8,66	13	10,24	0,30
	1	18	14,17	14	11,02	14	11,02	0,40
	2+	13	5,51	11	8,66	6	4,72	0,21
Primeira relação sexual	> 16 anos	11	8,66	8	6,30	4	3,15	0,30
	= <16 anos	24	18,90	27	21,26	29	22,83	0,39
Contraceptive Method	Sim	12	9,45	8	6,30	12	9,45	0,25
	Não	23	18,11	28	22,05	21	16,54	0,20
Had a sexually transmitted infection	Sim	2	1,57	1	0,78	6	4,72	0,43
	Não	33	25,98	35	27,56	27	21,26	0,47
Hysterectomy	Sim	1	0,78	0	0	4	3,15	0,30
	Não	34	26,77	36	28,35	29	22,83	0,40
Smoking	Sim	4	3,15	4	3,15	6	4,72	0,21
	Não	31	24,41	32	25,20	27	21,26	0,35
Alcohol Intake	Sim	26	20,47	30	23,62	29	22,83	0,21
	Não	9	7,09	6	4,72	4	3,15	0,30
Hypertensive	Sim	6	4,72	12	9,45	8	6,30	0,24
	Não	29	22,83	24	18,90	25	19,69	0,34
Diabetes	Sim	2	1,57	1	0,78	3	2,36	0,30
	Não	33	25,98	35	27,56	30	23,62	0,40
Cancer	Sim	4	3,15	0	0	2	1,57	0,21
	Não	31	24,41	36	28,35	31	24,41	0,19

5.3 Descrição dos dados das amostras por citopatologia

Para complementação dos dados ginecológicos das participantes, avaliamos as condições citopatológicas (tabela 16). As observações escamosas observadas no epitélio analisado são classificadas como: LSIL – lesão epitelial de baixo grau, HSIL – lesão intraepitelial de alto grau, ou carcinoma escamoso,

ASC-US – Presença de células escamosas atípicas, não podendo afastar lesão de alto grau.

Tabela 16. Achados de citopatológicos e de microbiota nas amostras

Achados Citopatológicos	%	Achados de Microbiota	%
Normal	8,70	Flora bacilar	52,17
Inflamatória	82,71	Flora cocoide	4,35
LSIL	0	Flora bacilar mista	13,04
HSIL	4,35	<i>Gardnerella vaginalis</i>	17,39
ASC-US	4,35	<i>Candida sp</i>	13,04

5.4 Descrição dos dados de genotipagem de HPV

A análise revelou um total de 6 amostras positivas para HPV entre as 23 amostras positivas para *N. gonorrhoeae*, com uma prevalência de 26,09% (IC=95%) através do teste de genotipagem de HPV de alto risco. Estes são os achados da tipagem de HPV: 16, 18, 33, 39, 42, 45, 53, 56, 58, 66 e 68.

[https://www.rbac.org.br/artigos/celulas-escamosas-atipicas-de-significado-indeterminado-asc-us-seguimento-de-exames-analisados-no-instituto-adolfo-lutz/#:~:text=As%20altera%C3%A7%C3%B5es%20morfol%C3%B3gicas%20observadas%20no,alto%20grau%20\(HSIL\)%20ou%20carcinoma](https://www.rbac.org.br/artigos/celulas-escamosas-atipicas-de-significado-indeterminado-asc-us-seguimento-de-exames-analisados-no-instituto-adolfo-lutz/#:~:text=As%20altera%C3%A7%C3%B5es%20morfol%C3%B3gicas%20observadas%20no,alto%20grau%20(HSIL)%20ou%20carcinoma)

Paciente (idade, estado civil e vida sexual)	Infecção por <i>N. gonorrhoeae</i>	Resistência <i>terM</i> / variante	Resistência gene 23S rRNA	Resistência SNPs <i>DNA</i> <i>Gyrase A</i>	Infecção por HPV/ Tipagem	Achados Citológicos	Histórico infecção <i>G.</i> <i>vaginalis</i>	Histórico infecção <i>Chlamydia</i>	Histórico Infecção <i>Candida sp</i>
51 anos/ solteira/ ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva / 58	Inflamatória	Negativo	Negativo	Positivo
68 anos / divorciada/ Inativa	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Negativa	Flora bacilar Normal	Negativo	Negativo	Negativo
42 anos/ casada/ ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Flora bacilar ACSUS	Negativo	Negativo	Negativo
54 anos / solteira/ inativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Flora bacilar Inflamatória ACSUS	Negativo	Negativo	Negativo
54 anos/ viúva/ ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva 42,53	Flora bacilar HSIL	Negativo	Negativo	Positivo
60 anos / casada/ inativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Inflamatória ACSH	Negativo	Negativo	Negativo
46 anos/ viúva/ativa	Positiva	Positiva/ americana	Negativa	Negativa	Positiva 39,66	Flora cocóide Material escasso	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
39 anos/ solteira/ ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Normal	Positivo	Negativo	Negativo
28 anos/ solteira/ ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva 18,45	Flora bacilar Inflamatória Flora bacilar mista	Negativo	Negativo	Negativo
43 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Negativa	Negativa	Positiva 39,68	Inflamatória ACSUS Flora bacilar mista	Negativo	Negativo	Negativo
44 anos/ solteira/ inativa	Positiva	Positiva / holandesa e americana	Negativa	Negativa	Negativa	Inflamatória Flora bacilar mista	Negativo	Negativo	Negativo
36 anos/ solteira/ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Negativa	Negativa	Positiva 56	Inflamatória	Positivo	Negativo	Negativo
53 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa e americana	Negativa	Positiva	Negativa	Normal Flora bacilar	Negativo	Positivo	Negativo
45 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa e americana	Positiva	Positiva	Negativa	Inflamatória	Positivo	Negativo	Negativo
41 anos/ solteira/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Negativa	Positiva	Negativa	Material escasso	Inconclusivo	Inconclusivo	Inconclusivo
42 anos/casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Positiva	Negativa	Negativa	Normal	Negativo	Negativo	Negativo
45 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Negativa	Positiva	Negativa	Flora bacilar Inflamatória	Positivo	Negativo	Negativo
31 anos/ solteira/ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Positiva	Positiva	Positiva 16	Inflamatória Flora bacilar	Negativo	Negativo	Negativo
45 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Positiva	Positiva	Negativa	Inflamatória Flora bacilar	Negativo	Positivo	Negativo
43 anos/ casada/ ativa	Positiva	Positiva / holandesa	Positiva	Positiva	Negativa	Normal Flora bacilar	Negativo	Negativo	Negativo
49 anos/ casada/ativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Inflamatória ACSUS	Negativo	Negativo	Negativo
55 anos/ viúva/inativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positivo 33	Inflamatória Flora bacilar	Negativo	Negativo	Negativo
60 anos/ viúva/inativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Normal Flora bacilar	Negativo	Negativo	Negativo

6. DISCUSSÃO

A principal proposta do presente estudo foi verificar a prevalência da infecção por *N. gonorrhoeae* na população feminina da Zona Sul, atendida em um Hospital Escola referência na região. Além de realizar um levantamento socioeconômico, já que a região periférica conta em sua maior parte com uma população vulnerável, que necessita do Sistema Único de Saúde (SUS).

A falta de notificação compulsória no SUS é um grande problema de saúde pública, que impacta a vida de muitas pessoas, além de agravar a resistência antimicrobiana, e a existência de perfis altos de sensibilidade à infecções e perfis baixos de sensibilidade ao tratamento, principalmente com o uso de antimicrobianos, além de possibilitar a existência de “superbactérias”. Refletindo sobre a vigilância de IST, nota-se que, em 2020, ainda não existem dados oficiais produzidos de forma sistemática, sobre gonorreia, clamídia, tricomoníase ou herpes genital no Brasil, uma vez que essas IST não fazem parte da lista nacional de notificação compulsória. Entretanto, é possível estimar sua prevalência com o desenvolvimento de estudos sobre determinadas populações, assistidas em serviços específicos^{12,17}. É notório que o perfil epidemiológico das IST vem se modificando durante as últimas décadas em todo o mundo, com aumento expressivo do número de casos entre mulheres. Os contextos históricos revelam que as mulheres brasileiras enfrentam obstáculos em virtude do preconceito, dos processos vinculados à dinâmica de gênero e das relações sexuais e reprodutivas⁶.

O Brasil carece de estudos de resistência antimicrobiana para *N. gonorrhoeae*, sejam eles observacionais ou experimentais. Além de que em um período “pós” pandemia houve a preocupação em estudos científicos em verificar se a população estava fazendo o uso indiscriminado de antimicrobianos, e a reação deste feito.

Em relação com nosso teste molecular de PCR obtivemos na reação uma curva de melting satisfatória para comprovação dos nossos resultados positivos, ou seja, em todas as amostras havia uma carga bacteriana alta que supria a qualidade e sensibilidade do teste.

Por conta da variabilidade genética encontramos muitos perfis de resistência em uma única bactéria, tal motivo que preconiza a identificação de três diferentes tipos de resistência.

6.2 Desafios e limitações do estudo

Durante o decorrer do trabalho, tivemos alguns desafios para realização dos testes fenotípicos, não obtivemos retorno das pacientes às recoletas e também às consultas ginecológicas de rotina o que impossibilitou a realização. Os testes fenotípicos tinham como objetivo complementar e aperfeiçoar a análise de identificação *N gonorrhoeae* com os métodos de semeadura por esgotamento em meio seletivo, coloração de gram e reações de oxidase e catalase concomitantemente com os métodos genotípicos que foram utilizados neste trabalho (PCR em tempo real para identificação do gênero e de resistência genética).

De forma geral realizamos somente a avaliação de uma pequena parte da população da região da Zona Sul de São Paulo, obtendo uma amostragem pequena em comparação com a quantidade de habitantes nessa região que é uma das mais populosas. E essa limitação pode não refletir realmente uma grande prevalência em todas as regiões periféricas e também consideradas pobres como aconteceu neste estudo, já que ainda não expandimos a avaliação a essas outras regiões. No entanto os dados podem não fazer jus a realidade em todas as regiões de São Paulo (Norte, Sul, Leste, Oeste e Central), já que há um grande contraste entre todas elas.

Através desse trabalho, novos serão derivados, buscando contemplar outras regiões e maior quantidade de participantes.

7. Conclusão

Este foi o primeiro estudo descritivo na região da Zona Sul de São Paulo para prevalência e também resistência antimicrobiana de *N. gonorrhoeae*.

A prevalência de 18% nesta população é considerada alta em mulheres. A frequência da infecção por *N. gonorrhoeae* é maior no sexo masculino, sendo uma das poucas IST que os principais sinais e sintomas manifestam-se em homens. Já que 70% das mulheres infectadas permanecem assintomáticas¹⁸. No entanto as pacientes com resultado positivo para *N. gonorrhoeae* eram casadas (43,48%), tinham vida sexual ativa (56,52%) e não faziam uso de nenhum tipo de preservativo na relação sexual (52,17%) o que é algo relevante para a alta taxa de incidência.

E quanto a prevalência de resistência genética, a de tetraciclina foi realmente maior do que esperávamos (60% com IC = 95%) e realmente demonstra a necessidade de continuar com estudos de rastreamento, notificação e uso controlado de antimicrobianos não somente nesta, mas em todas infecções sexualmente transmissíveis.

Obtivemos uma alta qualidade nos testes genotípicos moleculares, pois de acordo com o nosso controle de qualidade da amostra positiva de cultura os valores de referência foram satisfatórios. A determinação do número de cópias mínimas em um template foi de 469 cópias e no máximo 4.000.000 cópias dentro da reação de PCR.

8. REFERENCIAS

1. Pinto VM, Pinto CR, Barros CR dos S, Gutierrez EB. Fatores Associados às infecções sexualmente transmissíveis: inquérito populacional no município de São Paulo, Brasil. *Scielo Ciência e Saúde Coletiva*. 2018;23.
2. JF C. Ordem médica e norma familiar. Edições Graal; Rio Janeiro. 2004;
3. Del Priore M. Ao sul do corpo: condição feminina, maternidades e mentalidades no Brasil Colônia. Rio Janeiro José Olympio. 1993;
4. F R. Ginecologia, gênero e sexualidade na ciência do século XIX. *Horiz antropol*. 2002;101-125.
5. De Carvalho FT, Piccinini CA. Aspectos históricos do feminino e do maternal e a infecção pelo HIV em mulheres. *Cienc e Saude Coletiva*. 2008;13(6):1889–98.
6. Daniels JP. Populism threatens Brazil's HIV/AIDS response. *Lancet HIV*. 2019 Oct 1;6(10):e650–1.
7. FMD C, ACF M, DC M, JA C. A percepção feminina quanto à vulnerabilidade de se contrair DST/ AIDS. *Rev Univ Val Rio Verde*. 2014;12.
8. Moura SLO, Silva MAM da, Moreira ACA, Freitas CASL, Pinheiro AKB. Percepção de mulheres quanto à sua vulnerabilidade às Infecções Sexualmente Transmissíveis. *Esc Anna Nery*. 2021;25(1):1–8.
9. LSA R, MS P, JF O, SM N. Vulnerability of women in common-law marriage to becoming infected with HIV/AIDS: a study of social representations. *Rev Esc Enferm USP*. 2012;349–55.
10. JRCM A, Barros S, Campos P, JJS F. Vulnerabilidade, direitos humanos e cuidado: aportes conceituais. *Atenção à saúde Popul vulneráveis Barueri Manole*; 2014. 2014;

11. J R, S VH, E K, N L, M U, LJ A-R. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates. Bull World Heal Organ. 2016;
12. Miranda AE, Freitas FLS, Passos MRL de, Lopez MAA, Pereira GFM. Políticas públicas em infecções sexualmente transmissíveis no Brasil. Epidemiol e Serviços Saúde. 2021;30(spe1):1–8.
13. Vigilância Epidemiológica | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [cited 2021 Jul 19]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/gestores/vigilancia-epidemiologica> Acessado em 09/2021
14. TAPSALL, John W. Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae. Geneva: World Health Organization, 2001.
15. VAN DEN HOEK, J. A. R.; GRIENSVEN, G. J. P.; COUTINHO, R. A. Increase in unsafe homosexual behaviour. Lancet, London, v. 336, n. 8708, p.179-180, 1990.
16. Unemo M, Lahra MM, Cole M, Galarza P, Ndowa F, Martin I, et al. World Health Organization Global Gonococcal Antimicrobial Surveillance Program (WHO GASP): Review of new data and evidence to inform international collaborative actions and research efforts. Sex Health. 2019;16(5):412–25.
17. Silvia C, Domingues B, Lannoy LH De, Saraceni V, Fernando G, Pereira M, et al. Protocolo Brasileiro para Infecções Sexualmente Transmissíveis 2020 : vigilância epidemiológica. 2021;30:1–12.
18. Penna GO, Hajjar LA, Braz TM. Gonorrhea. Rev Soc Bras Med Trop. 2000;33(5):451–64.
19. Handfield H, PJ W, KK H. Treatment of the gonococcal arthritis-dermatitis syndrome. Ann Intern Med. 1976;84:661–7.
20. S.R M, MPH. Gonorreia. Man MSD Disponível em <https://www.msdmanuals.com/pt-br/>. 2021; Acessado em 10/2021

21. Passos MRL, Lopes P da C, Filho GL de A, Nunes CM. Gonorreia.pdf. Vol. 2, Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis. 1990. p. 13–21.
22. Silva RC, Gomes G, Silva DA. Gonorreia E Sua Resistência a Antibióticos : Uma Revisão De Literatura Gonorrhea and Its Resistance To Antibiotics : a Literature Review. 2020;29:124–32.
23. ONS C, ECS A, AA T. Castilho ONS, Araújo ECS, Trigo AA. Bartholinite: Um Relato De Experiência. Publicações Unifran São Paulo. 2015;14 n° 5.
24. Ministério da Saúde. Manual de bolso de controle das doenças sexualmente transmissíveis DST. http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/control_e_doencas_sexualmente_transmissiveis.pdf. 2006;1. Acessado em 09/2021
25. CDC. Sexually transmitted diseases treatment guidelines. Cent Dis Control Prev. 2010;1–114.
26. Handsfield H, PF S, GL M, JE B, Mendell DR, Bennett D and. Neisseria Gonorrhoea. Princ Pract Infect Dis 4th Ed Churchill Livingstone. 1995;p 1909-1927.
27. Faur YC WM, ME W. A new medium for the isolation of pathogenic Neisseria (NYC medium). II. Effect of amphotericin B and trimethoprim lactate on selectivity. Heal Lab Sci. 1973;55–60.
28. Thayer JD, JE MJ. Improved medium selective for the cultivation of N. gonorrhoeae and N. meningitidis. Public Health. 1966;81:559–62.
29. Heckels JE. Molecular studies on the pathogenesis of gonorrhoeae. J Med Microbiol. 1984;18(293–307).
30. Journal of Clinical Microbiology S M, LB R, JS K. Neisseria gonorrhoeae strains inhibited by vancomycin in selective media and correlation with auxotype. J Clin Microbiol. 1981;14:94–9.
31. Bohnhoff M, JA M, SA L. Auxotypes, penicillin susceptibility and

- serogroups of *Neisseria gonorrhoeae* from disseminated and uncomplicated infections. *J Infect Dis.* 1986;154:225–30.
32. Roberts M, P P, S. F. The ecology of gonococcal plasmids. *J Clin Microbiol.* 14:491–4.
 33. KONEMAN, Elmer W. et al. *Neisseria*. In. *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008. p. 503-550.
 34. - Sparling, P.F. (2008). *Biology of N. gonorrhoeae*. Em: Holmes, K.K Sparling, P.F. Stamm, E.E. Piot, P. Wasserheit, J.N. Corey, L. Cohen, M.S. Watts, D.H. (eds.) *Sexually Transmitted Diseases*. Fourth edition. China: Mc Graw Hill, 607-626.
 35. Hauck, C.R. Meyer, T.F. (2003). “Small” talk: Opa proteins as mediators of *Neisseria* host cell communication. *Curr Opin Microbiol* (6), 43-49.
 36. Virji, M. (2009). Pathogenic *neisseriae*: surface modulation, pathogenesis and infection control. *Nature reviews – Microbiology*, 7 (4), 274-286.
 37. Diagnóstico das IST | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [cited 2021 Jul 19]. Available from: <http://www.aids.gov.br/pt-br/profissionais-de-saude/ist/diagnostico-das-ist> Acessado em 10/2021
 38. ANVISA. Detecção e Identificação de Bactérias de Importância Médica. Agência Nac Vigilância Sanitária. Módulo V-.
 39. Brasília: Ministério da Saúde PN de DST e A. Cultura, isolamento e identificação da *Neisseria gonorrhoeae*. TELELAB. 1997;72.
 40. Segal E, E B, M S, S S, TF M. Role of chromosomal rearrangement in *N. gonorrhoeae* pilus phase variation. *Cell.* 1985;40:293–300.
 41. Handsfield H, ZA D, DH M, JM DJ, MC M, D. S. Multicenter trial of single-dose azithromycin vs. ceftriaxone in the treatment of uncomplicated gonorrhea. 21:107-111, 1994. *Sex Transm Dis.* 1994;21:107–11.

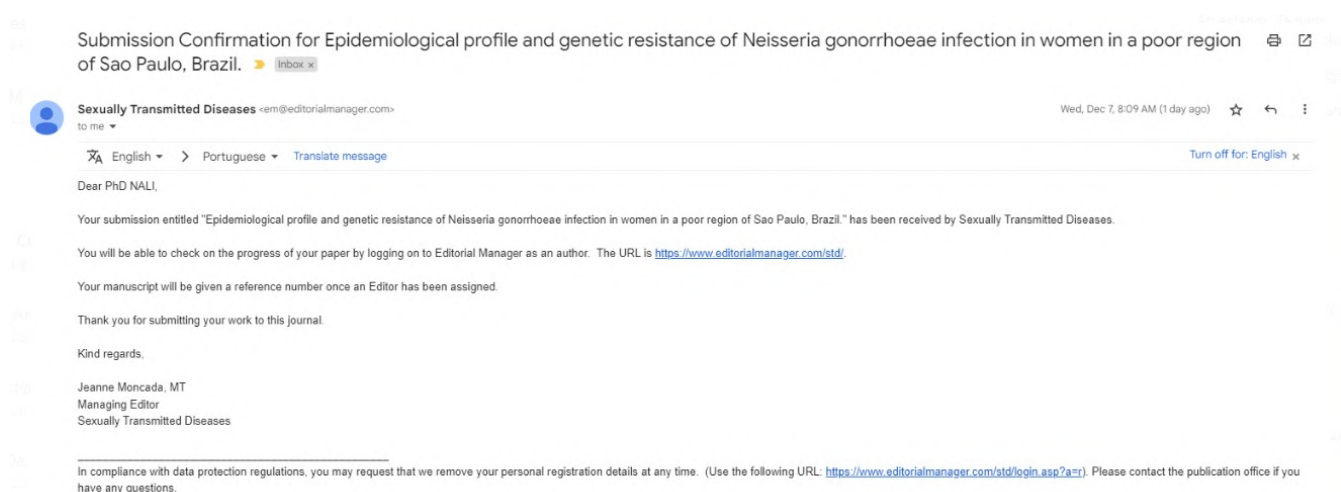
42. C. B. Antibiotic treatment of gonorrhoea: Clinical evidence for choice. *Genitourin Med.* 1996;72:315–20.
43. Goodman & Gilman's. *Manual of Pharmacology and Therapeutics.* McGraw Hill. 2008;
44. Bertman G Katzung. *Farmacologia Básica e Clínica.* Bras McGraw Hill. 2007;10.
45. Rhee KY, Gardiner DF. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal activity in the treatment of gram-positive bacterial infections [2]. *Clin Infect Dis.* 2004;39(5):755–6.
46. Rody, Larner, Minneman. *Human Pharmacology.* Missouri: Mosby. 1998;3.
47. Baptista MGDfM. *Mecanismos de Resistência aos Antibióticos.* Diss Mestrado, Lisboa, Univ Lusófona Humanidades e Tecnol Fac Ciências e Tecnol da Saúde. 2013;51.
48. Davies J. Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiologia.* 1996;12(1):9–16.
49. Dzidic S, Suskovic J, Kos B. Antibiotic resistance Mechanisms in Bacteria: Biochemical and Genetic. *Food Technol Biotechnol.* 2008;46:11–21.
50. Neihardt F, Ryan KJ, Ray CG. *Sherris Medical Microbiology - An introduction to infectious diseases.* 2004;4:53–74.
51. L N, Bonomo R. Genetic and Biochemical mechanisms of bacterial. *Antibiot Lab Med Nov Iorque.* 2005;5:441-476).
52. Martinez JL, Baquero F. Mutation frequencies and antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000;44(7):1771–7.
53. Nikaido H. Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. *Science* (80-). 1994;
54. Cox G, Wright GD. Intrinsic antibiotic resistance: Mechanisms, origins, challenges and solutions. *Int J Med Microbiol [Internet].* 2013;303(6–

- 7):287–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijmm.2013.02.009>
55. Kashmiri SVS, Hotchkiss RD. Evidence of tandem duplication of genes in a merodiploid region of pneumococcal mutants resistant to sulfonamide. *Genetics*. 1975;81(1):21–31.
 56. Brochet M, Couvé E, Zouine M, Poyart C, Glaser P. A naturally occurring gene amplification leading to sulfonamide and trimethoprim resistance in *Streptococcus agalactiae*. *J Bacteriol*. 2008;190(2):672–80.
 57. Brazas M, RE Hancock. Usando assinaturas de genes de microarray para elucidar os mecanismos de ação e resistência aos antibióticos. *Drug Discov*. 2005;10:1245–52.
 58. Martínez JL, Baquero F, Andersson DI. Predicting antibiotic resistance. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5(12):958–65.
 59. Unemo M, Nicholas RA. Emergence of multidrug-resistant, extensively drug-resistant and untreatable gonorrhea. *Future Microbiol*. 2012;7(12):1401–22.
 60. Unemo M, Shafer M. Antimicrobial Resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the 21st Century : Past , Evolution , and Future. 2014;27(3):587–613.
 61. Warner DM, Folster JP, Shafer WM, Jerse AE. Regulation of the MtrC-MtrD-MtrE efflux-pump system modulates the in vivo fitness of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Infect Dis*. 2007;196(12):1804–12.
 62. Shafer, William Warner, Douglas Jerse A. Clinical Relevant Mutations cause NG Pump System Antimicrobial Resistance. *Mol Microbiol*. 2008;70(2):462–78.
 63. Unemo M, Golparian D, Hellmark B. First three *neisseria gonorrhoeae* isolates with high-Level resistance to azithromycin in sweden: A threat to currently available dual-Antimicrobial regimens for treatment of gonorrhea? *Antimicrob Agents Chemother*. 2014;58(1):624–5.
 64. Luna VA, Cousin S. J, Whittington WLH, Roberts MC. Identification of the conjugative *mef* gene in clinical *Acinetobacter junii* and *Neisseria*

- gonorrhoeae isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2000;44(9):2503–6.
65. Rouquette-Loughlin CE, Balthazar JT, Shafer WM. Characterization of the MacA-MacB efflux system in *Neisseria gonorrhoeae*. *J Antimicrob Chemother*. 2005;56(5):856–60.
 66. Lindbäck E, Rahman M, Jalal S, Wretling B, Lindba E. Mutations in *gyrA* , *gyrB* , *parC* , and *parE* in quinolone-resistant strains of *Neisseria gonorrhoeae*. 2002;(2):651–7.
 67. Paulo S. BRIEF COMMUNICATION EVALUATION OF THE *in vitro* ACTIVITY OF SIX ANTIMICROBIAL AGENTS AGAINST *Neisseria gonorrhoeae*. 2007;49(1):55–8.
 68. Ferreira WA, Ferreira CM, Naveca FG, Cristina N, Almeida S, Vasconcelos WDS, et al. Genotyping of two *Neisseria gonorrhoeae* fluoroquinolone-resistant strains in the Brazilian Amazon region. 2011;106(August):629–31.
 69. Ministério da Saúde. Protocolo clínico e diretrizes terapêuticas infecções sexualmente transmissíveis: relatório de recomendação. [http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2015/Relatorio_PC DT_IST_CP.pdf](http://conitec.gov.br/images/Consultas/Relatorios/2015/Relatorio_PC_DT_IST_CP.pdf). 2015;
 70. Fernandes T, Bortolozzi F, Nogueira K, Marconi C, Monteiro CLB. Resistência de *Neisseria gonorrhoeae* a antimicrobianos na prática clínica: como está o Brasil? *Fed Bras das Assoc Ginecol e Obs*. 2018;46(2):76–89.
 71. Wi T, Lahra MM, Ndowa F, Bala M, Dillon JAR, Ramon-Pardo P, et al. Antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Global surveillance and a call for international collaborative action. *PLoS Med*. 2017;14(7):1–16.
 72. Kim J, Lim J, Lee C. Quantitative real-time PCR approaches for microbial community studies in wastewater treatment systems: Applications and considerations. *Biotechnol Adv* [Internet]. 2013;31(8):1358–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.05.010>

9. ANEXOS

Anexo 1. Protocolo de comprovante de submissão a revista “Sexually Transmitted Diseases”



Anexo. 2 Comprovante de submissão ao Comitê de Ética em Pesquisa
(CEP – UNISA)

UNIVERSIDADE DE SANTO AMARO - UNISA	
--	---

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES IDOSAS DA ZONA SUL DE SÃO PAULO

Pesquisador: Luiz Henrique da Silva Nali

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 33684720.0.0000.0081

Instituição Proponente: OBRAS SOCIAIS E EDUCACIONAIS DE LUZ

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.237.904

Apresentação do Projeto:

Idem ao anterior.

Objetivo da Pesquisa:

Idem ao anterior.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Idem ao anterior.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Idem ao anterior.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Adaptar o TCLE, conforme modelo CEP/UNISA, em acordo a resolução 466/12 - Pendência atendida

Anexar o questionário de pesquisa na Plataforma Brasil. Pendência atendida.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado:

As pendências se encontram devidamente atendidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Endereço: Rua Profº Enéas de Siqueira Neto, 340	CEP: 02.450-000
Bairro: Jardim das Imbuías	
UF: SP	Município: SÃO PAULO
Telefone: (11)2141-8687	E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

**UNIVERSIDADE DE SANTO
AMARO - UNISA**



Continuação do Parecer: 4.237.904

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1563462.pdf	12/08/2020 11:55:30		Aceito
Outros	carta_ao_cep.docx	12/08/2020 11:54:35	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Hannar_novo.docx	12/08/2020 11:52:32	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Outros	questionario.docx	30/06/2020 22:29:57	Hannar Angélica de Melo Alverga	Aceito
Folha de Rosto	Folhaderosto_hannar_nali.pdf	10/06/2020 14:59:58	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Outros	Doc_Hannar.jpg	10/06/2020 13:53:35	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	projeto_hannar_CEP.docx	10/06/2020 13:53:04	Luiz Henrique da Silva Nali	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 26 de Agosto de 2020

**Assinado por:
Ana Paula Ribeiro
(Coordenador(a))**

Endereço: Rua Profª Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP **Município:** SAO PAULO

Telefone: (11)2141-8687

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

Anexo 3. Exemplo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido apresentado as participantes voluntárias do presente estudo.

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

PROTOCOLO: PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES IDOSAS DA ZONA SUL DE SÃO PAULO.

Estes esclarecimentos estão sendo apresentados para solicitar sua participação no projeto PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES IDOSAS DA ZONA SUL DE SÃO PAULO do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade de Santo Amaro - UNISA, que será realizado pela pesquisadora Hannar Angélica de Melo Alverga como dissertação para obtenção do título de mestre sob orientação do Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali

1. Descrição do estudo e objetivos

Estamos realizando um estudo de caráter observacional em mulheres idosas e não idosas com o objetivo de avaliar a prevalência de HPV em mulheres que realizam exame preventivo de câncer de colo de útero de rotina e que morem na zona sul de São Paulo. Gostaríamos de observar a diversidade do HPV na população da Zona Sul de São Paulo e também investigar alguns marcadores biológicos para melhor compreender como nosso organismo responde a essa infecção. Vale destacar que a sua participação ou não, não acarretará em nenhuma interferência em seu atendimento médico ou em seu tratamento. Sendo assim, o objetivo desse termo é convidá-la a participar do nosso estudo

2. Procedimentos da pesquisa

Após ter sido esclarecido sobre o estudo, você poderá ou não participar do estudo. Caso aceite, você será solicitado a assinar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, uma cópia deste documento lhe será fornecida. O seu acompanhamento médico não será afetado no decorrer do estudo, além disso, você poderá optar por não participar mais do estudo a qualquer momento, sem que exista quaisquer implicações para ti. Caso aceite participar, coletaremos uma amostra de sangue e uma amostra de papanicolau, que será coletada juntamente com o seu exame, logo você não terá que realizar

duas coletas. Além disso, aplicaremos um questionário com o objetivo de conhecer seu perfil social. O material biológico e os dados coletados durante esse projeto serão utilizados apenas para o objetivo desse estudo.

3. Benefícios e obrigações do participante

Você não terá despesas pessoais por participar desse estudo, e nem quaisquer obrigações. Também não haverá compensação financeira por sua participação. A princípio, esse estudo não trará nenhum benefício imediato a você. Entretanto, as informações obtidas nesse estudo poderão servir de base para o a compreensão da disseminação do vírus na população, e também conhecer possíveis marcadores biológicos que ajudará na compreensão do desenvolvimento do câncer, futuramente.

4. Desconfortos e riscos

Por ser um estudo observacional, ou seja, sem quaisquer tipos de intervenções, esse estudo oferece riscos mínimos as voluntárias. A coleta de sangue é pouco invasiva e oferece riscos mínimos, onde há um desconforto por conta da coleta e pode, no máximo, gerar alguns hematomas e dores locais. Com relação ao procedimento de coleta de amostra de papanicolau os riscos também são mínimos, a amostra será coletada pelo médico responsável pelo atendimento no hospital, pode haver um pequeno desconforto durante o momento da coleta e raramente apresenta dor.

5. Garantia de acesso aos pesquisadores.

É garantido o acesso, em qualquer etapa do estudo, aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas ou informações sobre os resultados parciais das pesquisas, quando em estudos abertos, ou de resultados que sejam do conhecimento dos pesquisadores.

Os pesquisadores responsáveis são a enfermeira Hannar Angélica de Melo Alverga e Prof. Dr. Luiz Henrique da Silva Nali, podem ser encontrado na Universidade de Santo Amaro no endereço Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP, campus I, telefone 11 2141-8702 no setor Pós Graduação em Ciências da Saúde.

Se você tiver alguma consideração ou dúvida sobre a ética da pesquisa, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) – Rua Prof. Enéas de Siqueira Neto, 340, Jardim das Imbuías, SP – Tel.: 2141-8687.

Em caso de dano pessoal, diretamente relacionado aos procedimentos deste estudo (nexo causal comprovado), a qualquer tempo, fica assegurado ao participante o respeito a seus direitos legais, bem como procurar obter indenizações por danos eventuais.

Uma via deste Termo de Consentimento ficará em seu poder.

São Paulo, / /

(Hannar Angélica de Melo Alverga)

(Prof Dr. Luiz Henrique Da Silva Nali)

Se você concordar em participar desta pesquisa assine no espaço determinado abaixo e coloque seu nome e o nº de seu documento de identificação.

Nome (do participante):.....

Doc. Identificação:

Ass:

Nome (do representante legal):.....

Doc. Identificação:.....

Nível de representação: (genitor, tutor, curador, procurador.).....

Declaro (amos) que obtive (mos) de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste participante (ou do representante legal deste participante) para a participação neste estudo, conforme preconiza a Resolução CNS 466, de 12 de dezembro de 2012, IV.3 a 6.

Assinatura do pesquisador responsável pelo estudo Data / /

Anexo 4. Ficha fornecida as pacientes voluntárias do estudo para coleta de dados pessoais, demográficos, socioeconômicos, de antecedentes clínicos e ginecológicos.

QUESTIONÁRIO

• IDENTIFICAÇÃO

RG, Nome, Idade, Data de Nascimento, Endereço, Telefone, E-mail, Cor, Escolaridade, Estado civil, Religião, Profissão, Naturalidade e Procedência.

• FATORES SOCIOECONÔMICOS

1. Residência possui água encanada, asfalto, rede elétrica, esgoto? ()
Sim () Não
2. Quantos cômodos tem sua casa? () 1 () 2 () 3 ou mais
3. Quantas pessoas moram na casa? () 1 () 2 () 3 ou mais
4. Você recebe salário mensal ou algum tipo de auxílio? () Sim ()
Não
5. Qual a renda familiar mensal da sua família (número de salários-
mínimos)?
() 1 salário mínimo () 2 salários mínimos () 3 salários
mínimos ou mais

• ANTECEDENTES PESSOAIS GERAIS

1. Tem hipertensão arterial? () Sim () Não
2. Tem Diabetes mellitus? () Sim () Não
3. Tem ou já teve câncer? () Sim () Não
4. Possui casos de câncer na família? () Sim () Não
5. Tem alguma cardiopatia? () Sim () Não
6. Tem doenças da tireóide? () Sim () Não
7. Cirurgias anteriores? Quais? _____ () Sim () Não
8. Alergias? Quais? _____ () Sim () Não
9. Faz uso de medicação de uso contínuo? () Sim () Não
10. Está com suspeita de COVID-19? () Sim () Não
11. Já teve COVID-19? () Sim () Não
12. Caso tenha sido infectada pelo Coronavírus, você apresentou:

() Sintomas graves () Sintomas leves () Assintomática/
Sem sintomas

13. Já utilizou ou utiliza algum dos medicamentos abaixo?

() Ivermectina () Hidroxicloroquina () Cloroquina ()
)Azitromicina () Corticóides

14. Foi vacinada contra a COVID-19? () Sim () Não

• HÁBITOS

1. Tabagismo? Se sim, quantos cigarros/dia?

2. Etilismo? Se sim, com que frequência?

3. Drogas ilícitas? Se sim, quais?

• ANTECEDENTES GINECOLÓGICOS

1. Há quanto tempo iniciou a atividade sexual?

2. Possui vida sexual ativa no momento? () Sim () Não

3. Frequência semanal de relações sexuais () Rara () Moderada ()
Altamente frequente

4. Qual o número de parceiros sexuais na vida até agora?

5. Quantos novos parceiros sexuais teve nos últimos 6 meses?

() 1 () 2 () 3 () 4 () 5 ou mais

6. Faz uso de algum método contraceptivo?

() Preservativo () DIU () Pílula anticoncepcional ()

Nenhum

7. Quantas gestações já teve? () 0 () 1 () 2 () 3 () 4 ou mais

8. Se teve filhos, quantos foram os partos vaginais e cesáreas?

9. Se já teve filhos, amamentou? () Sim () Não

10. Já sofreu aborto? Quantos? () 1 () 2 () 3 ou mais

11. Sabe o que é uma IST? E como é feito o seu contágio?
12. Já recebeu diagnóstico de alguma infecção genital? () Sim () Não
13. Se IST positiva, fez ou faz tratamento? () Sim () Não
14. Já utilizou algum antibiótico para tratamento de alguma IST? Se sim, qual? E por quanto tempo?
15. É histerectomizada? () Sim () Não