

UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde

Estella Moraes Felix

**FREQUÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM AMOSTRAS
ENDOCERVICAIS DE MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO PAULO**

São Paulo

2023

Estella Moraes Felix

**FREQUÊNCIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* EM AMOSTRAS
ENDOCERVICAIS DE 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: Profa. Dr. Marina Tiemi Shio

São Paulo

2023

FICHA CATALOGRÁFICA

F36f

Felix, Estella Moraes.

Frequência de chlamydia trachomatis em amostras endocervicais de mulheres da zona sul de São Paulo / Estella Moraes Felix. – São Paulo, 2024.

24 p. : il., color.

Orientador: Luiz Henrique Da Silva Nali.

Co-orientadora: Marina Tiemi Shio.

Mestrado. (Dissertação em Ciências da Saúde) - Universidade Santo Amaro, 2024.

Bibliografia incluída.

1. IST. 2. Chlamydia Trachomatis. 3. PCR em tempo real. I. Nali, Luiz Henrique Da Silva, orient. II. Shio, Marina Tiemi, co-orient. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

CDD 616.951

Elaboradora pela Bibliotecária: Milena Braz Martins CRB-8/9974

Dedico este trabalho a minha amada família que sempre esteve comigo, ao meu avô Felix e em especial a minha tia Doroteia Moraes que não está mais presente neste plano, mas de onde ela estiver me deu forças para continuar e por fim a todas as pessoas que, de algum modo, fizeram parte desta minha jornada até aqui.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer, primeiramente, aos meus pais Lucilene e Carlos Henrique por todo apoio, atenção, carinho, conselhos, broncas e principalmente amor que me dão. Eles são duas pessoas batalhadoras abençoadas por Deus que me inspiram a ser uma pessoa melhor para o mundo. Agradeço com o coração transbordando de amor por sempre batalharem e darem o melhor para mim, sem os dois eu não estaria aqui hoje. Obrigada mãe e pai! Também quero agradecer a minha irmã Estefany que sempre me anima, escuta e está comigo em todas as situações com seu jeito incrível que só quem conhece sabe. Ela tem uma parte grande nesta minha trajetória e não podia faltar em dizer que a amo mais que tudo e vou estar sempre aqui.

Aproveito para agradecer o meu namorado Lucas por estar sempre comigo me fazendo muito feliz, me incentivando sempre para fazer o meu melhor e sendo o meu porto seguro, ele faz a diferença na minha vida, agradeço por ser ele ao meu lado! Obrigada também a cada um da minha família, que de algum modo me ajudou me incentivou e esteve comigo nesta fase.

As minhas amigas e amigos do laboratório da UNISA e aos colegas da pós-graduação por cada conversa, momentos de distração e troca de conhecimento nesta caminhada, agradecer também todos os meus amigos e amigas que estão em minha vida, cada um tem um espaço importante nessa minha jornada e em especial as minhas companheiras de sala e grandes amigas Barbara Adelungue, Sara Coelho e Steffany Bernardo por cada almoço, conversas, desabafos e principalmente risadas deixando nossas manhãs e tardes de aula mais leves.

À todas as pacientes que de forma voluntária aceitaram participar desse estudo.

E, por fim, a todo o corpo docente da pós-graduação pelo conhecimento obtido mas em especial três pessoas do programa incríveis como profissional e ser humano que me ensinaram, incentivaram e acolheram nessa trajetória acadêmica, Marina Shio, Luiz Nali e Carolina Nunes França obrigada por toda a paciência comigo, os ensinamentos, as broncas, conselhos e risadas que tivemos nunca vou me esquecer da força, apoio e acolhimento que me deram, vocês são inspirações para mim, obrigada de coração por tudo!

RESUMO

Introdução: Segundo a OMS, houve 376 milhões de novos casos de clamídia, gonorréia, sífilis e tricomoníase em 2019, no mesmo ano, no Brasil, cerca de 1 milhão de pessoas foram diagnosticadas com ISTs, tornando-se um problema para o sistema de saúde. No Brasil a prevalência varia de 4,3% a 31,0%, apesar de não ser de notificação compulsória, o Ministério da Saúde recomenda rastreio em gestantes e adolescentes, pode ser assintomática em 80% dos casos. A bactéria *C. trachomatis*, gram-negativa, causa infecção intracelular e afeta mucosas genitais, retais e oculares. A infecção em mulheres pode levar à doença inflamatória pélvica, complicações em gestantes como gravidez ectópica e infertilidade. O diagnóstico se dá através de testes de amplificação de ácidos nucleicos, a citologia Papanicolau pode evidenciar alterações celulares. Fatores de risco incluem baixa escolaridade, baixa renda, início precoce da atividade sexual e múltiplos parceiros.

Objetivos: Avaliar a frequência da infecção por *C. trachomatis* em mulheres atendidas em ambulatório de ginecologia situado em região carente do município de São Paulo.

Métodos: Foram coletadas amostras de raspado cervicovaginal de mulheres voluntárias (N= 102), após a coleta de dados sociodemográficos, as amostras foram obtidas por meio de raspado. Para citopatológica oncológica as lâminas foram coradas pelo método de Papanicolau, na extração de DNA utilizamos *PureLink™ Genomic DNA Mini Kit* e para identificação de *C. trachomatis* utilizamos PCR em tempo real com *Master Mix de Reagentes*. Os dados foram analisados com o GraphPadPrism 8 utilizando o teste G de Cochran e teste Qui-quadrado.

Resultados: Mais de 50% das mulheres eram casadas ou tinham união estável, a maior parcela tem entre 41-60 anos de idade e 80,39% iniciaram as relações sexuais com 11-20 anos. Dentre as voluntárias do estudo 17 (16,7%) estavam infectadas com *C. trachomatis*. Ainda, 29,41% das mulheres infectadas apresentavam co-infecção com *N. gonorrhoeae* e HPV sendo de 11,76% (HPV16).

Conclusões: A frequência de infecção por Clamídia encontra-se dentro da frequência de infecção na população brasileira. Concluímos também a maioria das pacientes positivas Clamídia apresentavam dados citopatológicos normais, o que destaca o método de diagnóstico molecular como potencial ferramenta para rastreio da infecção

Palavras chave: IST, *Chlamydia trachomatis*, PCR em tempo real.

ABSTRACT

Introduction: According to the WHO, there were 376 million new cases of chlamydia, gonorrhoea, syphilis and trichomoniasis in 2019, in the same year, in Brazil, around 1 million people were diagnosed with STIs, which represents a concern for public health. In Brazil, the prevalence varies from 4.3% to 31.0%, although it is not compulsory to report, the Ministry of Health recommends screening for pregnant women and adolescents, which can be asymptomatic in 80% of cases. The gram-negative bacterium *C. trachomatis* causes intracellular infection and affects genital, rectal and ocular mucous membranes. Infection in women can lead to pelvic inflammatory disease, complications in pregnant women such as ectopic pregnancy and infertility. Diagnosis is made through nucleic acid amplification tests, Pap smears can reveal cellular changes. Risk factors include low education, low income, early onset of sexual activity and multiple partners.

Objectives: To evaluate the frequency of *C. trachomatis* infection in women treated at a gynecology outpatient clinic located in a poor region of the city of São Paulo.

Methods: Cervicovaginal scraping samples were collected from volunteer women (N= 102), after collecting sociodemographic data, the samples were obtained through scrapings. For oncocytology, the slides were stained using the Papanicolaou method, for DNA extraction we used PureLink™ Genomic DNA Mini Kit and for identification of *C. trachomatis* we used real-time PCR with Master Mix of Reagents. Data were analyzed with GraphPad Prism 8 using the Cochran G test and Chi-square test.

Results: More than 50% of women were married or had a stable union, the largest proportion was between 41-60 years of age and 80.39% began sexual relations at the age of 11-20. Among the study volunteers, 17 (16.7%) were infected with *C. trachomatis*. Furthermore, 29.41% of infected women had co-infection with *N. gonorrhoeae* and HPV, 11.76% (HPV16).

Conclusions: The frequency of Chlamydia infection is within the frequency of infection in the Brazilian population. We also concluded that the majority of *Chlamydia* positive patients had normal cytopathological data, which highlights the molecular diagnostic method as a potential tool for screening the infection.

Keywords: STI, *Chlamydia trachomatis*, real-time PCR.

Lista de Tabelas

Tabela 1 - *Primers* utilizados nos ensaios de PCR para identificação de *Chlamydia trachomatis*.

Tabela 2 - Etapas do procedimento da ciclagem conforme suas condições.

Tabela 3 - Padronização de quantidade para Master Mix de Reagentes (Protocolo URC).

Tabela 4 - Padronização de quantidade de amostra em cada poço da microplaca de PCR (Protocolo UNISA RESEARCH- URC).

Tabela 5 - Dados sociodemográficos das voluntárias do estudo.

Tabela 6 - Início da idade sexual das pacientes.

Tabela 7 - Associação entre a idade a e infecção por *Chlamydia trachomatis*

Tabela 8 - Quadro geral dos achados infecciosos.

Tabela 9 - Quadro geral dos achados infecciosos.

Lista de Figura

Figura 1- Resultado da amplificação de PCR em Tempo Real para *C. trachomatis*. **1A** Representação esquemática da curva de amplificação de uma das amostras do estudo, exemplificando a curva de amplificação desejável para uma amostra positiva. **1B** Curva de *melting* determinando o controle linha vermelha e uma amostra positiva linha azul.

Lista de Abreviatura

IST - Infecção sexualmente transmissível

CT - *Chlamydia trachomatis*

DIP - Doença inflamatória pélvica

HEWA - Hospital Escola Wladimir Arruda

URC - *UNISA RESEARCH CENTER*

JEC - Junção escamo-colunar

PBS - *PHOSPHATEBUFFERED SALINE*

DNA - *Desoxyribonucleic Acid*

PCR - Polymerase Chain Reaction

HPV – *Human Papillomavirus*

HSIL - Lesão Intraepitelial escamosa de alto grau

ASCUS - Células escamosas atípicas de significado indeterminado

LSIL - Lesão Intraepitelial escamosa de baixo grau.

TNF - Fator de necrose tumoral

N. gonorrhoeae – *Neisseria gonorrhoeae*

C. trachomatis – *Chlamydia trachomatis*

CDC - Centros de Controle de Doenças e Prevenção EUA

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. JUSTIFICATIVA.....	4
3. OBJETIVOS.....	5
Objetivo geral	5
3.2 Objetivos específicos.....	5
4. MÉTODOS.....	6
4.2 Tipo de estudo.....	6
Local do estudo	6
Voluntárias e aspectos éticos.....	6
Desenho do estudo e logística laboratorial.....	6
Citopatologia oncológica	7
Extração de DNA.....	7
PCR em Tempo Real e identificação de <i>Chlamydia trachomatis</i>	8
4.8 Análise Estatística	11
5. RESULTADOS.....	12
6. DISCUSSÃO.....	14
7. CONCLUSÃO	18
REFERÊNCIAS	19
ANEXOS	24

1. INTRODUÇÃO

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) são responsáveis por diversas complicações do trato reprodutivo e que oferecem risco a saúde dos indivíduos afetados, bem como diversas complicações. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2019 estimou que 376 milhões de novos casos de clamídia, gonorréia, sífilis e tricomoníase foram detectados e cerca de 1 milhão de pessoas contraem estas e outras IST diariamente. Também em 2019, os Centros de Controle e Prevenção de Doenças (CDC) dos Estados Unidos relataram que se deu um aumento de quase 30% de clamídia, gonorréia e sífilis entre 2015-2019 e um aumento na incidência de todas as IST pelo sexto ano consecutivo¹. Em 2019 no Brasil através da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS), cerca de 1 milhão de pessoas apresentaram diagnósticos com infecções sexualmente transmissíveis, sendo assim, as ISTs estão entre os problemas de saúde de maior impacto sobre os sistemas públicos de saúde e sobre a qualidade de vida das pessoas no Brasil e no mundo².

Atualmente a IST de maior prevalência no mundo é causada pela bactéria *Chlamydia trachomatis* (CT), e acomete tanto homens quanto mulheres, com destaque para mulheres jovens entre 15 e 24 anos³. Estima-se que, por ano, cerca de 92 milhões de casos são diagnosticados ao redor do mundo. No Brasil, estudos de base populacional revelaram que, a prevalência de infecção por *C. trachomatis* varia entre 4,3% e 31,0%, número esse que pode superar outras infecções sexualmente transmissíveis, como a sífilis e a gonorréia, evidenciando que essa doença é um problema de saúde pública em virtude de sua frequência na população⁴. Essa IST não faz parte da lista de doenças de notificação compulsória, entretanto o Ministério da Saúde recomenda o rastreamento em gestantes e adolescentes atendidas em serviços como o pré-natal e a coleta de exame preventivo em serviços públicos de saúde. No entanto, nos serviços privados a pesquisa de Clamídia em geral só ocorre em casos sintomáticos ou quando um dos parceiros expõe a existência da doença^{5,6}. Importante destacar que, por se tratar de uma doença na qual não existe a obrigatoriedade de notificação o Brasil utiliza como base os dados obtidos na população dos Estados Unidos.

A bactéria *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria gram-negativa, tem como perfil a obrigatoriedade a infecção intracelular, e as células hospedeiras de maior afinidade são as da mucosa dos órgãos genitais, do reto e dos olhos^{1,7}. Possui 19 genótipos, que estão relacionados a três formas clinicamente distintas dessa infecção: o tracoma, causado pelos genótipos A, B, Ba e C, considerado a principal causa de cegueira evitável no mundo; o linfogranuloma venéreo, causado pelos genótipos L1, L2, L2a e L3, que se estabelece predominantemente com caráter invasivo e manifestações clínicas bem específicas, como a linfadenopatia inguinal no qual os linfonodos incham em resposta a doenças sendo um sinal de que o sistema linfático está trabalhando para livrar o corpo dos agentes responsáveis, e por fim, os genótipos D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J e K onde estão associados a infecções urogenitais não invasivas. No caso de infecção de órgãos genitais femininos, ela instala-se de modo preferencial no canal cervical uterino, tendo grande risco de alastrar-se para a porção superior do trato genital e, de modo bem comum, causar a doença inflamatória pélvica (DIP)⁸. A grande complicação para mulheres é que a infecção ao ascender pelo trato reprodutivo possa comprometer as tubas uterinas e ovários, levando cenários obstétricos consideravelmente preocupantes, como a gravidez ectópica e infertilidade. Além disso, a infecção por *C. trachomatis* é a principal causa de uretrite e cervicite. Em muitos casos, a doença pode ser até 80% assintomática, o que resulta em subnotificações e conseqüentemente atraso no diagnóstico precoce e tratamento^{7,8}. No entanto, dentre as manifestações clínicas podemos destacar a disúria, corrimento, sangramento, desconforto abdominal e friabilidade cervical⁹.

Por ter risco de graves impactos obstétricos, as gestantes são um público de alerta para doença, pelo risco de gravidez ectópica ligada diretamente com a infecção tubária causada pela bactéria, de abortamento, e também por riscos neonatais, pois os recém-nascidos podem infectar-se no momento da passagem pelo canal vaginal durante o parto, tendo como desfecho principalmente conjuntivite purulenta e pneumonia pós-natal até o 6º mês de vida⁸.

O diagnóstico desta infecção avançou bastante com a evolução dos métodos laboratoriais, sendo recomendado como padrão ouro para a *C. trachomatis* os testes de amplificação de ácidos, que baseia-se na obtenção de milhares de cópias de um segmento de DNA a partir de *primers* (iniciadores) que definem as regiões de

DNA a serem amplificadas de uma sequência de DNA-alvo, tendo uma sensibilidade 20% maior do que a cultura e um alto índice de especificidade além da maior estabilidade das amostras para processamento e transporte¹⁰. A citologia pelo método Papanicolau, realizado para prevenção do câncer de colo de útero, também pode evidenciar alterações celulares causada pela infecção por *C. trachomatis*, tais como inclusões eosinofílicas em células metaplásicas, porém, comparado ao teste molecular, possui baixa sensibilidade. Os testes sorológicos não são usados na prática clínica, pois os anticorpos produzidos durante a infecção são de longa vida, contudo, difícil para diferenciação de infecção aguda e crônica urinária⁸.

Entre os fatores de risco para infecção por Clamídia, estudos mostram que baixa escolaridade e baixa renda colocam a população mais vulnerável a contrair a infecção. Além disso, o maior público atingido são mulheres que começaram precocemente a relação sexual, mulheres que possuem baixa adesão ao uso de preservativos e as que tiveram acima de três parceiros na vida têm maiores riscos tanto para a infecção como para a reinfeção⁷.

O presente estudo foi desenvolvido com mulheres atendidas em um hospital universitário da Zona Sul da cidade de São Paulo. De acordo com dados do último censo realizado pelo IBGE (2022), o município de São Paulo possui 11.451.999 milhões de habitantes, e está dividido a nível organizacional em 32 subprefeituras, e 25 supervisões técnicas em saúde¹¹. O hospital universitário onde o estudo foi desenvolvido atende a população da subprefeitura da Capela do Socorro, na Zona Sul da cidade de São Paulo. De acordo com dados da subprefeitura da capela do socorro, a região sul tem um perfil bastante heterogêneo, uma vez que concentra bairros de características nobres, com população de alto poder aquisitivo e consequentemente maior instrução e cuidados com a saúde, mesclados com regiões de extrema pobreza, localizadas principalmente na Zona Sul 2 que fica no extremo sul da cidade de São Paulo, nas regiões de Interlagos, Parelheiros e Grajaú, cujo apresentam índices de vulnerabilidade social, destacando-se uma maior proporção nestes dois últimos bairros. Pode ser observado também uma fragilidade de atividade econômica, sendo de R\$500,00 a renda familiar em alguns desses bairros, evidenciando o baixo desenvolvimento econômico de alguns bairros da região¹². Nesta região residem mulheres mais pobres com condições de vida debilitadas onde não buscam atendimento à saúde tendo em vista que possuem

uma carência de acesso à informação, a métodos de rastreio além do diagnóstico para algumas IST^{9,10}. Podendo afetar no crescimento da zona pela questão de infertilidade que a infecção pela *Chlamydia trachomatis* pode acometer, sendo assim, analisamos que a região tem esta demanda para as mulheres, o que justifica a realização deste estudo com a possibilidade de achados importantes para contribuir com o setor de saúde da região.

2. JUSTIFICATIVA

A *Chlamydia trachomatis* é a IST mais comum globalmente, muitas vezes assintomática. Não tratada, pode causar complicações graves em mulheres, como infertilidade, DIP e gravidez ectópica, aumentando o risco de outras ISTs.^{3,31}

Este estudo foca em mulheres de 15 a 80 anos na Zona Sul 2, área com desafios infraestruturais e sociais. Visa avaliar a prevalência de *C. trachomatis*, melhorar o diagnóstico, aumentar a conscientização e fornecer informações sobre ISTs para a comunidade local, promovendo cuidados durante as relações sexuais.

3. OBJETIVOS

3.1. Objetivo geral

Avaliar a frequência da infecção por *Chlamydia trachomatis* em mulheres atendidas pelo ambulatório de ginecologia situado em região carente do município de São Paulo.

3.2. Objetivos específicos

- Descrever o perfil sociodemográfico da população estudada correlacionando com a idade;
- Comparar o perfil e frequência de infecção de clamídia com dados sociodemográficos.
- Avaliar as condições citopatológicas das amostras coletadas.

4. MÉTODOS

4.1 Tipo de estudo

O seguinte estudo é observacional e descritivo, onde realizamos a associação da doença causada pela bactéria *Chlamydia trachomatis* nas mulheres da região estudada.

4.2 Local do estudo

Os dados e as amostras foram coletados no ambulatório de Ginecologia e Obstetrícia do Hospital Escola Wladimir Arruda (HEWA), localizado no campus I da Universidade de Santo Amaro (UNISA) e voltado para o público da região de Parelheiros, Grajaú e Jardim das Imbuías e Capela do Socorro. O hospital conta com 64 consultórios médicos, 15 salas de exames de apoio e diagnóstico, três centros cirúrgicos, além de salas de pequenos procedimentos e outros. Cerca de 700 a 800 mulheres são atendidas mensalmente no ambulatório e contam com atendimentos de especialidades como pediatria, psiquiatria, mastologia, ginecologia, uroginecologia e obstetrícia.

4.3 Voluntárias e aspectos éticos

Foram realizadas coletas por conveniência do material cervico-vaginal de pacientes do sexo feminino que são atendidas no ambulatório de ginecologia do HEWA (Hospital Escola Wladimir Arruda) localizado na Zona Sul de São Paulo, que é coordenado pelo Prof. Gabriel Monteiro. A coleta do material foi realizada no ano de 2021.

Todas as voluntárias deste estudo que aceitaram participar do projeto preencheram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE anexado ao fim do trabalho). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP-UNISA) sob o número de parecer 4.237.904. Destaca-se que independente da participação, as mulheres não sofreram qualquer prejuízo em seu atendimento e/ou tratamento.

4.4 Desenho do estudo e logística laboratorial

O processamento das amostras, técnicas de Biologia Molecular foram realizadas no Centro de Pesquisa da UNISA (URC – UNISA RESEARCH CENTER). As

voluntárias que aceitaram participar do estudo foram convidadas pela equipe do ambulatório de ginecologia e obstetrícia do HEWA a responder um questionário para coleta de dados sociodemográficos e clínicos. O questionário solicitava informações como idade, renda, escolaridade, estado civil, além de questões acerca dos antecedentes clínicos, ginecológicos e obstétricos. O questionário foi aplicado em local reservado e a mulher previamente informada sobre os dados que seriam coletados no momento da aplicação do TCLE. Após a coleta de dados sociodemográficos, as amostras foram obtidas através de raspado de material cérvico-vaginal do colo uterino das regiões ectocervice, junção escamo-colunar (JEC) e canal endocervical utilizando escova de cerdas plásticas em rotação de 360° e inserida em meio de citologia líquida Thinprep da marca Hologic. Após a coleta, as amostras foram encaminhadas para o laboratório de pesquisa da UNISA o URC, sendo feito seu devido processamento, que se segue.

Cerca de 5 mL do conteúdo foi homogeneizado e transferido para um tubo Falcon® o qual foi centrifugado a 1.500G por 5 minutos. Em seguida, o sobrenadante foi descartado e as células foram ressuspensas em 1 mL com PBS estéril. As células foram novamente centrifugadas a 1.500G por 5 minutos e ressuspensas mais uma vez em PBS estéril. No entanto, dessa vez, em 200 µL, alíquota no qual foi encaminhada para a análise molecular. O restante do volume da amostra foi utilizado para a preparação das análises citológicas, que estão a seguir.

4.5 Citopatologia oncótica

Uma alíquota de 5 mL foi separada em tubo Falcon® de 15 mL e centrifugada a 1.500G por 5 minutos. O sobrenadante foi descartado e o pellet contendo células lavado com PBS e fixado em lâminas.

As lâminas foram coradas pelo método de Papanicolau, e em seguida realizou a leitura para análise citopatológica no laboratório de pesquisa em citopatologia do URC, utilizando o método de nomenclatura do Ministério da Saúde (2006)¹³ para classificação do resultado das lâminas.

4.6 Extração de DNA

Após a coleta do material, foi retirado 5 mL da amostra presente no ThinPrep e colocada no tubo Falcon® de 15 mL, levada para centrifugar a 1.500G por 6 minutos, descartou-se o sobrenadante, com posterior adição de PBS (solução para lavagem),

nova etapa de centrifugação foi realizada e separamos 200 µL da amostra em um microtubo *ependorf* para iniciar a extração de DNA.

A extração de DNA foi conduzida utilizando um kit de extração de sílica (*PureLink™ Genomic DNA Mini Kit*), conforme as instruções do fabricante *ThermoFisher®*.

Seguindo o protocolo, adicionamos 20 µL de Proteinase K (enzima que digere as proteínas das amostras) mais 200 µL Buffer Lise (responsável por expor o DNA) no microtubo no qual por 10 minutos foi mantido a 55 °C. Depois no processo de lavagem foram retirados em torno de 640 µL do microtubo e inserido em um tubo de coluna do kit da *ThermoFisher®*, estas amostras na coluna passaram por 2 buffers de lavagem e centrifugadas a 15.000 RPM por 2 minutos cada buffer. Já na parte de eluição da amostra para obter DNA purificado, colocamos 200 µL de buffer Eluição/AE, levadas para centrifugação por 1 minuto a 15.000 RPM. O material centrifugado na última etapa foi mantido em um novo microtubo e por fim quantificamos as amostras no aparelho *Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Microvolume UV-Vis Spectrophotometer*. As amostras com DNA já extraído foram mantidas no freezer a -80 °C.

4.7 PCR em Tempo Real e identificação de *Chlamydia trachomatis*

Utilizamos a técnica de PCR em Tempo Real que consiste em adicionar o DNA extraído das amostras nos poços de uma placa para PCR e juntamente adicionando os reativos necessários para a reação da PCR¹⁰. A partir de pesquisas literárias baseadas nesta técnica para este diagnóstico, foram selecionados os primers¹⁴ (conforme a tabela 1) e solicitados ao fabricante *Invitrogen®* estes foram ressuspensos para a concentração de 100 nM e diluídos na proporção 1:10 (10nM) com água ultrapura (*nuclease free*, da marca *Thermo Fisher*).

Tabela 1. Primers utilizados nos ensaios de PCR para identificação de *Chlamydia trachomatis*.

Primer	Região	Sequência
<i>Forward</i>	5'3'	GGA TTG ACT CCG ACA ACG TAT TC
<i>Reverse</i>	5'3'	TAC TTG CCA TTA GAA AGG GCA TT

Foi utilizado também para uma quantificação mais sensível e específica, o sistema *SYBR Green*[®] que se caracteriza por ter uma função de ligar com a polimerase. Este processo de PCR se divide dentre as seguintes etapas: desnaturação no qual a dupla fita é desnaturada se tornando uma fita única por aquecimento; anelamento onde os primers tem a função de complementar a sequência de DNA, e extensão em que a enzima DNA-polimerase adiciona as bases complementares, formando uma nova fita e então tem-se novamente a duplicação da fita de DNA¹⁰. Resultando então nas curvas de amplificação e *melting* onde foram analisadas pelo Software StepOne v2.3. do programa *StepOne Plus* (ThermoFisher[®]). As condições de ciclagem da reação encontram-se descritas na tabela 2.

Tabela 2. 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 MELTING	60°C à 95°C +0.3 a cada 0:15

Iniciou-se a ciclagem de PCR na amostra controle e nas 102 amostras clínicas. Primeiramente foi realizado o preparo do *Master Mix* conforme a tabela 3. Este que foi adicionado nas amostras, além da amostra positiva e dos dois controles negativos, utilizou-se H₂O ultrapura (nuclease free, da marca *Thermo Fisher*) em cada poço da microplaca de PCR (conforme a quantidade especificada na tabela 4).

Tabela 3. Padronização de quantidade para Master Mix de Reagentes (Protocolo URC)

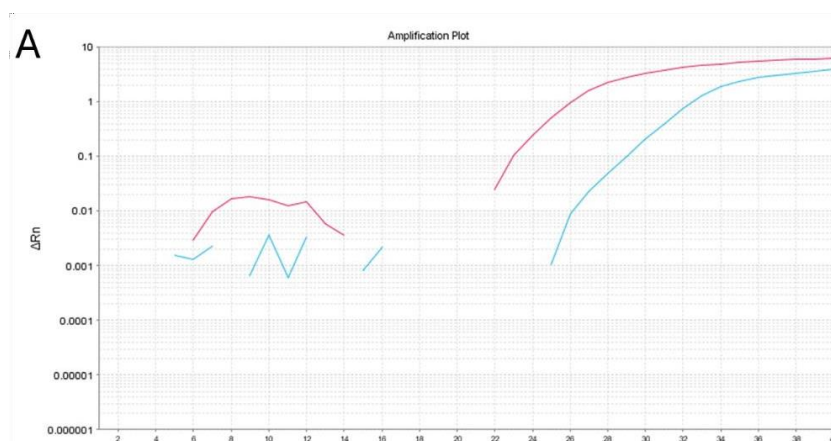
REAGENTES	VOLUME (ML)	CONCENTRAÇÃO
2X MASTER MIX (SYBR GREEN)	12,5 µl	1x
H₂O ULTRAPURA (RNASE E DNASE FREE)	7,5 µl	
PRIMER REVERSE	1,0 µl	3,2 pmol
PRIMER FOWARD	1,0 µl	3,2 pmol

Tabela 4. Padronização de quantidade de amostra em cada poço da microplaca de PCR (Protocolo UNISA RESEARCH- URC)

	Quantidade (μ l)
Amostra (cerca de 30-150ng de DNA)	3 μ l
Master Mix	22 μ l
Total	25 μ l

Após o término do procedimento obtém-se a curva de *melting* e a curva de amplificação. No software é possível observar a curva de amplificação de cada amostra, e assim comparar está com a curva de amplificação da amostra positiva para constatar a presença da bactéria na amostra clínica.

Para exemplificar, abaixo na figura 1A e B temos o resultado da amplificação e da curva de *melting*. As amostras foram consideradas positivas, apenas se amplificassem antes do ciclo 37 e a curva de *melting* deveria ser a mesma ou $\pm 0,3^{\circ}\text{C}$. O nosso ensaio amplifica um fragmento que apresenta como temperatura de *melting* $74,8^{\circ}\text{C}$.



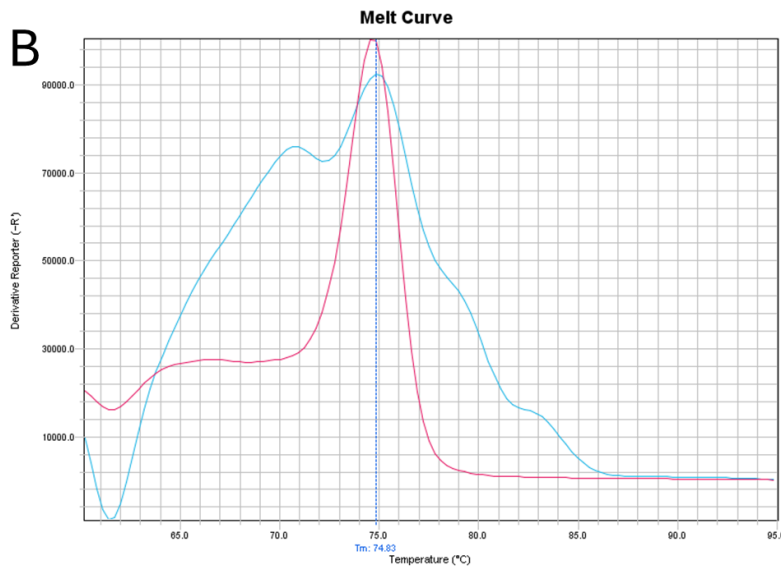


Figura 1. Resultado da amplificação de PCR em Tempo Real para *C. trachomatis*. **1A** Representação esquemática da curva de amplificação de uma das amostras do estudo, exemplificando a curva de amplificação desejável para uma amostra positiva. **1B** Curva de *melting* determinando o controle linha vermelha e uma amostra positiva linha azul.

Além disso, para essa dissertação também foram obtidos dados de infecções por HPV e gonorréia que foram previamente realizadas em dissertações anteriores nos quais analisavam prevalência e resistência genética de *Neisseria Gonorrhoeae* em mulheres da Zona Sul de São Paulo e também verificar a prevalência e genotipagem do papilomavirus humano (HPV) nestas mulheres participantes através de métodos de biologia molecular e citopatológicos (Gabriela Martinez e Hannar Alverga)^{15,16}. Isso se deu ao fato de que as IST geralmente podem estar associadas a co-infecções e sendo assim, analisar a frequência de infecção por *C.trachomatis* torna-se plausível de avaliar, também de forma associada as infecções por HPV e *Neisseria gonorrhoeae*.

4.8 Análise Estatística

Todos os dados estatísticos foram analisados com o *GraphPadPrism 8* utilizando o teste G de Cochran para verificar a significância de três ou mais variáveis, e o teste Qui-quadrado para comparar diferentes variáveis qualitativas entre os indivíduos. A significância para todos os valores de p foi estabelecida em 0,05.

5. RESULTADOS

Segundo dados expostos na tabela 5, foram coletadas 102 amostras e tivemos taxas superiores a 50% relacionadas às mulheres incluídas no estudo que exibem estado civil de casadas ou possuindo uma união estável. Ainda dados apresentados nesta mesma tabela 5, demonstrando a média de idade das pacientes que compõem o estudo, mostra que a maior parcela das mulheres tem entre 41 e 60 anos de idade, o que se corrobora com o percentual de mulheres casadas ou em união estável, grupo composto por mulheres que geralmente já apresentam estabilidade conjugal.

Tabela 5. Dados sociodemográficos das voluntárias do estudo.

VARIÁVEIS	N	%
ESTADO CIVIL		
CASADA/UNIÃO ESTÁVEL	52	50,98
SOLTEIRA	33	32,35
DIVORCIADA	11	10,78
VIÚVA	4	3,92
NÃO INFORMADO	2	1,96
IDADE		
15-20	4	3,92
21-30	17	16,67
31-40	20	19,61
41-50	24	23,53
51-60	25	24,51
61-70	10	9,80
71-80	2	1,96
TOTAL	102	100,00

Cerca de 80,39% das mulheres participantes do estudo iniciaram suas atividades sexuais entre 11 a 20 anos, 16,67% tiveram esse início dos 21 a 30 anos e 2,94% de 31 a 40 como mostra a tabela 6. Além de 3,92% destas mulheres darem início antes dos 10 anos de idade.

Tabela 6. Início da idade sexual das pacientes.

INÍCIO DA IDADE SEXUAL	N	%
11 - 20	82	80,39
21 - 30	17	16,67
31 - 40	3	2,94
TOTAL	102	100,00

Foi feito também uma associação entre a idade e as mulheres infectadas pela bactéria *Chlamydia trachomatis* descrito na tabela 7. Dentre as 102 mulheres participantes do estudo 17 estavam infectadas e 85 não apresentaram *C.trachomatis*. Em relação a idade, o maior grupo foi de 47,06% positivas com idade de 51 a 60 anos, 17,65% tinham de 21 a 30 anos e uma porcentagem de 11,76% se deu para grupos dos 31-40, 41- 50 e 61-70.

Tabela 7. Associação entre a idade a e infecção por *Chlamydia trachomatis*.

CHLAMYDIATRACHOMATIS			
IDADE	sim	não	% sim
15-20	0	3	0,00
21-30	3	15	17,65
31-40	2	18	11,76
41-50	2	22	11,76
51-60	8	17	47,06
61-70	2	8	11,76
71-80	0	2	0,00
TOTAL	17	85	100

Além do estudo pesquisar *C. trachomatis*, e uma possível co-infecção entre a HPV e *N.gonorrhoeae*, como mostra a tabela 8, de 102 amostras 16,67% foram positivas para *C. trachomatis*, tivemos 29,41% de co-infecção com *N.gonorrhoeae* e também mulheres HPV+ sendo de 11,76% (HPV16).

Tabela 8. Quadro geral dos achados infecciosos.

ACHADOS PCR	n (102)	%
<i>C. trachomatis</i>	17	16,67
<i>C. trachomatis</i> + <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	5	29,41
<i>C. trachomatis</i> + HPV 16	2	11,76

Conforme dados que elucidam os achados citopatológicos presentes na tabela 9, apresenta-se uma predominância de indícios de inflamação de modo geral expressa em 55,88% das amostras, além de 40,20% apresentarem uma citologia normal. Com relação as mulheres infectadas por Clamídia, 15 das 17 (93,75%) apresentam achados citopatológicos normais com exceção de uma paciente que apresentava ASCUS, essa mesma paciente é co-infectada por HPV do tipo 16. Além disso, não foi encontrada uma associação entre a frequência de infecção por Clamídia e histórico de abortos espontâneos nas pacientes estudadas ($p=0.07$)

Tabela 9. Achados histopatológicos das amostras. HSIL: Lesão Intraepitelial escamosa de alto grau; ASCUS: células escamosas atípicas de significado indeterminado; LSIL: Lesão Intraepitelial escamosa de baixo grau.

ACHADOS CITOPATOLÓGICOS	N	%
INFLAMATÓRIA	57	55,88
NORMAL	41	40,20
HSIL	2	1,96
ASCUS	1	0,98
LSIL	1	0,98
TOTAL	102	100,00

6. Discussão

O presente estudo foi realizado com o objetivo de avaliar a frequência de *Chlamydia trachomatis* em mulheres que residem em uma determinada região da Zona Sul na cidade de São Paulo. Tivemos 102 participantes, onde 16,67% estavam com a bactéria *C. trachomatis* e 83,34% não.

Um estudo feito nos Estados Unidos da América (EUA) com o intuito de gerar estimativas da prevalência e incidência globais de infecção urogenital por clamídia, gonorréia, tricomoníase e sífilis em mulheres e homens, com idades entre 15 e 49 anos, em 2016, avaliou estudos realizados entre 2009 e 2016 que tinham um número de amostra de pelo menos 100 indivíduos e utilização de um teste de diagnóstico, coletando amostras de urina, uretra, colo do útero ou vaginais da mesma forma que o presente estudo se tratando do sexo feminino participante e a região de coleta, foi possível analisar através da meta-análise que 21,0% das mulheres no mundo apresentaram Clamídia nos estudos¹⁷. A infecção genital por *Chlamydia trachomatis* corresponde à doença de transmissão sexual bacteriana mais frequente no mundo todo. No ano de 2012, a Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou uma incidência anual, em pessoas entre 14 e 49 anos, de cerca de 131 milhões de casos¹⁸. Em 2018, os Centros de Controle de Enfermidades e Prevenção, (CDC), dos EUA, relataram cerca de 1,8 milhões de casos, dos quais 44% corresponderam a mulheres, com maior prevalência em jovens entre 15 a 24 anos^{19, 20}. A OMS estima uma prevalência geral de 4,2% em mulheres e 2,7% em homens¹⁸.

No Chile esta IST é tratada como uma doença de notificação não obrigatória da mesma forma que o Brasil, e um estudo publicado em 2018 realizado com mulheres chilenas, 171 participantes mulheres menores de 24 anos, foi descrita uma prevalência de *C. trachomatis* de 8,8% nas voluntárias²¹.

Se tratando das taxas de frequência de Clamídia no Brasil, um estudo realizado com 454 estudantes universitárias com idade igual ou superior a 18 anos do estado do Pará, Região Amazônica, pôde-se notar que 11,9% apresentavam infecção por *C. trachomatis*²². Além de outros estudos feitos nas demais regiões do Brasil com taxas até 12,7%. A região que mais se destaca em uma frequência alta desta IST e com número menor de participantes é o Nordeste, com 31,0% na Bahia e 23,8% em Pernambuco, isto se dá, por questões socioeconômicas, além da falta de acesso aos serviços básicos de saúde e por ser uma região bem populosa e condições de vida distintas^{23,24}.

Desta forma, o nosso estudo se encaixa dentre as porcentagens já achadas no Brasil, trabalhamos com 102 amostras voluntárias e a maioria dos estudos obtiveram um número de participantes equivalente ou maior, neste estudo tivemos um impasse de conseguir um maior número de voluntárias devido a coleta ter sido feita em época de pandemia. Em São Paulo foi feita uma análise em 2022, que averiguou de 2005 a 2015 a prevalência da *C. trachomatis* nas mulheres da cidade que já realizaram alguma coleta do material cervico-vaginal, foram avaliados 103.576 exames em 85.292 pacientes durante um período de 11 anos. A prevalência de infecção por essa bactéria na população estudada foi de 2,2%. Maior prevalência de infecção foi encontrada nas faixas etárias ≤ 25 anos e ≤ 30 anos, com taxas de 6,0% e 4,4%²⁵.

O presente estudo apresentou uma faixa etária de mulheres com a bactéria um pouco acima deste estudo citado da cidade de São Paulo²⁵, 47,06% positivas com idade de 51 a 60 anos e 17,65% com 21 a 30 anos, também buscamos o início da idade sexual das participantes onde 80,39% deram início entre 11 e 20 anos. O início da atividade sexual antes de 15 anos de idade mostra-se como um fator predisponente de maior risco de infecções sexuais pelo fato de gerar uma credibilidade e confiança no ato e se sentir seguro a não usar preservativo²⁶.

As amostras também foram usadas para outras pesquisas sobre IST, avaliando a prevalência e frequência de HPV e *N. gonorrhoeae*^{15,16}, logo realizamos uma análise de possíveis co-infecções entre estas e obtivemos 29,42% com *C. trachomatis* + *N. gonorrhoeae* e 11,76% positivas para *C. trachomatis* + HPV 16.

Por meio de um estudo em modelo murino de infecção concomitante por *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae* foi evidenciado a ativação de vias inflamatórias parecidas entre estas bactérias, onde a produção de quimiocinas pelas células mucosas impulsionou o influxo de neutrófilos, porém os patógenos apresentaram mecanismos potentes para inibir a morte de neutrófilos. A bomba de efluxo de resistência transferível múltipla de *N. gonorrhoeae*, libera fatores que defendem contra peptídeos antimicrobianos, e os fagossomos de *N. gonorrhoeae* retardam a fusão com grânulos primários de neutrófilos, corroborando com o fato de que a co-infecção promove a persistência do patógeno e agrava a inflamação^{27,28}.

Zenilman e Silins evidenciaram que infecções por *C. trachomatis* podem aumentar a suscetibilidade à infecção por HPV ou exibir um mecanismo de diminuição da depuração eficiente de uma infecção existente por HPV, favorecendo a persistência

viral^{29,30}. Alguns estudos relataram um risco aumentado de infecção por HPV entre mulheres positivas para *C. trachomatis*, onde a infecção por Clamídia pode levar à ruptura epitelial e facilitar a entrada do HPV, ou pode prejudicar a resposta imune favorecendo a persistência do HPV³¹. Diante disso, em função das mulheres incluídas no estudo não apresentarem altos índices de co-infecção por ambos patógenos, justifica-se a baixa ocorrência de lesões nos exames citológicos nas amostras coletadas.

Analisando os dados que elucidam os achados citopatológicos na tabela 9, apresenta-se uma predominância de indícios de inflamação de modo geral expressa em 55,88% das amostras. Esse dado é comum de ser encontrado em mulheres³², e de maneira interessante, os achados citopatológicos inflamatórios podem indicar um disbiose da microbiota vaginal ou infecções por outros agentes não identificados, razão essa que acarreta resposta imune inflamatória. No entanto, o cenário inflamatório pode estar associado a uma maior predisposição para infecções endometriais por *C. trachomatis*³³. Porém, e de maneira interessante, todas as amostras que foram positivas para *C. trachomatis* apresentaram normalidade nos achados citopatológicos, esse dado torna-se interessante uma vez que de fato, a maioria das infecções são assintomáticas, porém apresentam perfil crônico^{7,8}, o que destaca uma possível preocupação a longo prazo. Além disso, destaca-se a importância do ensaio molecular, que é capaz de detectar a bactéria mesmo em condições de ausência de sintomatologia clínica, o que apresenta uma vantagem que merece ser destacada: O rastreio pelo ensaio molecular pode indicar a infecção de forma precoce o que auxiliaria no tratamento de forma mais rápida e precisa, reduzindo o número de casos, novos casos e principalmente na redução das impactantes manifestações clínicas da infecção.

Devido ao fato dessas mulheres, por muitas vezes, estarem em um ambiente de vulnerabilidade social, econômica, cultural assim como a coexistência de mais de um fator e sua influência mútua, oriundos da exposição às situações cotidianas, elevam o risco de infecção e complicações dessa infecção^{34,35}. A exposição aumentada às infecções por parte de mulheres em relações mais duradouras pode estar atrelada à ausência da importância dada à sua situação de suscetibilidade na convicção de que em seus relacionamentos as mesmas estarão preservadas, onde na maior parcela das vezes provém da confiança de que os respectivos parceiros

aplicam medidas preventivas em possíveis relacionamentos extraconjugais³⁶. Com isso, evidencia-se que a principal motivação que leva a não adoção do uso de preservativos se mostra atrelada à confiança no parceiro, com base no preceito de que o convívio e intimidade são uma construção diária que reduzem o risco de contágio para IST, não se estabelecendo como um fator protetor, mas sim como um fator de risco por confiarem no parceiro^{37,38}.

Conseguimos trazer dados para auxiliar a comunidade científica sobre a *C. trachomatis* nesta região, pois trabalhamos com o fato desta região escolhida para realizar o estudo não haver pesquisas feitas sobre este tipo de IST, e de não terem atenção devida nos serviços básicos, isto se torna um problema desde o início da idade sexual, passando pelo diagnóstico da doença, e o tratamento ou cura. Relatando estes pontos, poderiam implementar mais conhecimento sexual para a população da Zona Sul e também disponibilizar possibilidades de diagnósticos de doenças sexualmente transmissíveis sempre que a mulher fosse realizar um exame de rotina, a elevada frequência de IST em mulheres assintomáticas sugere a necessidade de rastreio de rotina destas infecções³⁹.

O estudo apresenta algumas limitações, a primeira foi o n reduzido, esperava-se que pudessemos coletar mais amostras. No entanto, vale destacar que a coleta desse estudo se deu durante o período de 2021, ano de pandemia, onde a adesão para o atendimento no ambulatório reduziu de maneira substancial. Porém, apesar do n reduzido pudemos ter uma ideia do panorama geral da infecção por *Chlamydia trachomatis*, nessa população, mas de fato comprometeu a força estatística para análise de variáveis importantes, principalmente a idade

Em resumo, a população estudada apresenta fatores sociais importantes e que merece maiores estudos bem como a disponibilização de serviços de rastreio para a infecção. Por se tratar de uma infecção crônica e muitas vezes subclínica, a necessidade do rastreio torna-se crucial, uma vez que as manifestações clínicas são consideráveis.

7. CONCLUSÃO

A taxa de infecção pelo *Chlamydia trachomatis* se manteve dentro dos padrões previamente observados na população brasileira. Com base nos dados coletados, foi possível constatar que a maioria das mulheres infectadas por *C. trachomatis* exibiu resultados citopatológicos normais, ressaltando assim a relevância do uso de ensaios moleculares para rastreamento dessa infecção.

8. REFERÊNCIAS

1. Van Gerwen OT, Muzny CA, Marrazzo JM. Sexually transmitted infections and female reproductive health. *Nat Microbiol*. 2022 Aug;7(8):1116-1126.
2. Ghasemian E, Harding-Esch E, Mabey D, Holland MJ. When Bacteria and Viruses Collide: A Tale of Chlamydia trachomatis and Sexually Transmitted Viruses. *Viruses*. 2023 Sep 19;15(9):1954.
3. Zamboni M, Ralph C, García P, Cuello M. La prevalencia actual de infección genital por Chlamydia trachomatis en adolescentes y mujeres jóvenes chilenas asintomáticas justifica la vigilancia periódica. *Rev Chil infectología*. 2016;
4. Passos LG, Terraciano P, Wolf N, Oliveira FDS, Almeida I, Passos EP. The Correlation between Chlamydia Trachomatis and Female Infertility: A Systematic Review. *Rev Bras Ginecol Obstet*. 2022 Jun;44(6):614-620. doi: 10.1055/s-0042-1748023. Epub 2022 May 16. PMID: 35576969; PMCID: PMC9948125.
5. Santos JMS, Gonzaga, NSS, Oliveira WNF. Associação entre infecção por Chlamydia trachomatis e nascimento prematuro: um artigo de revisão. *Research, Society and Development* 2020;
6. Fernandes LB, Arruda JT, Approbato MS, et al. Infecção por Chlamydia trachomatis e Neisseria gonorrhoeae: Fatores associados à infertilidade em mulheres atendidas em um serviço público de reprodução humana. *Rev Bras Ginecol e Obstet*. 2014;
7. Gravningen K, Furberg A, Simonsen GS, Wilsgaard T. Early sexual behaviour and Chlamydia trachomatis infection - a population based cross-sectional study on gender differences among adolescents in Norway. 2012;
8. Santos Leonardo Miranda dos, Ulian Wlyana Lopes, Trindade Josinaide Quaresma, Sousa Francisca Dayse Martins de, Oliveira Jessica Fernanda Galdino, Pereira Cássia Cristine Costa et al. Prevalência da infecção endocervical de Chlamydia trachomatis em universitárias do estado do Pará, Região Amazônica, Brasil. *Rev Pan-Amaz Saude [Internet]*. 2017;
9. Flores BTCP, de Oliveira AV, Pires MM, et al. Chlamydia trachomatis e infecções genitais femininas. *Science in Health* 2011;
10. Seadi CF, Oravec R, Poser B von, Cantarelli VV, Rossetti ML. Diagnóstico laboratorial da infecção pela Chlamydia trachomatis: vantagens e desvantagens das técnicas. *J Bras Patol Med Lab [Internet]*. 2002;38(2):125-33;
11. IBGE, Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, População no último censo: Atualizado em 27/10/2023. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/sp/sao-paulo/panorama>;

12. Prefeitura da Cidade de São Paulo, Coordenação: Secretaria Municipal de Desenvolvimento Urbano - SMDU, Caderno de Propostas dos Planos Regionais das Subprefeituras Quadro Analítico Capela do Socorro, Dezembro de 2016, Disponível em: <https://gestaourbana.prefeitura.sp.gov.br/marco-regulatorio/planos-regionais/arquivos/>
13. Nomenclatura brasileira para laudos cervicais e condutas preconizadas: recomendações para profissionais de saúde. - Rio de Janeiro: INCA, 2006;
14. Chen, C. Y., Chi, K. H., Alexander, S., Ison, C. A. & Ballard, R. C. (2008). A real-time quadriplex PCR assay for the diagnosis of rectal lymphogranulomavenerum and non-lymphogranulomavenerum Chlamydia trachomatis infections. Sex Transm Infect 84, 273-276;
15. Gabriela Martinez Moura Tavares, PREVALÊNCIA E RESISTÊNCIA GENÉTICA DE NEISSERIA GONORRHOEAE EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO PAULO, 2022, [Dissertação] Universidade Santo Amaro;
16. Hannar Angélica De Melo Alverga, PREVALÊNCIA E GENOTIPAGEM DO PAPILOMAVÍRUS HUMANO (HPV) EM MULHERES DA ZONA SUL DE SÃO PAULO, 2021, [Dissertação] Universidade Santo Amaro;
17. Rowley J, VanderHoorn S, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, Chico RM, Smolak A, Newman L, Gottlieb S, Thwin SS, Broutet N, Taylor MM. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. Bull World Health Organ. 2019 Aug 1;97(8):548-562P.
18. Organização Mundial da Saúde. Diretrizes para o tratamento da Chlamydia trachomatis. [Internet] Suíça: Organização Mundial da Saúde; 2016. Disponível em: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/246165/9789241549714-eng.pdf;jsessionid=BD28F9646988F52482A01238079554F7?sequence=1>
19. Centros de Controle e Prevenção de Doenças. DSTs relatadas nos Estados Unidos, 2018 [Internet] Centros de Controle e Prevenção de Doenças; 2019. Disponível em: <https://www.cdc.gov/nchhstp/newsroom/docs/factsheets/SID-facts-508.pdf>
20. Margaret R Hammerschlag, MD. Infecções por Chlamydia trachomatis no recém-nascido. [Internet] UpToDate. Disponível em: <https://www.uptodate.com/contents/chlamydia-trachomatis-infections-in-the-newborn>
21. Huneus A, Schilling A, Fernandez MI. Prevalence of Chlamydia Trachomatis, Neisseria Gonorrhoeae, and Trichomonas Vaginalis Infection in Chilean Adolescents and Young Adults. J Pediatr Adolesc Gynecol. 2018 Aug;31(4):411-415.
22. Santos Leonardo Miranda dos, Ulian Wlyana Lopes, Trindade Josinaide Quaresma,

Sousa Francisca Dayse Martins de, Oliveira Jessica Fernanda Galdino, Pereira Cássia Cristine Costa et al. Prevalência da infecção endocervical de *Chlamydia trachomatis* em universitárias do estado do Pará, Região Amazônica, Brasil. *RevPan-Amaz Saude* [Internet]. 2017 Set.

23. Machado MSC, Costa e Silva BFB, Gomes ILC, Santana IU, Grassi MFR. Prevalence of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in sexually active adolescents from Salvador, Brazil. *Braz J Infect Dis*. 2012 May-Apr;16(2):188-91.

24. Tavares MCM, Macêdo JL, Lima Júnior SF, Heráclio SA, Amorim MMR, Maia MMD, et al. *Chlamydia trachomatis* infection and human papillomavirus in women with cervical neoplasia in Pernambuco-Brazil. *Mol Biol Rep*. 2014 Feb;41(2):865-74.

25. Campaner AB, de Castro MA, Lucarelli AP. *Chlamydia trachomatis* prevalence in females in São Paulo, Brazil: 11 years' surveillance of the infection. *Braz J Microbiol*. 2023 Mar;54(1):151-158.

26. Garcia S, Souza FM de. Vulnerabilidades ao HIV/aids no Contexto Brasileiro: iniquidades de gênero, raça e geração. *Saudesoc* [Internet]. 2010; Dec.

27. Purton JF, Tan JT, Rubinstein MP, Kim DM, Sprent J, Surh CD. Células T de memória CD4 + antivirais são dependentes de IL-15. *J Exp Med* 2007; 204 :951-61.

28. Handing JW, Ragland SA, Bharathan UV, Criss AK. A bomba de efluxo MtrCDE contribui para a sobrevivência de *Neisseria gonorrhoeae* de neutrófilos humanos e seus componentes antimicrobianos. *Frente Microbiol* 2018; 9 :2688;

29. Zenilman J.M. (2001). *Chlamydia* and cervical cancer: a real association? *JAMA*. 285, 81-83;

30. Silins I., Ryd W., Stre A., Wadell G., Tornberg S., et al. (2005). *Chlamydia trachomatis* infection and persistence of human papillomavirus. *Int. J. Cancer*. 116, 110-115;

31. Silva J., Cerqueira F., Medeiros R. (2014). *Chlamydia trachomatis* infection: implications for HPV status and cervical cancer. *Arch. Gynecol. Obstet*. 289, 715- 723;

32. Bhutia K, Puri M, Gami N, Aggarwal K, Trivedi SS Persistent inflammation on Pap smear: Does it warrant evaluation? *Indian Journal of Cancer*, 2011 48(2):220- 222;

33. Darville T. Pelvic Inflammatory Disease Due to *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis*: Immune Evasion Mechanisms and Pathogenic Disease Pathways. *J Infect Dis*. 2021 Aug 16;224(12 Suppl 2):S39-S46. doi: 10.1093/infdis/jiab031. PMID: 34396413; PMCID: PMC8365118;

34. Garcia S, Berquó E, Lopes F, Lima LP, Souza FM. Práticas sexuais e vulnerabilidades ao HIV/AIDS no contexto brasileiro: considerações sobre as

- desigualdades de gênero, raça e geração no enfrentamento da epidemia. *Demografia em Debate* [Internet]. 2015; [citado 2019 set 15];2:417-48;
35. Ayres JRCM. Vulnerabilidade, direitos humanos e cuidado: aportes conceituais. In: Barros S, Campos PFS, Fernandes JJS, organizadores. *Atenção à saúde de populações vulneráveis*. Barueri: Manole; 2014;
36. 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* [Internet]. 2021;25(1):e20190325;
37. Garcia S, Berquó E, Lopes F, Lima LP, Souza FM. Práticas sexuais e vulnerabilidades ao HIV/AIDS no contexto brasileiro: considerações sobre as desigualdades de gênero, raça e geração no enfrentamento;
38. Francisco MTR, Fonte VRF, Pinheiro CDP, Silva MES, Spindola T, Lima DVM. O uso do preservativo entre os participantes do Carnaval-perspectiva de gênero. *Esc Anna Nery*. 2016;20(1):106-13;
39. Lima LM, Hoelzle CR, Simões RT, Lima MIM, Fradico JRB, Mateo ECC, Zauli DAG, Melo VH. Sexually Transmitted Infections Detected by Multiplex Real Time PCR in Asymptomatic Women and Association with Cervical Intraepithelial Neoplasia. *RevBrasGinecolObstet*. 2018 Sep;40(9):540-546.

ANEXOS

Anexo 1 – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

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 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.)

Nome do participante:

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 2 – Parecer do CEP

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 Prof Enéas de Siqueira Neto, 340

Bairro: Jardim das Imbuías

CEP: 02.450-000

UF: SP

Município: SÃO PAULO

Telefone: (11)2141-8637

E-mail: pesquisaunisa@unisa.br

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 Profº 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