UNIVERSIDADE SANTO AMARO

Curso de Mestrado em Ciência da Saúde

Kelly Cristina Batista de Souto Queiroz

Rastreio dos patógenos causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis nas mulheres ribeirinhas do rio Amazonas

São Paulo

2021

Rastreio dos patógenos causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis nas mulheres ribeirinhas do rio Amazonas

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde Stricto-Sensu da Universidade Santo Amaro, como requisito parcial para o título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadores

Profª Drª Patrícia Colombo de Souza
Profª Drª Marina Tiemi Shio
Prof. Dr. Marco Antônio Zonta

São Paulo

2021

Q44r Queiroz, Kelly Cristina Batista de Souto

Rastreio dos patógenos causadores de infecções sexualmente transmissíveis nas mulheres ribeirinhas do rio Amazonas / Kelly Cristina Batista de Souto Queiroz. – São Paulo, 2021.

63f.

Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Universidade Santo Amaro, 2021.

Orientador(a): Profª. Dra. Patrícia Colombo de Souza
Coorientador(a): Profª. Dra. Marina Tiemi Shio.

1. Infeções sexualmente transmissíveis. 2. População ribeirinha. 3. Microrray. 4. Microarranjo. 5. Micoplasma. I. Souza, Patrícia Colombo de, orient. II. Shio, Marina Tiemi, co-orient. III. Universidade Santo Amaro. IV. Título.

Elaborada por Janice Toledo dos Santos – CRB 8 / 8391

Kelly Cristina Batista de Souto Queiroz

Rastreio dos patógenos causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis nas mulheres ribeirinhas do rio Amazonas

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

Orientador: Profa Dra Patrícia Colombo.

Co-Orientadores: Profa Dra Marina Tiemi Shio e Marco Antônio Zonta

São Paulo,_____de_____de 2021.

Banca Examinadora

_____

Profa. Dra. Patrícia Colombo de Souza

Titulação: Doutor

_____

Prof. Dr. André Luis Lacerda Bachi

Titulação: PhD

_____

Profa. Dra. Adriana Aparecida Ferraz Carbonel

Titulação: PhD

Conceito final

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus filhos Davi (*in memorian*), Ana e Henrique por me darem forças e determinação para alcançar meus objetivos. E aos meus pais Janean e Júlio por todo amor, incentivo e dedicação que sempre tiveram comigo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos professores Profª Drª Marina Tiemi Shio e Prof. Dr. Marco Antônio Zonta, pela oportunidade, pela dedicação e parceria desses 2 anos. E a minha amiga Thais Cavichio pelo companheirismo, com certeza tudo ficou mais fácil com a sua companhia.

Minha gratidão à todos os docentes que fizeram parte da nossa jornada na pós graduação, que com leveza e dedicação nos ensinaram.

RESUMO

Rastreio dos patógenos causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis nas mulheres ribeirinhas do rio Amazonas

Até 2019 a Organização Mundial de Saúde estimava mais de um milhão de casos de infecção sexualmente transmissível (IST) por dia em todo o mundo. Estimava se a ocorrência de aproximadamente 357 milhões de novas infecções em 2019, sendo as infecções por HPV, clamídia, gonorreia, sífilis e tricomonas as mais prevalentes. No Brasil, o Ministério da Saúde salienta que a população feminina entre 25 e 39 anos é a mais suscetível a sofrer IST. Outros fatores de risco são: ser solteiro, ter tido mais de um parceiro sexual ou um novo parceiro sexual nos três meses anteriores, ter parceiro com alguma IST e prática de relação sexual sem o uso de preservativo. Assim, o presente projeto teve como objetivo utilizar a metodologia de *microarray* para verificar a ocorrência de IST nas amostras cervico vaginais e a associação com os fatores de riscos e comportamentais das mulheres nativas da região amazônica. Foram avaliadas 117 amostras de mulheres com idade mediana de 31 anos (mín: 14 e máx: 78), com baixa escolaridade, a maioria casadas, com renda familiar de até um salário mínimo e a maioria agricultoras ou do lar. Foi observado uma alta incidência de microbioma vaginal misto, com um (41,88%), dois (22,22%) ou mais que três patógenos por paciente. Com predomínio dos agentes *Ureaplasma parvum* (45,45%) e *Mycoplasma hominis* (26,57%) foram estatisticamente mais frequentes ($p<0.0001$) do que com *Ureaplasma urealyticum* (9,09%), *Trichomonas vaginalis* (7,69%) e outros patógenos, como: *Mycoplasma genitalium*, *Haemophilus ducrey*, *Chlamydia trachomatis*, Hespes simplex vírus 2 e *Treponema pallidum*. A frequência de IST não tem correlação com os fatores de riscos e comportamentais, exemplo o uso de preservativo, microbioma vaginal, exame preventivo ou escolaridade. No presente trabalho foi verificado a presença de vários agentes causadores de IST nas amostras coletadas de mulheres ribeirinhas, os mais frequentemente encontrados foram *Ureaplasma parvum* e *Mycoplasma hominis* isoladamente ou em associação com outras infecções. O estudo epidemiológico dessa população evidencia a necessidade de rastreamento das ISTs, devido à alta incidência de agentes patogênicos.

ABSTRACT

Screening for pathogens that cause Sexually Transmitted Infections in women bordering the Amazon River

The World Health Organization estimated more than one million cases of sexually transmitted infections (STIs) per day worldwide until 2019. Approximately 357 million new infections were estimated to occur in 2019. The most prevalent are Papilomavirus, chlamydia, gonorrhea, syphilis and trichomonas infections. In Brazil, Healthy Ministery points out that the female population between 25 and 39 years old is the most susceptible to suffer from STIs. Other risk factors are: being single, having had more than one sexual partner or a new sexual partner in the previous three months, having a partner with an STI and engaging in sexual intercourse without using a condom. Thus, this project aimed to use the microarray methodology to verify the occurrence of STIs in cervical vaginal samples and the association with risk and behavioral factors of women native to the Amazon region. The study evaluated 117 samples of women with a median age of 31 years (min: 14 and max: 78), low education, a family income of less than one minimum salary and most of them were farmers or housewives. A high incidence of mixed vaginal microbiome was observed, with one (41.88%), two (22.22%) or more than three pathogens per patient. Predominantly the agents *Ureaplasma parvum* (45.45%) and *Mycoplasma hominis* (26.57%) were statistically more frequent ($p < 0.0001$) than with *Ureaplasma urealyticum* (9.09%), Trichomonas vaginalis (7.69%) and other pathogens, such as *Mycoplasma genitalium, Haemophilus ducrey, Chlamydia trachomatis, Hespes simplex virus* 2 and *Treponema pallidum*. The frequency of STIs has no correlation with risk and behavioral factors, such as condom use, vaginal microbiome, preventive exam or education. In the present work it was verified the presence of several agents that cause STIs in the samples collected from riverside women, the most frequently found were *Ureaplasma parvum* and *Mycoplasma hominis* alone or in association with other infections. The epidemiological study of this population shows the need for screening for STIs, due to the high incidence of pathogens.

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Características socioeconômicas da população estudada	24
Tabela 02	Idade das mulheres avaliadas segundo presença ou não de infecção	24
Tabela 03	Faixa etária avaliada segundo presença ou não de infecção	25
Tabela 04	Fatores de risco e comportamentais	26
Tabela 05	Idade da primeira relação sexual avaliada segundo presença ou não de infecção	26
Tabela 06	Fatores socioeconômicos e comportamentais avaliados segundo presença ou não de infecção	26
Tabela 07	Quantidade de parceiros avaliada segundo presença ou não de infecção	27
Tabela 08	Análise citológica: microbioma e agente infeccioso	27
Tabela 09	Tipagem da infecção	28
Tabela 10	Quantidade de infecção por voluntária	28
Tabela 11	Número de infecções únicas ou associações	28

LISTA DE ABREVIAÇÕES E/OU SIGLAS

Aids - *acquired immunodeficiency syndrome*

BV - vaginose bacteriana

C. trachomatis - *Chlamydia trachomatis*

CSTs - *community state type*

EROs - espécies reativas de oxigênio

H. ducreyi - *Haemophilus ducreyi*

HIV - *human immunodeficiency virus*

HSH - homens que fazem sexo com homens

HSV- Herpes vírus humanos

IST infecção sexualmente transmissível

M. genitalium - *Mycoplasma genitalium*

M. hominis - *Mycoplasma hominis*

N. gonorrhoeae - *Neisseria gonorrhoeae*

PCR - Reação em cadeia da polimerase

rRNA - ácido ribonucleico ribossômico

T. Pallidum - *Treponema pallidum*

T. vaginalis - *Trichomonas vaginalis*

U. parvum - *Ureaplasma parvum*

U. urealyticum - Ureaplasma urealyticum

VDRL - *Venereal Laboratório de Pesquisa de Doenças*

ÍNDICE

1 INTRODUÇÃO 9
1.1 Microbioma vaginal normal 10
1.2 Patógenos causadores de ISTs 12
1.2.1 *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*) 12
1.2.2 *Neisseria gonorrhoeae (N. gonorrhoeae*) 13
1.2.3 *Haemophilus ducreyi (H. ducreyi)* 14
1.2.4 *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*) 15
1.2.5 *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*) 15
1.2.6 *Treponema pallidum (T. Pallidum*) 15
1.2.7 *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) e *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*) 16
1.2.8 Herpes vírus humanos tipos 1 e 2 - (HSV-1 e HSV-2) 17
1.2.9 *Trichomonas vaginalis* (*T. vaginalis)* 18
2 JUSTIFICATIVA 20
3 OBJETIVOS 21
3.1 Geral 21
3.2 Específicos 21
4 METODOLOGIA 22
4.1 População de estudo e aprovação pelo CEP 22
4.2 Procedimento de coleta 22
4.3 Extração do DNA Genômico 23
4.4 Amplificação do DNA Genômico 23
4.5 Microrray 23
4.6 Análise Estatística 24
5 RESULTADOS 25
6 DISCUSSÃO 30
7 CONCLUSÃO 36
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 37
ANEXO A – Aprovação da comissão de ética em pesquisa da UNISA 49
ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido 50
ANEXO C – Questionário Sócio demográfico 51

1 INTRODUÇÃO

As Infecções sexualmente transmissíveis pertencem a um grupo de doenças que acomete quase um milhão de pessoas diariamente, sendo o Papiloma vírus humano e o vírus da imunodeficiência humana (HIV) os mais frequentes em todo o mundo[1]. O resultado dessa situação é o aparecimento de sintomas agudos, infecções crônicas com consequências severas, como infertilidade, gravidez ectópica, câncer do colo do útero e mortes prematuras de bebês e adultos[2].

Vários patógenos bacterianos, virais e parasitários são transmissíveis sexualmente. Segundo boletim da Organização Mundial da Saúde, em homens e mulheres de 15 a 49 anos de idade houve 127 milhões de novos casos de Clamídia em 2016; no mesmo ano, foram 87 milhões de casos de Gonorreia, 156 milhões de Tricomoníase e 6,3 milhões de Sífilis[1].

Em relação as ISTs virais a OMS estima que o herpes genital causado pelo HSV-2 é um problema global e cerca de 491 milhões (13%) de pessoas com idades entre 15 e 49 anos em todo o mundo viviam com a infecção em 2016. A prevalência da infecção por HSV-2 foi estimada como sendo mais alta na África (44% nas mulheres e 25% nos homens), seguida pelas Américas (24% nas mulheres e 12% nos homens). A prevalência também aumentou com a idade, embora o maior número de pessoas recém infectadas são adolescentes[3].

Um estudo epidemiológico sobre a infecção pelo Papilomavírus (HPV) denominado *POP-Brasil* foi apresentado em 2018 pelo Ministério da Saúde, demonstrou que a prevalência de HPV geral na população feminina pesquisada foi de 54,6% e na masculina, de 51,8%[4].

As ISTs são reconhecidas como um importante problema de saúde pública há muitos anos, e por isso a importância da prevenção e sucesso terapêutico[5]. A via principal de transmissão das infecções sexualmente transmissíveis é por meio de relações sexuais, porém essa não é a única forma, pois essas infecções podem se dar por via placentária, infecção vertical (durante o parto normal), por meio de transfusão sanguínea ou transferências de tecidos, bem como ocasionalmente por outros meios não sexuais[2].

Além dos problemas de saúde pública, o aumento dessas infecções causa também danos econômicos, principalmente para os países em desenvolvimento[6]. O maior número de casos ocorre nos países em desenvolvimento, em virtude do nível socioeconômico da população, educação básica deficitária e difícil acesso aos serviços de saúde, mas também é bem preocupante nos países desenvolvidos relacionadas a prevalência de infecções virais não curáveis, associadas ao comportamento sexual e aumento do número de pessoas em transito pelo país[2].

No Brasil, os dados epidemiológicos sobre IST são escassos e os únicos cuja notificação é obrigatória são a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (Aids – do inglês *acquired immunodeficiency syndrome*), HIV em gestantes e crianças expostas, todos os tipos de sífilis – adulto, em gestantes e congênita – e síndrome da secreção uretral em homens[7]. Embora a notificação dessas infecções seja obrigatória, os serviços de saúde brasileiros não a realizam sistematicamente, o que causa desconhecimento da real magnitude do problema e dificulta o desenvolvimento de estratégias de prevenção e controle[8].

1.1 Microbioma vaginal normal

O microbioma vaginal é formado por bactérias aeróbias e anaeróbias, fungos e parasitas, que vivem em equilíbrio dinâmico com a vagina, contribuindo com a fisiologia local e servindo de fato protetor da mucosa. Muito tem se observado nos últimos anos a relação do microbioma vaginal e as ISTs. Os primeiros estudos realizados sobre o microbioma vaginal realizados por Döederlein (1892), que identificou *Lactobacillus* como constituintes da microbioma saudável[10]. Anos de pesquisa demonstraram claramente que o microbioma vaginal representa a primeira barreira contra patógenos obrigatórios ou facultativos[11].

O microambiente vaginal é comumente considerado saudável quando há uma baixa diversidade microbiana e prevalência de apenas algumas espécies de *Lactobacillus*[12]. Estudos utilizando técnicas de biologia molecular, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), e analisando a sequência dos genes bacterianos (genes

que codificam para o RNA ribossômico 16 S bacteriano) em amostras de fluídos vaginais têm evidenciado que o ambiente microbiano vaginal é geralmente dominado por uma ou duas espécies de lactobacilos, mais frequentemente *Lactobacillus (L.) iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri* ou *L. jensenii*[11;74]. Os lactobacilos processam glicogênio e decompõem produtos que produzem ácido láctico (anaerobioser), proporcionando um pH vaginal ácido (<4,5)[12]. Eles produzem também espécies reativas de oxigênio (EROs), com propriedades bactericidas ou atuam excluindo bactérias por competição[11]. Portanto, é sabido que mulheres com baixo nível de lactobacilos no microbioma vaginal apresentam alto risco de adquirir doenças infecciosas urogenitais e maiores chances de infertilidade[12].

O perfil microbiano de mulheres saudáveis pode ser classificado em um total de cinco comunidades microbianas vaginais humanas (do inglês *community state type* - CSTs). Os CSTs I, II, III e V são caracterizados pela dominância de *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* e *L. jensenii*, respectivamente, e tendem a apresentar baixa diversidade e uniformidade de espécies[14]. Em contraste, a CST IV é tipicamente desprovida de *Lactobacillus* spp. e, em vez disso, enriquecido com espécies anaeróbicas estritas frequentemente associadas à vaginose bacteriana (VB), incluindo *Gardnerella*, *Megasphera*, *Sneathia* e *Prevotella*[15] e/ou bactérias da família *Enterobacteriacee* geralmente povoam o ambiente vaginal empobrecido das espécies de *Lactobacillus*[16].

A VB surgiu como um problema de saúde pública devido à sua associação com infecções sexuais transmitidas, incluindo vírus da imunodeficiência humana (HIV) e HPV[17].

1.1 Patógenos causadores de ISTs

As ISTs são causadas pelas espécies de bactérias como: *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus ducreyi, Mycoplasma genitalium, Mycoplasma hominis, Treponema pallidum*), vírus como Herpes vírus humanos tipos 1 e 2, Papiloma vírus humano e o Citomegalovírus e parasitos como a *Trichomonas*

vaginalis e outras amebas. A via de transmissão principal se dá por meio do contato sexual sem o uso de preservativos masculino ou feminino com parceiros infectados[16]. O mecanismo pode ocorrer ainda, de mãe para filho durante a gestação, parto ou pela amamentação. De maneira menos comum, as ISTs também podem ser transmitidas por meio não sexual, pelo contato de mucosas ou pele não íntegra com secreções biológicas contaminadas e fômites[17].

1.2.1 *Chlamydia trachomatis* (*C. trachomatis*)

É a bactéria sexualmente transmissível mais prevalente no mundo. Suas cepas são classificadas de acordo com os genótipos *ompA*, que estão fortemente ligados ao tropismo tecidual diferencial e consequentemente causando diferentes manifestações clínicas de acordo com o sorotipo, sendo os sorotipos A-C responsáveis pela doença ocular; D-K, pela doença urogenital e neonatal; por fim, os sorotipos L1 – L3, responsáveis pelo linfo granuloma venéreo[18; 21].

A doença ocular, conhecida como tracoma ou conjuntivite granulomatosa é uma doença inflamatória ocular crônica e recidivante, que afeta a córnea e a conjuntiva. Nas mulheres, as infecções por *C. trachomatis* podem ascender ao trato genital superior e causar doença inflamatória pélvica, dor pélvica crônica, infertilidade e gravidez ectópica[23]. As mulheres são as mais afetadas, pelo *C. trachomatis* com uma prevalência mundial estimada de 4% entre 15 e 49 anos de idade[19].

As gestantes são as mais propensas a adquirir esta IST, estudos epidemiológicos brasileiros mostram que as taxas de infecção por *C. trachomatis* em mulheres grávidas variam de 6,9% a 18%[20; 21], e estudos especificamente realizados na Amazônia mostram uma prevalência de infecção por CT em mulheres grávidas em cerca de 11%[20; 22].

Das doenças associadas a *C. trachomatis* a que causa maior preocupação é o linfogranuloma venéreo, essa doença surgiu nos países europeus desde 2003[24]. Em contraste com a apresentação clássica de linfogranuloma venéreo (ou seja, síndrome inguinal com linfadenopatia dolorosa), os casos atuais são essencialmente manifestados por proctite caracterizada por sintomas graves, como dor anorretal,

tenesmo retal, secreção hemopurulenta e sangramento. Essa 'síndrome anorretal' afeta principalmente homens que fazem sexo com homens (HSH), normalmente co-infectados pelo HIV e outras ISTs[25; 26].

As infecções por *C. trachomatis* podem ser detectadas identificando o patógeno diretamente em amostras clínicas ou dosando anticorpos contra a *C. trachomatis* no soro do paciente[27]. Os testes de amplificação de ácido nucléico (NAAT) substituíram os métodos baseados em cultura de células, sendo considerado o padrão-ouro nos diagnósticos clínicos para *C. trachomatis*. Embora os NAATs sejam altamente adequados para detectar infecções agudas por *C. trachomatis*, eles não são capazes de detectar infecções passadas e podem perder infecções persistentes, de baixa carga ou do trato genital superior, sendo nestes casos, utilizado a sorologia para a detecção do patógeno[28].

1.2.2 *Neisseria gonorrhoeae (N. gonorrhoeae)*

A gonorreia é uma IST causada pelo diplococo Gram-negativo *Neisseria gonorrhoeae (N. gonorrhoeae)* e representa um grande problema de saúde em todo o mundo[29]. Quando não tratada, a doença pode levar a sequelas graves, como doença inflamatória pélvica, gravidez ectópica e infertilidade em mulheres, e pode promover a transmissão do HIV[30].

Homens com gonorreia frequentemente apresentam uretrite aguda, uma resposta inflamatória mediada pela infecção, e apenas uma pequena porcentagem permanecem assintomáticos[31]. A gonorreia é a causa de proctite mais frequentemente identificada em HSH. Por outro lado, nas mulheres com infecção por *N. gonorrhoeae* do trato genital inferior a maioria são assintomáticas, e o restante apresentam cervicite podendo desenvolver uma infecção crescente, um pré-requisito para a doença inflamatória pélvica[35].

Os testes laboratoriais diretos para detecção do patógeno gonocócico vem sendo substituído por testes de amplificação de ácido nucléico que são altamente sensíveis e os preferidos para rastreamento e diagnóstico das ISTs[36].

1.2.3 Haemophilus ducreyi (H. ducreyi)

O cancroide ou cancro mole é causada por uma bactéria Gram negativa chamada *Haemophilus ducreyi*. A doença geralmente se manifesta com múltiplas úlceras superficiais dolorosas na área genital e associada à linfadenite inguinal, e é endêmica em alguns países em desenvolvimento[34; 35]. Também pode se espalhar para outros locais anatômicos por auto inoculação, uma característica clínica demonstrada experimentalmente por Ducrey em 1889[35].

A doença se manifesta, após um período de incubação que varia de 24 horas a 15 dias (em média 5 dias), por uma pequena pápula rosa no local da penetração da bactéria. A lesão progride rapidamente para uma ulceração mais ou menos extensa, rosada, dolorosa e profunda, com bordas inflamadas e claras, de aparência irregular. Surgindo linfadenopatias de 2 a 3 semanas após o contágio[36].

A ulceração genital demonstrou ser um cofator importante na transmissão da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana tipo 1 (HIV-1), tanto em estudos de coorte transversal como em estudos longitudinais prospectivos[37].

1.2.4 *Mycoplasma genitalium* (*M. genitalium*)

Desde que o *Mycoplasma genitalium* foi isolado pela primeira vez em homens com uretrite não gonocócica em 1981, essa bactéria foi reconhecida como um possível patógeno do trato geniturinário[38]. Atualmente, o *M. genitalium* é amplamente reconhecido como uma causa frequente de uretrite masculina[39], uma causa provável de cervicite e doença inflamatória pélvica em mulheres[40] e uma possível causa de várias outras síndromes geniturinárias[41; 42].

A infecção por *M. genitalium* é a mais difícil de gerenciar clinicamente devido à plasticidade de seu genoma, o que facilita o desenvolvimento de resistência a antibióticos[39].

1.2.5 *Mycoplasma hominis* (*M. hominis*)

Mycoplasma hominis (*M. hominis*) faz parte do microbioma geniturinário em pessoas sexualmente ativas e pode causar infecção disseminada em pacientes imunodeprimidos[43].

A infecção pelos *Mycoplasma* também leva a sequelas no sistema reprodutivo, principalmente na tuba uterina e na capacidade de migração dos espermatozoides. A sua frequência na população de pacientes inférteis não é homogênea na literatura[44]. Em alguns estudos, a detecção do *M. hominis*, *Ureaplasma parvum* e *U. urealyticum* tem sido relatada como associada a aborto espontâneo, natimorto, nascimento prematuro, baixo peso ao nascimento e morbimortalidade perinatal[45].

1.2.6 *Treponema pallidum (T. Pallidum*)

A sífilis é uma infecção sexualmente transmissível causada pela subespécie de *Treponema pallidum* e pode levar a complicações graves. Se não tratada, a sífilis causa uma doença multissistêmica que pode progredir para um envolvimento cardiovascular e neurológico grave, que pode ser potencialmente fatal[46].

A sífilis causou uma onda de pandemia que varreu a Europa renascentista há mais de 500 anos e permaneceu um problema até a introdução de antibióticos na era pós-Segunda Guerra Mundial[47]. Desde 2000, foram relatados aumentos substanciais nos casos de sífilis precoce em áreas metropolitanas dos países ocidentais. Esses aumentos foram descritos principalmente entre HSH[48].

No Brasil, a Sífilis é uma doença reemergente e atualmente reapareceu como um problema de saúde nacional após um período de aparente controle e declínio em sua incidência[49]. O número de casos aumentou 32,7% para sífilis adquirida (transmissão sexual), 20,9% para sífilis gestacional e 1,9% para sífilis congênita entre 2014 e 2015[50].

O diagnóstico deve ser feito em qualquer manifestação clínica da Sífilis, através da identificação de treponemas usando microscopia de campo escuro ou mancha direta de anticorpos fluorescentes, coloração de treponemas em amostras histológicas e por testes sorológicos[51].

Na microscopia de campo escuro, os treponemas são identificados pela morfologia e movimentos característicos. A PCR isolada ou como parte do teste multiplex para *T. pallidum* na úlcera genital está disponível principalmente como ferramenta de pesquisa[51].

Os testes sorológicos são baseados em antígeno treponêmico, como imunoensaio enzimático treponêmico, aglutinação de partículas *T. pallidum* ou hemaglutinação e testes de absorção de anticorpos fluorescentes ou testes baseados em cardiolipina "não-treponêmica", como o Laboratório de Pesquisa de Doenças venéreas (do inglês *Venereal Disease Research Laboratory* - VDRL) ou testes rápidos de reagina plasmática[52].

1.2.7 *Ureaplasma parvum* (*U. parvum*) e *Ureaplasma urealyticum* (*U. urealyticum*)

As espécies de *Ureaplasma spp.* são comumente consideradas parte do microbioma normal, mas também são capazes de causar doenças clínicas. Entre as mulheres, estas bactérias são responsáveis principalmente por uretrite não gonocócica e vaginose bacteriana. Complicações graves podem ocorrer durante a gravidez e após o parto com manifestações como corioamnionite, febre pós-parto e pós-aborto, pneumonia congênita, bacteremia neonatal e abscessos neonatais[53]. Entre os homens, *Ureaplasma spp.* foi significativamente associado à uretrite não gonocócica e à prostatite crônica, provando que é mais do que apenas um comensal inofensivo[54].

Além de facilitar a transmissão do HIV, as ISTs, incluindo *Ureaplasma spp.* pode coexistir com o papiloma vírus humano (HPV) e pode contribuir significativamente para a patogênese das lesões displásicas associadas ao HPV no colo do útero[55; 56].

1.2.8 Herpes vírus humanos tipos 1 e 2 - (HSV-1 e HSV-2)

O herpes genital é uma das infecções virais sexualmente transmissíveis mais comuns, persistentes e altamente infecciosas e é causada pelo vírus do herpes simplex 2 (HSV-2) e, em muitos casos emergentes, pelo vírus do herpes simplex 1 (HSV-1)[57; 58]. Os principais locais de infecção incluem a vulva e a vagina, com alguns casos envolvendo o colo uterino e a região perianal nas mulheres e, normalmente, a glande ou a haste do pênis em homens heterossexuais, enquanto a infecção anal também foi relatada para homens homossexuais[59]. As infecções primárias e recorrentes por herpes genital resultam em lesões e inflamação ao redor da área genital que são muito dolorosas e contribuem para a aquisição de outras infecções[57].

Foi encontrada uma forte sinergia entre o HSV-2 e o vírus da imunodeficiência humana (HIV). A infecção pelo HSV-2 pode pelo menos dobrar o risco de infecção pelo HIV adquirida sexualmente porque o herpes genital recorrente pode fornecer uma porta de entrada para o HIV e recrutar células-alvo para os locais de infecção epitelial[60].

1.2.9 Trichomonas vaginalis (*T. vaginalis)*

Trichomonas vaginalis é a IST não viral mais curável e comum em todo o mundo. A Organização Mundial da Saúde (OMS) estimou 156 milhões de casos de *T. vaginalis* em todo o mundo em 2016, representando quase metade da incidência global de IST naquele ano[19].

Pacientes com *T. vaginalis* sintomático relatam vários sintomas, incluindo corrimento vaginal e disúria em mulheres e corrimento uretral e disúria em homens. Muitos pacientes infectados, no entanto, nunca apresentam sintomas permitindo assim um aumento na transmissão da doença[61]. A infecção por *T. vaginalis* não tratada ou persistente em mulheres tem sido associada a infertilidade[62]. Embora pouco se saiba sobre *T. vaginalis* em homens, a infecção tem sido descrita como uma causa de uretrite não-gonocócica (NGU), prostatite e epididimite. Além do que em ambos os sexos, aumentam se a probabilidade de adquirir outras ISTs[61].

O diagnóstico da tricomoníase não pode ser baseado somente na apresentação clínica, pois a infecção pode ser confundida com outras ISTs. O exame de amostras vaginal e cervical pode revelar alterações citomorfológicas induzidas pelos tricomonas. O esfregaço é tipicamente rico em elementos polimorfonucleares e

há grande número de células epiteliais isoladas[63].

O diagnóstico clínico é um meio impreciso de diferenciar visualmente as diferentes ISTs devido à apresentação atípica, à ocorrência de infecções mistas e à infecção pelo HIV[13].

O uso de testes de amplificação de ácidos nucléicos facilitou a detecção de vários agentes etiológicos que não eram cultiváveis. A PCR pode fornecer um diagnóstico microbiano mais sensível, com detecção direta do patógeno na amostra clínica[73]. O teste de PCR multiplex (M-PCR) faz o melhor uso de quantidades limitadas de material clínico, pois permite à amplificação simultânea de DNA de três patógenos a partir de um único *swab* de amostra de secreções de úlceras genitais[15]. A M-PCR mostrou uma sensibilidade mais alta que os testes de diagnóstico padrão para a detecção de HSV, *H. Ducreyi* e *T. pallidum* de úlceras genitais[73].

2 JUSTIFICATIVA

A população ribeirinha é extremamente dependente do meio ambiente, que apesar de imenso e resistente, também é frágil e dependente de vários fatores ambientais sujeitos a transformações globais ou locais. Os próprios rios não possuem práticas de sustentabilidade e gerenciamento de impacto ambiental, relegando seu lixo e esgoto à capacidade de regeneração da Floresta. Portanto, embora tenham acesso a uma das maiores reservas de água potável do mundo, a presença de doenças transmissíveis por água contaminada ou mal tratada ainda é alta. Assim, a população ribeirinha da Amazônia possui uma estrutura sócio-demográfica extremamente precária. A falta de cuidado com a higiene pessoal também é outro reflexo da relação dessas comunidades com o meio ambiente. Além disso, o difícil acesso a essas regiões também colaboram para aumentar as dificuldades nos diagnósticos e tratamentos das diversas doenças.

As ISTs são muitas vezes assintomáticas o que possibilita as transmissões e agravamento das doenças, tornando-se obrigatório o rastreamento por métodos específicos e sensíveis para identificação dos agentes de maneira separada, podendo assim, aplicar um tratamento direcionado para a pessoa infectada e o parceiro, diminuíndo a ocorrência dessas doenças e o aumento do índice de resistências dos medicamentos utilizados nesse tipo de tratamento.

O público de estudo são as mulheres da região ribeirinha da Amazônia, região que abriga várias comunidades que vivem às margens de rios (população ribeirinha) que, na maioria das vezes são carentes de atenção primária como saúde pública, saneamento e educação sanitária[7]. Essa situação é piorada devido à dificuldade de acesso as comunidades mais desenvolvidas, que geralmente são realizadas apenas por pequenas embarcações; e existem também outros fatores impeditivos, como o medo de fazer exames e a falta de entendimento sobre a importância da triagem[9].

O presente trabalho foi realizado com a colaboração da Organização Não Governamental “Doutores das Águas”, criada em 2011[74]. O projeto planeja melhorar as condições para promover medidas de saúde e prevenção às populações ribeirinhas

dos afluentes do Rio Amazonas. Como grande parte da população mora nas áreas rurais, no centro da Amazônia, as mulheres só têm acesso a cuidados de saúde básica, isso devido ao difícil acesso geográfico aos grandes centros de saúde. Nesse sentido, destacam-se os esforços de alguns pesquisadores ao investigar e gerar informações sobre essas populações que habitam as regiões do rio Amazonas[74]. O Centro de Saúde da Mulher foi implantado em 2017, cujo principal objetivo era rastrear a ocorrência de lesões precursoras de câncer e neoplasias nessas regiões[74].

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

- Utilizar a metodologia de microarray para verificar a incidência de IST nas amostras cervicovaginais das mulheres nativas da população ribeirinha dos afluentes dos Rios Negro e Madeira, no Amazonas.

Específicos

- Determinar a prevalência de IST por teste molecular (*Microarray*);

- Avaliar a associação entre as infecções e fatores de risco.

4 METODOLOGIA

4.1 Aprovação pelo CEP

O projeto foi aprovado pelo comitê de ética da Universidade Santo Amaro - SP (Plataforma Brasil - CAAE: 61414216.4.0000.0081 – ANEXO I).

As mulheres voluntárias responderam ao questionário socioepidemiológico (ANEXO II), após a leitura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e explanação sobre os objetivos e risco do projeto. As meninas menores de idade tiveram o TLCE (ANEXO III) assinado por um dos pais ou responsáveis legais. A equipe de saúde, sob supervisão do Prof. Dr. Marco Antônio Zonta foi responsável pela coleta das amostras. Foram coletadas 123 amostras cervicais de populações ribeirinhas próximas ao rio Amazonas, com idades entre 10 e 80 anos, não grávidas.

Os critério de exclusão foram: as gestantes, estar menstruada, mulheres que se negaram a responder o questionário na anmnese ou que o questionário estava incompleto e materiais com quantidade insuficiente de DNA.

4.2 Procedimento de coleta

Após orientação verbal e preparo das pacientes, a mulher foi posicionada na mesa ginecológica e o canal vaginal é dilatado com uma especificação vaginal descartável para coletar material cervical-vaginal. O material cervical (ecto e endocervice) coletado por escovado foi preservado em frasco contendo solução alcalina (Cellpreserv^{tm}), utilizando-se uma escova de cerdas plásticas.

4.3 Análise Citológica

As amostras foram preparadas pelo método automatizado (KLP 2000 da empresa Kolplast™). As amostras foram concentradas e impressas nas lâminas de vidro. As lâminas obtidas foram transferidas para um suporte de lâminas e o material

celular foi fixado em álcool 95%. O material foi submetido ao método de coloração de Papanicolaou convencional, onde utiliza três soluções corantes: a Hematoxilina de Gill (substituída também pela Hematoxilina de Harris), OG-6 (Orange G) e EA-36 (Eosina amarelada) ou EA-65.

A análise citológica e a leitura foram realizadas por microscopia óptica (Nikon Eclipse E200) por um citologista experiente no PAPLAB localizado no Centro de Pesquisa da Universidade Santo Amaro (UNISA RESEARCH CENTER).

4.4 Extração do DNA Genômico

A extração DNA genômico das amostras cervicais foram realizadas com o Kit QIAAMP DNA (Qiagen)de acordo com as instruções do fabricante. Resumidamente, 5 ml das amostras mantidas em Cellpreserv^{tm} foram centrifugadas, lavadas em tampão salina duas vezes e lisadas. O DNA coletado por coluna de extração e eluído com o tampão de eluição do kit. A concentração e purificação do DNA foi determinado por nanodrop (Thermo).

4.5 Amplificação do DNA Genômico

A amplificação do DNA genômico foi feita pelo kit (Euroimmun), que disponibiliza o mix para PCR, contendo a enzima taq polimerase, magnésio, nucleotídeos (dNTP's), primer e molde do DNA desejado. As amostras foram colocadas no Thermal Cycler. Através dos ciclos feitos pelo equipamento variando entre aquecimento e resfriamento vai ocorrer a amplificação do DNA desejado. Os produtos da PCR resultantes são marcados com um corante fluorescente, o que permite que eles sejam detectados posteriormente pelo *microarray*.

4.6 *Microrray*

Foi utilizado o kit EUROArray STI – 11, que permite a detecção simultânea de 11 patógenos sexualmente transmissíveis em uma reação de amplificação de material genético e identificação por sondas marcadas com fluorescência para *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), HSV-1 e -2, *Haemophilus ducreyi* (HD), *Mycoplasma genitalium* (MG), *Mycoplasma hominis* (MH), *Treponema pallidum* (TP), *Trichomonas vaginalis* (TV), *Ureaplasma parvum* (UP), *Ureaplasma urealyticum* (UU)[75].

O DNA amplificado pela PCR é incubado no biochip de Microarray. Primeiramente, o DNA é misturado a solução tampão de hibridização, que fornece condições ótimas para a ligação dos produtos de PCR às sondas complementares no microarray. Essa ligação é medida através dos sinais de fluorescência emitidos pelos pontos e lidos por um scaner de Microarray (Eurimmun™)[76].

4.7 Análise Estatística

As comparações das frequências das infecções foram realizadas utilizando o Teste G de Cochran, enquanto que as associações entre as variáveis foram feitas com o Teste do Qui-quadrado ou Teste exato de Fisher.O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar as idades entre as mulheres com ou sem IST. Fixou-se em 0,05 ou 5% o nível de significância.

5 RESULTADOS

Das 123 amostras coletas foram utilizadas para esse estudo 117 amostras (95,12%), pois 5 foram excluídas devido à escassez de material genômico representativo e 1 estava com os dados do questionário do TCLE incompletos.

As mulheres voluntárias apresentaram as seguintes características socioeconômicas (Tabela 01): idade de 10 a 80 anos, com a escolaridade inferior ao ensino médio incompleto (78,63%), maioria são casadas (79,49%), com renda familiar de até um salário mínimo (86,32%), com duas até dez pessoas em casa (52,14% a 41,03%) e a maioria sendo do lar ou agricultora (59.83%).

Tabela 01 – Características socioeconômicas da população estudada

Variáveis	categorias	n	%
Idade			
	10 a 19	18	15,38
	20 a 29	32	27,35
	30 a 39	33	28,21
	40 a 49	21	17,95
	50 a 59	6	5,13
	60 a 80	7	5,98
Escolaridade			
	Analfabeta	22	18,80
	Fundamental	28	23,93
	Médio incompleto	42	35,90
	Médio completo	8	6,84
	Superior	11	9,40
	NI	6	5,13
Estado civil			
	casada	93	79,49
	solteira	19	16,24
	viúva	2	1,71
	divorciada	3	2,56
Total		117	100,00

Variáveis	categorias	n	%
Renda			
	< 1 Sal	101	86,32
	2 Sal	11	9,40
	> 3 sal	5	4,27
# pessoas em casa			
	02 a 5	61	52,14
	6 a10	48	41,03
	11 a15	5	4,27
	> 16	3	2,56
Profissão			
	Agricultora	39	33,33
	Do lar	31	26,50
	Estudante	15	12,82
	Pescadora	13	11,11
	Professora	9	7,69
	Agente de saúde	2	1,71
	Funcionária pública	2	1,71
	Outros	6	5.13
Total		117	100,00

NI: não informado

Das 117 mulheres, 88 (71,54 %) apresentaram algum tipo de IST (Tabela 02), sendo a mediana da idade das mulheres infectadas de 32 anos (min: 14 e max:78) e das não infectadas, 31 anos (min: 14 e max:63).

Tabela 02 – Idade das mulheres avaliadas segundo presença ou não de infecção.

	Infectadas	Não infectada
n	88	29
Valor Mínimo	14	14
Valor Máximo	78	63
Mediana	32	31
Média	34,10	33,01
DP	14,1	12,7

Teste de Mann-Whitney
Z calculado = 0.142 p=0.8871

O número de mulheres com alguma IST ou não foi estratificado de acordo com a faixa etária, nem mesmo quando a idade foi estratificada e aplicada a a análise do Qui-quadrado com partição (Tabela 03) a idade das mulheres não está associada com a frequência de IST..

Tabela 03 – Faixa etária avaliada segundo presença ou não de infecção

Faixa etária	IST		Total
	Sim	Não	
10 a 19	14	4	18
20 a 29	24	8	32
30 a 39	23	10	31
40 a 49	18	3	21
50 a 59	5	1	6
60 a 80	4	3	7
Total	88	29	117

	Lin : Col	Qui-Quadrado	GL	*p*
Partição 1	02:02	0,1669	1	0,6828
Partição 2	03:02	0,5720	1	0,4495
Partição 3	04:02	1,2287	1	0,2677
Partição 4	05:02	0,1475	1	0,7010
Partição 5	06:02	1,3792	1	0,2402
Geral	Tabela	3,4943	5	0,6243

Alguns fatores de risco aumentam as chances de transmissão das ISTs, entre outros, a idade, etnia, localização geográfica, frequência e tipo de sexo, uso de ducha vaginal, fumo, uso de contraceptivos hormonais, uso de preservativo e grau de escolaridade[73; 74]. A idade da primeira relação sexual (Tabela 4) foi em torno de 7 a 15 anos (68,38%) maioria dessas mulheres apresentaram alguma IST. A maioria das mulheres (56,41%) relatou ter tido apenas 1 parceiro sexual, não fazem uso de preservativo (86,32%), não fazem exames preventivos (62,99%) e tem de um a quatro filhos (73,50%).

Tabela 4 – Fatores de riscos e comportamentais

Variáveis	categorias	n	%
Primeira relação			
	7 a 10	2	1,71
	11 a 15	78	66,67
	16 a 20	33	28,21
	21 a 27	4	3,42
n° de parceiros			
	1	66	56,41
	2 a 5	37	31,62
	6 a 10	7	5,98
	>11	7	5,98
Total		117	100,00

Variáveis	categorias	n	%
Uso de preservativos			
	SIM	16	13,68
	NÃO	101	86,32
Exame Preventivo			
	SIM	55	47,01
	NÃO	61	62,99
Filhos			
	0	15	12,82
	1 a 2	39	33,33
	3 a 4	21	17,95
	5 a 6	26	22,22
	>7	16	13,68
Total		15	100,00

Para avaliar se a idade da primeira relação interfere na presença de IST, o número de mulheres infectadas ou não foi estratificado de sete a quinze anos e após 16 anos (Tabela 5). Embora a grande (76,92%) maioria das mulheres apresentaram alguma IST, a idade da primeira relação sexual não influenciou na presença de infecção (p = 0.8796).

Tabela 5 – Idade da primeira relação sexual avaliada segundo presença ou não de infecção

Idade/1ª relação sexual	IST		Total
	Sim	Não	
7 a 15	60	28	88
≥ 16	20	9	29
Total	80	37	117

X^2 calculado =0.006, p=0.8796

Outros fatores de risco, comportamentais e socieconomicos foram analisados. Como pode-se observar na Tabela 6. O uso de preservativo, microbioma reagente, exame preventivo, queixas, escolaridade até o ensino médio incompleto e número de parceiros não interferiram na presença de IST.

Tabela 6 - Fatores socieconômicos e comportamentais avaliados segundo presença ou não de infecção

Quantidade de parceiros	IST		*p*
	Sim	Não	
Uso de preservativo	13,63	13,79	1,0000 (ns)
Microbioma reagente	93,18	93,01	1,0000 (ns)
Exame preventivo	72,72	77,41	0,6688 (ns)
Sintomas	77,33	71,42	0,5086 (ns)
Escolaridade	59,83	18,80	0,7943 (ns)
Parceiros	88,00	29,00	0,6848 (ns)

Mesmo analisando as faixas de número de parceiro, esta variável não interferiu na presença de infecção (*p* = 0.6848)(Tabela 07).

Tabela 7 – Quantidade de parceiros avaliada segundo presença ou não de infecção

Quantidade de parceiros	IST		Total
	Sim	Não	
1	50	16	66
2 a 5	29	8	37
6 a 10	4	3	7
≥ 11	5	2	7
Total	88	29	117

	Lin : Col	Qui-Quadrado	GL	*p*
Partição 1	02:02	0,0874	1	0.7676
Partição 2	03:02	13,446	1	0.2462
Partição 3	04:02	0,0572	1	0.8109
Geral	Tabela	14,892	3	0.6848

Outras questões foram respondidas: todas disseram não receber para fazerem sexo, 14,68% foram forçadas a fazer sexo, nenhuma delas citaram consumo de álcool na semana anterior a coleta, 7,69% são tabagistas, 12,82% usam drogas injetáveis, 85,47% já engravidaram e 13,68% tiveram abortos.

É sabido que o microbioma misto propicia a vaginose bacteriana (VB), que normalmente só é tratada quando a paciente apresenta sintomas[75]. Para avaliar o microbioma vaginal, foi realizada a análise citológica. Como mostra na Tabela 8, o microbioma vaginal misto foi predominante, onde 87,18% apresentaram essa condição (Tabela 05).

Tabela 8 - Análise citológica: microbioma e agente infeccioso

microbioma/agente	n	%
Bacilar/normal	8	6,84
Mista	102	87,18
G. vaginallis	5	4,27
Candida sp.	2	1,71
Total	117	100,00

Mista: presença de bacilos e cocos

Para verificar o tipo de IST, foi realizada a análise molecular e foi observado que as infecções com *Ureaplasma parvum* (45,45%) e com *Mycoplasma hominis* (26,57%) foram estatisticamente mais frequentes (p=0.0000) do que com *Ureaplasma urealyticum* (9,09%), *Trichomonas vaginalis* (7,69%) e as outras infecções, como mostrado na Tabela 09. A quantidade de infecções (Tabela 10 e 11) foram únicas (41,88%), em duas (22,22%) ou em três ou mais agentes infecciosos (11,11%).

Tabela 9 – Tipagem da infecção

microbioma/agente	n	%
Ureaplasma parvum	65	45,45
Mycoplasma hominis	38	26,57
Ureaplasma urealyticum	13	9,09
Trichomonas vaginalis	11	7,69
Mycoplasma genitalium	4	2,80
Haemophilus ducrey	4	2,80
Chlamydia trachomatis	3	2,10
Herpes simplex virus 2	3	2,10
Treponema pallidum	2	1,40
Total	143	100,00

Teste G de Cochran G calculado= 263.66 p=0.0000* UP e MH foi encontrada com maior frequência que as demais.

Tabela 10 - Quantidade de infecções por voluntária

microbioma/agente	n	%
sem infecção	29	24,79
uma	49	41,88
duas	26	22,22
três	10	8,55
quatro	3	2,56
Total	117	100,00

Tabela 11- Número de infecções únicas ou associações

microbioma/agente	n	%
UP	35	39,77
MH/UP	12	13,64
MH	9	10,23
MH/TV/UP	6	6,82
UU	3	3,41
HD	2	2,27
MH/TV	2	2,27
HD/UP	2	2,27
MH/UU	2	2,27
HS2/UP	2	2,27
MH/UP/UU	1	1,14
MH/TV/UU	1	1,14
MH/TV/UU/UP	1	1,14
CT/MG	1	1,14
HS2/HD/UP	1	1,14
UP/UU	1	1,14
CT/MH/UU	1	1,14
MG/MH/UP/UU	1	1,14
TP/UU	1	1,14
MG/UP	1	1,14
MH/TV	1	1,14
CT/MH	1	1,14
TV/UP	1	1,14
Total	88	100,00

Abreviações: UP - *Ureaplasma parvum*, MH - *Mycoplasma hominis*, UU - *Ureaplasma urealyticum*, TV - *Trichomonas vaginalis*, MG - *Mycoplasma genitalium*, HD - *Haemophilis ducrey*,CT - *Chlamydia trachomatis*, HP2 - *Herpes simplex virus 2*, TP - *Treponema pallidum*

6 DISCUSSÃO

No presente trabalho foi observado que as voluntárias tinham a mediana de 31 anos; a idade da primeira relação sexual foi entre 7 a 15 anos, das quais 76,92% apresentaram alguma IST. Na população avaliada, 56,41% das mulheres relataram ter mantido relação monogâmica, porém estas variáveis não parecem ter correlação com a presença de infecção. Em contraste, sabe-se que os riscos comportamentais é um agravante para se adquirir as ISTs. A OMS aponta como os fatores de risco para se adquirir as ISTs, mulheres com idade inferior a 21 anos, ser solteiras, intercorrências sexuais com mais parceiro sexual ou parceiro recente nos três meses anteriores, ter parceiro com alguma IST e prática de relação sexual sem o uso de preservativo[76]. Nsibande et al. (2018) mostratam que os riscos comportamentais é um agravante para se adquirir as ISTs quando fizeram a análise de 160 voluntários com idade entre 15 e 24 anos [77]. No Líbano foi realizado um estudo com 505 mulheres voluntárias, onde 312 amostras (62%) foram positivas para pelo menos um patógeno sexualmente transmissível e relatam a mudança no comportamento das mulheres, como um aumento de parceiros sexuais e práticas homossexuais, os quais estão relacionados ao aumento do risco de ISTs[78]. Mesmo estratificando as voluntárias que participaram deste estudo, não foi possível determinar que a idade da população ou mesmo a idade de ínicio da vida sexual estavam relacionadas com a frenquência de IST.

Foi observado que o microbioma vaginal misto foi predominante nas amostras analisadas no presente trabalho. A vaginose bacteriana está associada ao aumento do risco de adquirir infecções sexualmente transmissíveis e desenvolver complicações obstétricas[76]. Além disso, alguns estudos demonstraram que a vaginose bacteriana também está associada a um risco aumentado de desenvolver complicações de saúde mais graves, como distúrbios do trato urogenital superior[82] e parto prematuro[73]. No entanto, no presente trabalho foi observado que tanto as mulheres infectadas e não infectadas apresentaram o microbioma reagente. O tratamento com antibiótico é recomendado para vaginose bacteriana sintomática; porém, estudos demonstraram taxas de recorrência muito altas (20% a 67%) devido à formação de biofilme do microbioma anaeróbico anormal que cria células indutoras[76].

No presente trabalho foi observado uma alta incidência de infecção por *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*. Estes agentes são normalmente encontrados no microbioma vaginal de 70 a 80% das mulheres sexualmente ativas[85 86]. Embora, a maioria das infecções causadas micoplasma e ureaplasma sejam assintomáticas, essas infecções estão associadas a um risco aumentado de resultados adversos na gravidez, como aborto espontâneo e parto prematuro[48; 87;88].

Há vários estudos sobre os micoplasmas e ureaplasmas mas ainda não há evidências conclusivas de que esses microrganismos devam ser considerados patógenos ou meros cofatores associados a infecções genitais[77], assim facilitando outras infecções. *M. hominis* pode agir simbioticamente com outras bactérias associadas à vaginose bacteriana ou como o único patógeno. Este micoplasma pode ser encontrado em grande quantidade na vagina da maioria das mulheres com vaginose bacteriana, mas com menos frequência em mulheres saudáveis[84]. Estudos relatam a importância do tratamento apenas para pacientes sintomáticos, pois os micoplasmas genitais exibem resistência inerente a beta-lactâmicos e glicopeptídeos (por exemplo, vancomicina) devido à ausência de parede celular. Já os ureaplasmas geralmente são suscetíveis aos macrolídeos, eles são resistentes às lincosamidas, exceto em altas concentrações. No entanto, a resistência medicamentosa ao micoplasma aumentou devido ao uso inadequado dos antibióticos[90].

A sífilis é uma doença reemergente no Brasil e atualmente reapareceu como problema de saúde nacional após um período de aparente controle e queda em sua incidência[52]. No nosso trabalho foi observado um baixo número de *T. pallidum*, foram detectados materiais genéticos do patógeno em três pacientes pela técnica de Microrray que não foram detectados na citologia. A baixa detecção de treponemas no diagnóstico molecular não pode ser refletida com ausência da doença na região estudada.

A história natural da doença mostra evolução que alterna períodos de atividade com características clínicas, imunológicas e histopatológicas distintas (sífilis primária, secundária e terciária) e períodos de latência (sífilis latente). A sífilis divide-se ainda em sífilis recente, nos casos em que o diagnóstico é feito em até um ano depois da infecção, e sífilis tardia, quando o diagnóstico é realizado após um ano[91]. A lesão primária, cancro, se apresenta como uma úlcera ano genital que aparece 9–90 dias após a exposição. O cancro pode não ser aparente ou não ser reconhecido pelo paciente. A úlcera é classicamente endurecida e indolor, mas geralmente pode ser atípica (dolorosa, mole, múltipla)[92]. Após esse período de latência, se não tratada a doença entrará novamente em atividade, o acometimento afetará a pele e os órgãos internos correspondendo à distribuição do *T. pallidum* por todo o corpo, caracterizando a Sífilis secundária. E na fase terciária, em geral a característica das lesões é a formação de granulomas destrutivos e ausência quase total de treponemas[91]. As complicações podem ser neurológicas, como a neurossífilis tardia que pode causar sífilis meningovascular levando ao Acidente Vascular Cerebral, ou envolvimento do parênquima levando a paresia geral e *tabes dorsalis*, além de complicações cardiovasculares que envolve o arco aórtico, podendo causar angina, incompetência aórtica e aneurisma aórtico[92]. A melhor maneira de ser feito o diagnóstico das fases secundária e terciária da sífilis é através da sorologia.

Os testes sorológicos para Sífilis secundária e terciária geralmente começam com um teste treponêmico de triagem, como uma enzima ou imunoensaio de quimiluminescência para detectar anticorpos treponêmicos. Um teste de triagem positivo deve ser seguido por um teste treponêmico confirmatório, normalmente o *T pallidum* aglutinação de partículas. Se ambos os testes forem positivos, a sífilis é confirmada[93]. Depois disso, o teste rápido da reagina plasmática (um teste quantitativo não treponêmico) deve ser usado para medir a atividade da doença e rastrear a resposta ao tratamento (embora 15 - 41% dos pacientes permaneçam reativos mesmo após o tratamento bem-sucedido)[94].

A Amazônia brasileira abriga várias comunidades nas margens do rio que, na maioria das vezes, carecem de atenção primária como saúde pública, saneamento

básico e educação. Em 2017, Duarte et al. publicou um estudo transversal onde foram investigadas a infecção pelo HPV e triagem cervical de 353 mulheres, de dezesseis comunidades em 7 municípios do estado do Pará, entre fevereiro e dezembro de 2008[9]. Os estudos são escassos na população ribeirinha e isso ocorre basicamente devido à dificuldade de acesso a essas comunidades, que geralmente são feitas apenas por pequenas embarcações.

No presente estudo as mulheres têm uma média de 31 anos e mostraram comportamentos socioeconômicos e condições econômicas semelhantes; sobreviveram com renda familiar de até um salário mínimo, mostrando a precariedade a que essa população está exposta. A implementação de programas de prevenção e promoção da saúde para essas mulheres é difícil, devido à localização e a dificuldade de entendimento, pois uma porcentagem alta dessas mulheres em relação a escolaridade foi 23,93% possuem ensino fundamental e 35,90% tem o ensino médio incompleto; dificultando assim o diagnóstico precoce e o tratamento. As comunidades onde o acesso aos serviços à saúde são deficientes e precários traz normalmente um cenário incomum em relação a população, e as mulheres ribeirinhas amazônicas são exemplos de pessoas impactadas pela falta de acesso à informação e aos serviços de saúde, pois estão mais sujeitas ao agravamento em casos de doenças do trato genital[95].

O diagnóstico precoce ainda é a melhor maneira para um tratamento eficaz e a eliminação dos patógenos, e para isso as técnicas de Biologia Molecular como o como o PCR em tempo real[78; 85; 86], PCR multiplex[87; 88; 89] e microarranjos[86;90] são excelentes em termos de sensibilidade e especificidade, porém de alto custo prejudicando assim a utilização desses métodos para rastreio das ISTs[86]. Além disso, apesar da crescente aplicação de métodos de diagnóstico molecular para detecção de ISTs, os achados citológicos em papanicolau de pacientes com patógenos que podem ser identificados apenas por PCR ainda não estão bem descritos na literatura. É o que mostra um estudo realizado aqui no Brasil, onde a população foi composta por mulheres, com idades entre 23 e 54 anos, que realizaram triagem de rotina em 2017-2018 em uma clínica ginecológica. Critérios elegíveis incluídos (i) idade, (ii) nenhum uso de antibioticoterapia 12 meses antes da coleta de

amostra, e (iii) nenhum medicamento tópico no mês anterior. A PCR multiplex foi positiva em 36,2% das amostras do presente estudo. E concluiu-se que uma observação sobre a intensidade da inflamação deve ser feita nos laudos dos exames de Papanicolaou cervical para que o achado citológico possa ser correlacionado com os resultados clínicos e de PCR[86].

7 CONCLUSÃO

Baseados nos resultados encontrados nesse estudo concluímos que:

- Há uma alta incidência de patógenos causadores de IST por paciente, com predomínio de *Ureaplasma parvum* e *Mycoplasma hominis, hominis* isoladamente ou em associação com outras infecções. A frequência de IST não teve correlação com os fatores de riscos e comportamentais, exemplo o uso de preservativo, microbioma vaginal, exame preventivo ou escolaridade.
- A identificação dos agentes por testes moleculares garante uma melhor identificação dos patógenos, oferece, ainda, uma condição de coleta e preservação da amostra, facilitando o rastreamento de ISTs mesmo em populações distantes e isoladas dos serviços básicos de saúde.
- O estudo epidemiológico da população ribeirinha dos afluentes do rio amazonas evidencia a necessidade de rastreamento da população feminina por meio de testes eficientes e precisos no combate as ISTs, devido à alta incidência de agentes patogênicos identificados nessa população.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Topic Page | RHL [Internet]. [cited 2020 Jul 14]. Available from: https://extranet.who.int/rhl/pt-br/topics/sexually-transmitted-infections

2. Rhr W/. The WHO Strategic Approach to strengthening sexual and reproductive health policies and programmes. 2007.

3. Vírus Herpes simplex [Internet]. [cited 2020 Aug 31]. Available from: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus

4. Estudo inédito revela prevalência nacional do HPV em pessoas com idade entre 16 e 25 anos | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [cited 2020 Sep 7]. Available from: http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/estudo-inedito-revela-prevalencia-nacional-do-hpv-em-pessoas-com-idade-entre-16-e-25-anos

5. WHO. Sexually transmitted infections: implementing the Global STI Strategy. 2017;10 (12):1–8. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258740/WHO-RHR-17.18-eng.pdf?sequence=1

6. Mayaud P, Mabey D. Approaches to the control of sexually transmitted infections in developing countries: Old problems and modern challenges. Sex Transm Infect. 2004;80 (3):174–82.

7. Ministério da Saúde [Internet]. [cited 2020 Jul 14]. Available from: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2010/prt2472_31_08_2010.html

8. Cavalcante EGF, Araújo MAL, Galvão MTG, De Moura HJ, Gondim APS, Da Silva RM. Sexually transmitted infections associated syndromes assisted in the primary health care in Northeast, Brazil. BMC Public Health. 2012;12 (1).

9. Duarte D, Vieira R, Brito E, Pinheiro M, Monteiro J, Valente M, et al. Prevalence of Human Papillomavirus Infection and Cervical Cancer Screening among Riverside Women of the Brazilian Amazon. Rev Bras Ginecol e Obs / RBGO Gynecol Obstet. 2017;39 (07):350–7.

10. Linhares IM, Giraldo PC, Baracat EC. [New findings about vaginal bacterial flora]. Rev Assoc Med Bras [Internet]. 2010;56 (3):370–4. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20676549

11. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbioma. PLoS One. 2013;8 (11):1–8.

12. Ravel J, Gajer P, Abdo Z, Schneider GM, Koenig SSK, McCulle SL, et al. Vaginal microbiome of reproductive-age women. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011;108 (SUPPL. 1):4680–7.

13. Miller EA, Beasley DAE, Dunn RR, Archie EA. Lactobacilli dominance and vaginal pH: Why is the human vaginal microbiome unique? Front Microbiol. 2016;7 (DEC):1–13.

14. Costello EK, Lauber CL, Hamady M, Fierer N, Gordon JI, Knight R. Bacterial Community Variation in Human Body Habitats Across Space and Time. Science (80-) [Internet]. 2009 [cited 2020 Jul 15];326 (5960):1694–7. Available from: www.sciencemag.orgcgi/content/full/1177486/DC1

15. Mitra A, Macintyre DA, Marchesi JR, Lee YS, Bennett PR, Kyrgiou M. The vaginal microbioma, human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia: what do we know and where are we going next?

16. Turovskiy Y, Sutyak Noll K, Chikindas ML. The aetiology of bacterial vaginosis. J Appl Microbiol. 2011;110 (5):1105–28.

17. King CC, Jamieson DJ, Wiener J, Cu-Uvin S, Klein RS, Rompalo AM, et al. Bacterial vaginosis and the natural history of human papillomavirus. Infect Dis Obstet Gynecol. 2011;2011.

18. Shim BS. Current Concepts in Bacterial Sexually Transmitted Diseases. Korean J Urol © Korean Urol Assoc [Internet]. 2011 [cited 2020 Jun 9];52:589–97. Available from: www.kjurology.orghttp://dx.doi.org/10.4111/kju.2011.52.9.589

19. Wellings K, Collumbien M, Slaymaker E, Singh S, Hodges Z, Patel D, et al. Sexual behaviour in context: a global perspective. Lancet (London, England) [Internet]. 2006 Nov 11 [cited 2020 Jun 8];368 (9548):1706–28. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17098090

20. Borges V, Cordeiro D, Salas AI, Lodhia Z, Correia C, Isidro J, et al. Chlamydia trachomatis: When the virulence-associated genome backbone imports a prevalence-associated major antigen signature. Microb Genomics. 2019;5 (11).

21. Chlamydia - StatPearls - NCBI Bookshelf [Internet]. [cited 2020 Sep 7]. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537286/

22. Haggerty CL, Gottlieb SL, Taylor BD, Low N, Xu F, Ness RB. Risk of Sequelae after Chlamydia trachomatis Genital Infection in Women . J Infect Dis. 2010;201 (S2):134–55.

23. Rowley J, Hoorn S Vander, Korenromp E, Low N, Unemo M, Abu-Raddad LJ, et al. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: Global prevalence and incidence estimates, 2016. Bull World Health Organ. 2019 Aug 1;97 (8).

24. da Silveira MF, Sclowitz IKT, Entiauspe LG, Mesenburg MA, Stauffert D, Bicca GL de O, et al. Chlamydia trachomatis infection in young pregnant women in southern Brazil: A cross-sectional study. Cad Saude Publica. 2017;33 (1):1–9.

25. De Azevedo MJN, Dos Santos Nunes S, De Oliveira FG, Pires Rocha DA. High prevalence of Chlamydia trachomatis in pregnant women attended at primary health care services in amazon, Brazil. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2019;61 (October 2018):1–8.

26. De Borborema-Alfaia APB, De Lima Freitas NS, Filho SA, Borborema-Santos CM. Chlamydia trachomatis infection in a sample of northern Brazilian pregnant women: Prevalence and prenatal importance. Brazilian J Infect Dis [Internet]. 2013;17 (5):545–50. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.bjid.2013.01.014

27. Savage EJ, Laar MJ Van De, Gallay A, Sande M Van Der, Hamouda O, Sasse A, et al. S u r v e i ll a n c e a n d o u t b r e a k r e p o r t s L ym phog ran u Loma e urope , 2003-2008. 2009;1–5.

28. Nieuwenhuis RF, Ossewaarde JM, Götz HM, Dees J, Thio HB, Thomeer MGJ, et al. Resurgence of Lymphogranuloma Venereum in Western Europe: An Outbreak of Chlamydia trachomatis Serovar L 2 Proctitis in The Netherlands among Men Who Have Sex with Men . Clin Infect Dis. 2004;39 (7):996–1003.

29. de Vries HJC, de Barbeyrac B, de Vrieze NHN, Viset JD, White JA, Vall-Mayans M, et al. 2019 European guideline on the management of lymphogranuloma venereum. J Eur Acad Dermatology Venereol. 2019;33 (10):1821–8.

30. Meyer T. Diagnostic Procedures to Detect Chlamydia trachomatis Infections. Microorganisms. 2016;4 (3):25.

31. Hufnagel K, Hoenderboom B, Harmel C, Rohland JK, van Benthem BHB, Morré SA, et al. Chlamydia trachomatis whole-proteome microarray analysis of the netherlands chlamydia cohort study. Microorganisms. 2019;7 (12):1–18.

32. Williamson DA, Chow EPF, Gorrie CL, Seemann T, Ingle DJ, Higgins N, et al. Bridging of Neisseria gonorrhoeae lineages across sexual networks in the HIV pre-exposure prophylaxis era. Nat Commun [Internet]. 2019;10 (1):1–10. Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-12053-4

33. A. Jarvis G, L. Chang T. Modulation of HIV Transmission by Neisseria gonorrhoeae: Molecular and Immunological Aspects. Curr HIV Res. 2012;10 (3):211–7.

34. Edwards JL, Apicella MA. The Molecular Mechanisms Used by. Society. 2004;17 (4):965–81.

35. Bartlett JG. Etiology of clinical proctitis among men who have sex with men. Infect Dis Clin Pract. 2004;12 (4):247–8.

36. Frontzek A, Aretzweiler G, Winkens D, Duncan D, Marlowe EM. High-volume workflow and performance comparisons for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae testing using automated molecular platforms. BMC Infect Dis. 2019;19 (1):1–5.

37. Romero L, Huerfano C, Grillo-Ardila CF. Macrolides for treatment of Haemophilus ducreyi infection in sexually active adults. Cochrane Database Syst Rev. 2017;2017 (12).

38. Lewis DA. Chancroid: clinical manifestations, diagnosis, and management. [cited 2020 Jul 14]; Available from: http://sti.bmj.com/

39. Agharbi FZ. Chancre mou. Pan Afr Med J [Internet]. 2019 [cited 2020 Jul 15];33:185. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6756812/

40. Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection.

41. Jensen JS, Hansen HT, Seruminstitut S, S D-C. Strains from the Male Urethra. Microbiology. 1996;34 (2):286–91.

42. Horner PJ, Martin DH. Mycoplasma genitalium Infection in Men. J Infect Dis. 2017;216 (Suppl 2):S396–405.

43. Wiesenfeld HC, Manhart LE. Mycoplasma genitalium in Women: Current Knowledge and Research Priorities for This Recently Emerged Pathogen. J Infect Dis. 2017;216 (Suppl 2):S389–95.

44. Taylor-Robinson D, Jensen JS. Mycoplasma genitalium: From chrysalis to multicolored butterfly. Clin Microbiol Rev. 2011;24 (3):498–514.

45. Martens L, Kuster S, de Vos W, Kersten M, Berkhout H, Hagen F. Macrolide-Resistant Mycoplasma genitalium in Southeastern Region of the Netherlands, 2014-2017. Emerg Infect Dis. 2019;25 (7):1297–303.

46. Sonpar A, Brown K, Chen J, Megran D, Sabo M, Cervera C, et al. Dual infection in pregnancy: Disseminated Mycoplasma hominis and necrotizing herpes simplex 2 hepatitis. Int J Infect Dis [Internet]. 2018;71:1–3. Available from: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.03.006

47. Penna IA, Duarte G, Ferriani RA, Machado AA, Romão GS, Reis RM dos, et al. Freqüência de infecção pelo Mycoplasma hominis e Ureaplasma urealyticum em mulheres inférteis e relação com repercussões clínicas. Rev Bras Ginecol e Obs. 2005;27 (2):64–8.

48. Vallely LM, Egli-Gany D, Pomat W, Homer CS, Guy R, Wand H, et al. Adverse pregnancy and neonatal outcomes associated with Neisseria gonorrhoeae, Mycoplasma genitalium, M. hominis, Ureaplasma urealyticum and U. parvum: a systematic review and meta-analysis protocol. BMJ Open. 2018;8:24175.

49. Beale MA, Marks M, Sahi SK, Tantalo LC, Nori A V., French P, et al. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages. Nat Commun [Internet]. 2019;10 (1). Available from: http://dx.doi.org/10.1038/s41467-019-11216-7

50. Tampa M, Sarbu I, Matei C, Benea V, Georgescu SR. Brief history of syphilis. Vol. 7, Journal of medicine and life. 2014. p. 4–10.

51. Arando M, Fernandez-Naval C, Mota-Foix M, Martinez D, Armengol P, Barberá MJ, et al. Early syphilis: Risk factors and clinical manifestations focusing on HIV-positive patients. BMC Infect Dis. 2019;19 (1):1–9.

52. Garbin AJÍ, Martins RJ, Belila N de M, Exaltação SM, Garbin CAS. Reemerging diseases in Brazil: Sociodemographic and epidemiological characteristics of syphilis and its under-reporting. Rev Soc Bras Med Trop. 2019;52 (July 2017):2017–20.

53. Ministério da Saúde lança ação nacional de combate à sífilis | Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis [Internet]. [cited 2020 Jul 15]. Available from: http://www.aids.gov.br/pt-br/noticias/ministerio-da-saude-lanca-acao-nacional-de-combate-sifilis

54. Goh BT. Syphilis in adults. Sex Transm Infect. 2005;81 (6):448–52.

55. Guidelines for serological testing for syphilis H Young [Internet]. [cited 2020 Jul 15]. Available from: www.sextransinf.com

56. Zhang N, Wang R, Li X, Liu X, Tang Z, Liu Y. Are Ureaplasma spp. a Cause of Nongonococcal Urethritis? A Systematic Review and Meta-Analysis. Schmidt RL, editor. PLoS One [Internet]. 2014 Dec 2 [cited 2020 Jul 15];9 (12):e113771. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0113771

57. Mauricio Mendes de Cordova C, Galgowski C, Lange L. Still Far from a Definitive Response. 2016 [cited 2020 Jul 15]; Available from: http://dx.doi.org/10.1155/2016/8192323

58. Parthenis C, Panagopoulos P, Margari N, Kottaridi C, Spathis A, Pouliakis A, et al. The association between sexually transmitted infections, human papillomavirus, and cervical cytology abnormalities among women in Greece $. Int J Infect Dis [Internet]. 2018 [cited 2020 Jul 15];73:72–7. Available from: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.06.001

59. Borena W, Kruis S, Kitchen M, Taylor N, Gisinger M, Oberkofler H, et al. Anal Ureaplasma spp. positivity among HIV positive men who have sex with men may be associated with high-risk-type HPV infections. Int J Infect Dis [Internet]. 2019 [cited 2020 Jul 15];84:75–9. Available from: https://doi.org/10.1016/j.ijid.2019.04.025

60. Hopkins J, Yadavalli T, Agelidis AM, Shukla D. Host Enzymes Heparanase and Cathepsin L Promote Herpes Simplex Virus 2 Release from Cells. J Virol. 2018;92 (23):1–12.

61. Seroprevalence of Herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 Years - United States, 2005-2008. Vol. 59, Morbidity and Mortality Weekly Report. 2010. p. 456–9.

62. Halpern-Felsher BL, Cornell JL, Kropp RY, Tschann JM. Oral Versus Vaginal Sex Among Adolescents: Perceptions, Attitudes, and Behavior. 2005 [cited 2020 Jul 15]; Available from: www.aappublications.org/news

63. Wald A, Link K. Risk of Human Immunodeficiency Virus Infection in Herpes Simplex Virus Type 2-Seropositive Persons: A Meta-analysis [Internet]. Vol. 185, The Journal of Infectious Diseases. 2002 [cited 2020 Jul 15]. Available from: https://academic.oup.com/jid/article-abstract/185/1/45/800429

64. Meites E, Gaydos CA, Hobbs MM, Kissinger P, Nyirjesy P, Schwebke JR, et al. A Review of Evidence-Based Care of Symptomatic Trichomoniasis and Asymptomatic Trichomonas vaginalis Infections. [cited 2020 Jul 15]; Available from: https://academic.oup.com/cid/article-abstract/61/suppl_8/S837/344844

65. Van Gerwen OT, Muzny CA. Open Peer Review Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of infection Trichomonas vaginalis [version 1; peer review: 2 approved]. 2019 [cited 2020 Jul 15]; Available from: https://doi.org/10.12688/f1000research.19972.1

66. Maciel G de P, Tasca T, De Carli GA. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de Trichomonas vaginalis. J Bras Patol e Med Lab. 2004;40 (3):152–60.

67. Gomes Naveca F, Sabidó M, Amaral Pires de Almeida T, Araújo Veras E, Contreras Mejía M del C, Galban E, et al. Etiology of Genital Ulcer Disease in a Sexually Transmitted Infection Reference Center in Manaus, Brazilian Amazon. PLoS One. 2013;8 (5):1–8.

68. Orle KA, Gates CA, Martin DH, Body BA, Weiss JB. Simultaneous PCR Detection of Haemophilus ducreyi, Treponema pallidum, and Herpes Simplex Virus Types 1 and 2 from Genital Ulcers. Vol. 34, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 1996.

69. Bruisten SM, Cairo I, Fennema H, Pijl A, Buimer M, Peerbooms PGH, et al. Diagnosing Genital Ulcer Disease in a Clinic for Sexually Transmitted Diseases in Amsterdam, The Netherlands. J Clin Microbiol [Internet]. 2001 [cited 2020 Jul 14];39 (2):601–5. Available from: http://jcm.asm.org/

70. O Projeto – Doutores das Águas [Internet]. [cited 2020 Jul 17]. Available from: https://www.doutoresdasaguas.org.br/o-projeto/

71. Sti EE. STI (sexually transmitted pathogens). 2019;7:1–2.

72. Técnicas & Metodologias | EUROIMMUN Brasil - Medicina Diagnóstica [Internet]. [cited 2020 Jul 17]. Available from: https://www.euroimmun.com.br/tecnicas/5/microarray#conteudo

73. Lynch T, Peirano G, Lloyd T, Read R, Carter J, Chu A, et al. Molecular

Diagnosis of Vaginitis: Comparing Quantitative PCR and Microbiome Profiling Approaches to Current Microscopy Scoring. 2019 [cited 2020 Aug 1]; Available from: https://doi.org/10.1128/JCM.00300-19.

74. Kenyon, Chris R; Buyze, Jozefien; Klebanoff, Mark; Brotman R. Concurrency : a Longitudinal Study. Sex Transm Infect. 2018;94 (1):75–7.

75. Klebanoff MA, Schwebke JR, Zhang J, Nansel TR, Yu KF, Andrews WW. Vulvovaginal symptoms in women with bacterial vaginosis. Obstet Gynecol. 2004;104 (2):267–72.

76. Mundial Saúde O R G A N I Z Aç Ão Mundial De Saúde O DE. Orientações para o Tratamento de Infecções Sexualmente Transmissíveis.

77. Nsibande D, Loveday M, Daniels K, Sanders D, Doherty T, Zembe W. Approaches and strategies used in the training and supervision of Health Extension Workers (HEWs) delivering integrated community case management (iCCM) of childhood illness in Ethiopia: a qualitative rapid appraisal. Afri Heal Sci. 2018;18 (1):188–97.

78. Hanna J, Yassine R, El-Bikai R, Curran MD, Azar M, Yeretzian J, et al. Molecular epidemiology and socio-demographic risk factors of sexually transmitted infections among women in Lebanon. [cited 2020 Sep 7]; Available from: https://doi.org/10.1186/s12879-020-05066-8

79. Fredricks DN, Fiedler TL, Marrazzo JM. Molecular Identification of Bacteria Associated with Bacterial Vaginosis [Internet]. Vol. 18, n engl j med. 2005 [cited 2020 Aug 7]. Available from: www.nejm.org

80. Ma Z, Li L. Quantifying the human vaginal community state types (CSTs) with the species specificity index.

81. Gajer P, Brotman RM, Bai G, Sakamoto J, Schütte UME, Zhong X, et al. Temporal Dynamics of the Human Vaginal Microbioma.

82. Taylor BD, Darville T, Haggerty CL. Does bacterial vaginosis cause pelvic inflammatory disease? Sex Transm Dis. 2013;40 (2):117–22.

83. Nugent,' RP, Krohn MA, Hillier3 SL. Reliability of Diagnosing Bacterial Vaginosis Is Improved by a Standardized Method of Gram Stain Interpretation. Vol. 29, JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY. 1991.

84. Waites KB, Katz B, Schelonka RL. Mycoplasmas and Ureaplasmas as Neonatal Pathogens. Clin Microbiol Rev. 2005;18 (4):757–89.

85. Redelinghuys MJ, Ehlers MM, Dreyer AW, Lombaard HA, Kock MM. Antimicrobial susceptibility patterns of Ureaplasma species and Mycoplasma hominis in pregnant women [Internet]. 2014 [cited 2020 Jul 28]. Available from: http://www.biomedcentral.com/1471-2334/14/171

86. de Miranda Lima L, René Hoelzle C, Toscano Simões R, Inês de Miranda Lima M, Rodrigues Barbosa Fradico J, Cristian Cueva Mateo E, et al. Sexually Transmitted Infections Detected by Multiplex Real Time PCR in Asymptomatic Women and Association with Cervical Intraepithelial Neoplasia Infecções sexualmente transmissíveis detectadas por PCR multiplex em tempo real em mulheres assintomáticas e associação com neoplasia intraepitelial cervical. Rev Bras Ginecol Obs [Internet]. 2018 [cited 2020 Sep 14];40:540–6. Available from: https://doi.org/

87. Young Lee M, Hee Kim M, In Lee W, Young Kang S, La Jeon Y. Prevalence and Antibiotic Susceptibility of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum in Pregnant Women Brief Communication. Yonsei Med J [Internet]. 2016 [cited 2020 Jul 28];57 (5):1271–5. Available from: www.eymj.orghttp://dx.doi.org/10.3349/ymj.2016.57.5.1271

88. Cai S, Pan J, Duan D, Yu C, Yang Z, Zou J. Prevalence of Ureaplasma urealyticum, Chlamydia trachomatis, and Neisseria gonorrhoeae in gynecological outpatients, Taizhou, China. J Clin Lab Anal [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2020 Sep 14];34 (2). Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcla.23072

89. Leli C, Mencacci A, Latino MA, Clerici P, Rassu M, Perito S, et al. Prevalence of cervical colonization by Ureaplasma parvum, Ureaplasma urealyticum, Mycoplasma hominis and Mycoplasma genitalium in childbearing age women by a commercially available multiplex real-time PCR: An Italian observational multicentre study. J Microbiol Immunol Infect [Internet]. 2018;51 (2):220–5. Available from: https://doi.org/10.1016/j.jmii.2017.05.004

90. Gu X, Liu S, Guo X, Weng R, Zhong Z. Epidemiological investigation and antimicrobial susceptibility analysis of mycoplasma in patients with genital manifestations. J Clin Lab Anal [Internet]. 2020 [cited 2020 Aug 1];34:23118. Available from: https://doi.org/10.1002/jcla.23118

91. Carlos J, Avelleira R, Bottino G. Educação Médica Continuada. Vol. 81, An Bras Dermatol. 2006.

92. Goh BT. Syphilis in adults. Sex Transm Infect [Internet]. 2005 Dec 1 [cited 2020 Sep 15];81 (6):448–52. Available from: http://sti.bmj.com/

93. O'Byrne P, Macpherson P. Syphilis. BMJ [Internet]. 2019 [cited 2020 Aug 23];365. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6598465/

94. Seña AC, Zhang X-H, Li T, Zheng H-P, Yang B, Yang L-G, et al. A systematic review of syphilis serological treatment outcomes in HIV-infected and HIV-uninfected persons: rethinking the significance of serological non-responsiveness and the serofast state after therapy. 2011 [cited 2020 Aug 23]; Available from: www.controlled-trials.-

95. Visão da prevalência de vulvovaginite em mulheres sexualmente ativas de comunidades ribeirinhas na Amazônia brasileira [Internet]. [cited 2020 Sep 15]. Available from: https://www.journalijtdh.com/index.php/IJTDH/article/view/20128/37239

ANEXO A – Aprovação da Comissão de Ética em Pesquisa da UNISA

DADOS DA VERSÃO DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE CONDIÇÕES REALATIVAS À SAÚDE DA MULHER EM POPULAÇÃO RIBEIRINHA DO AMAZONAS ATENDIDA PELO PROGRAMA HUMANITÁRIO ASSISTENCIAL ¿DOUTORES DAS ÁGUAS¿
Pesquisador Responsável: Marco Zorta
Área Temática:
Versão: 1
CAAE: 51414215.4.0000.0081
Submetido em: 28/10/2015
Instituição Proponente: Universidade de Santo Amaro - UNISA
Situação da Versão do Projeto: Aprovado
Localização atual da Versão do Projeto: Pesquisador Responsável
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

COORDENADOR

Comprovante de Recepção: PB_COMPROVANTE_RECEPCAO_804164

DOCUMENTOS DO PROJETO DE PESQUISA

- Versão Vigente Aprovada (PO) - Versão 1
  - Projeto Original (PO) - Versão 1
    - Documentos do Projeto
      - Comprovante de Recepção - Submissão
      - Cronograma - Submissão 1
      - Folha de Rosto - Submissão 1
      - Informações Básicas do Projeto - Subm
      - Outros - Submissão 1
      - Projeto Detalhado / Brochura Investiga
      - TCLE / Termo de Assentimento / Justi
    - Apreciação 1 - Universidade de Santo Am
  - Projeto Completo

Tipo de Documento	Situação	Arquivo	Postagem	Ações

LISTA DE APRECIAÇÕES DO PROJETO

Apreciação	Pesquisador Responsável	Versão	Submissão	Modificação	Situação	Exclusivo do Centro Coord.	Ações
PO	Marco Zorta	1	28/10/2015	03/11/2015	Aprovado	Não	

ANEXO B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

CEP: Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Santo Amaro (UNISA)

Nome do voluntário: _____

Endereço:_____

Telefone:_____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas por Prof. Dr. Marco Antônio Zonta, pesquisador convidado Universidade Federal de São Paulo, disciplina de Infectologia e Prof. Dr. Carlos R. V. Kiffer, pesquisador professor da disciplina de infectologia da Universidade Federal de São Paulo, e pró-reitor de pós-graduação da Universidade Santo Amaro objetivando firmar acordo escrito mediante o qual, o voluntário da pesquisa autoriza sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho:

ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE CONDIÇÕES RELATIVAS À SAÚDE DAS MULHERES RIBEIRINHAS DOS AFLUENTES DO RIO AMAZONAS

2. Objetivo(s):

Verificar a prevalência de lesões precursoras do câncer do colo uterino e infecção pelo Papilomavírus humano e agentes sexualmente transmissíveis nas mulheres da população ribeirinha de afluentes dos Rios Negro e Madeira atendidas pelo programa humanitário Doutores das Águas.

3. Justificativa:

A população ribeirinha destas regiões amazônicas possui estrutura sócio demográfica muito dependente da condição de liderança e de trabalho femininas. Segundo observações do Programa, é comum haver mulheres liderando as comunidades ribeirinhas, uma vez que muitos homens emigram das respectivas comunidades em busca de melhores condições de sustento. Por outro lado, também é crescente a preocupação do Programa com a quantidade de mulheres atendidas com queixas relativas ao aparelho genital e de gravidez em faixas etárias mais baixas. Sabendo

que existem poucas informações estruturadas sobre condições prevalentes e relevantes relativas especificamente à saúde da mulher, entende-se que o atual projeto ajudará a mapear as condições infecciosas mais prevalentes em população feminina desta região, auxiliando no delineamento de políticas de prevenção e tratamento futuras de forma mais sólida e permitindo melhor atendimento e condições de saúde a estas mulheres.

4. Método:

Estou realizando um estudo para determinar o risco de infecção por Papilomavírus humano e doenças sexualmente transmissíveis na população feminina que habita a região ribeirinha dos afluentes do rio Amazonas. Os procedimentos para este trabalho serão uma entrevista, preenchimento de questionários epidemiológicos elaborados e compostos por questões relativas a práticas sexuais e outros fatores de risco associados a transmissão sexual e coleta do material cervical. A anamnese e a coleta do material serão realizadas pelos profissionais envolvidos no projeto sob a supervisão do Prof. Dr. Marco Antônio Zonta. A coleta do material (raspado da região cervical) será realizada por profissionais treinados e supervisionados pelo Prof. Dr. Marco Antônio Zonta. Este material será submetido a avaliação citopatológica e molecular para a identificação das possíveis lesões presentes nas células do colo uterino e possíveis agentes biológicos associados.

5. Risco Mínimo e benefícios:

O risco será mínimo para você, podendo apenas haver um desconforto no ato da coleta dos exames, quando introduzido o espéculo e a escova vaginal. Em benefício, você receberá os laudos com os resultados dos exames dos locais coletados e em caso de algum tipo de alteração, você será encaminhada ao agente de saúde responsável pelo programa o qual te encaminhará para acompanhamento e tratamento.

6. Informações:

Todos os resultados dos exames citológicos serão entregues aos responsáveis pelo Projeto Doutores da Águas, os quais, em caso de exame positivo para lesões celulares e/ou infecção por HPV, você receberá tratamento e acompanhamento médico.

7. Métodos Alternativos (se existirem):

Não aplicável.

8. Retirada do Consentimento e orientação de despesas:

Em qualquer fase da pesquisa, sem penalização alguma a Sra. tem toda a liberdade de retirar o seu consentimento e deixar de participar do estudo. Neste caso a Sra. poderá continuar seu tratamento na Instituição sem problemas (quando for o caso). A Sra. não receberá nenhuma compensação financeira relacionada à sua participação neste estudo. Da mesma forma, a Sra. não terá nenhuma despesa pessoal em qualquer fase do estudo, incluindo exames e consultas. Durante o período de sua participação, se houver qualquer despesa adicional de sua parte em relação a condução ou alimentação, a Sra. será reembolsada.

9. Aspecto Legal:

Elaborados de acordo com as diretrizes e normas regulamentadas de pesquisa envolvendo seres humanos atendendo à Resolução n.º 466, de 12 de dezembro de 2012, do Conselho Nacional de Saúde do Ministério de Saúde – Brasília – DF.

10. Garantia do Sigilo:

Todos os dados pessoais serão analisados em conjunto com as de outros voluntários, sendo mantidos sobre sigilo absoluto, sendo a identidade e localização dos participantes preservados e arquivados sob a responsabilidade do pesquisador principal. Os resultados epidemiológicos e populacionais serão publicados em revistas científicas.

11. Formas de Ressarcimento das Despesas decorrentes da Participação na Pesquisa:

Não se aplica.

12. Local da Pesquisa:

Coleta de Material: População ribeirinha dos afluentes do rio Amazonas.

Análise Citológica: LabPap – Laboratório de Pesquisa da Universidade de Santo Amaro/Laboratório IN CITO – Citologia Diagnóstica Ltda.

Análise Molecular: Laboratório de Pesquisa da Universidade de Santo Amaro /Laboratório Especial de Microbiologia Clínica - LEMC/UNIFESP.
Análise Estatística – Disciplina de Epidemiologia da Universidade Federal de São Paulo.

13. Nome Completo e telefones dos Pesquisadores (Orientador e Alunos) para Contato: Prof. Dr. Marco Antônio Zonta (Tel: 55112281-9460/5511985886059).

14. Endereço do Comitê de Ética da Unifesp
Rua Botucatu, 572, 1º andar – Conjunto 14 -CEP: 04023-061 – São Paulo/SP
tel: (11) 5571-1062 fax: (11) 5539-7162.

15. Consentimento Pós-Informação:
Eu,_____, acredito ter sido suficientemente informado a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo - **ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE CONDIÇÕES RELATIVAS À SAÚDE DAS MULHERES RIBEIRINHAS DOS AFLUENTES DO RIO AMAZONAS**
Eu discuti com o Dr. Marco Antônio Zonta sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas e que tenho garantia do acesso a tratamento hospitalar quando necessário. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo ou perda de qualquer benefício que eu possa ter adquirido, ou no meu atendimento neste Serviço.
* Não assine este termo se ainda tiver alguma dúvida a respeito.

Manaus, de de 201_.

Nome (por extenso):_____
Assinatura:_____

1ª via: Instituição

2ª via: Voluntário

Caso necessite informações sobre a pesquisa entrar em contato com:

Prof. Dr. Marco Antônio Zonta – PAPLAB – Laboratório de Pesquisa e Citodiagnóstico Universidade de Santo Amaro – Campus I. R. Prof. Enéas de Siqueira Neto Jardim das Imbuias, São Paulo - SP, 04829-240. Tel: 2141-8660

Laboratório IN CITO – Citologia Diagnóstica Ltda. Av: Tucuruvi, 259, conj 14. São Paulo – SP, 02350-100: Tel 2281-9460

TERMO DE ASSENTIMENTO PARA MENORES DE IDADE

Você está sendo convidado para participar da pesquisa intitulada: **ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO SOBRE CONDIÇÕES REALATIVAS À SAÚDE DA MULHER EM POPULAÇÃO RIBEIRINHA DO AMAZONAS ATENDIDA PELO PROGRAMA HUMANITÁRIO ASSISTENCIAL "DOUTORES DAS ÁGUAS**. Seus pais ou responsáveis permitiram que você participe.

A pesquisa tem como objetivo principal verificar a prevalência de lesões precursoras do câncer do colo uterino e infecção pelo Papilomavírus humano e agentes sexualmente transmissíveis nas mulheres da população ribeirinha de afluentes dos Rios Negro e Madeira atendidas pelo programa humanitário Doutores das Águas.

As adolescentes que irão participar desta pesquisa têm de 14 a 17 anos de idade.

Você não precisa participar da pesquisa se não quiser, é um direito seu e não terá nenhum problema se desistir.

A pesquisa será feita nos povoados da região ribeirinha dos afluentes do rio Amazonas, onde as adolescentes se submeterão a uma coleta de exame ce citologia cervicovaginal, o qual se fará um raspado do colo do útero com uma escova de cerdas plásticas, material este descartável e seu uso é considerado (a) seguro (a), mas é possível ocorrer risco mínimo de desconforto na hora da introdução do espéculo vaginal.

Mas há coisas boas que podem acontecer como como o exame preventivo do câncer do colo do útero e pesquisa de agentes que podem causar doenças sexualmente transmissíveis.

Ninguém saberá que você está participando da pesquisa; não falaremos a outras pessoas, nem daremos a estranhos as informações que você nos der. Os resultados da pesquisa vão ser publicados, mas sem identificar as crianças que participaram.

Se você tiver alguma dúvida, você pode me perguntar. Eu escrevi os telefones na parte de cima deste texto.

_____ _____

Assinatura do menor Assinatura do (a) responsável

_____

Assinatura do pesquisador (A)

ANEXO C – Questionário Sócio demográfico

Ficha de Anamnese

Número:
Iniciais:
Data da entrevista____/_____/_____
Data da colheita exames:____/____/_____
Idade? |__|__| anos
Escolaridade (em anos de estudo completos): _____

Qual é seu estado marital?
1. Solteira
2. Casada/Vive junto maritalmente
3. Separada /Divorciada
4.Viúva

Profissão:_____
Renda familiar:
1. Até 1 salário mínimo
2. De 1 a 3 SM
3. De 3,1 a 5 SM
4. Mais de 5 SM

Número de pessoas que habitam em sua casa? _____

USO DE CIGARROS E DROGAS
Você fuma? 1. Sim 2. Não

Quantos cigarros?
1. Irregularmente, de tempo em tempo
2. Menos de 5 cigarros por dia
3. De 5 à 20 cigarros por dia
4. Mais de 20 cigarros por dia (mais de um maço)

Se não, você já fumou?
1. Sim, 1 ou 2 vezes
2. Sim, regularmente
3. Não, nunca

Durante a semana que passou, você bebeu alguma bebida alcóolica (cerveja, vinho, aperitivos,
etc)?
1. Não
2. Uma vez
3. Várias vezes
4. Ficou bêbada

Você utiliza algum medicamento do tipo?
1. Para dormir
2. Para ansiedade e stress
3. Antidepressivos
4. Excitantes
5. Não

Se sim, qual? _____

Você já utilizou algum outro tipo de droga?
1. Não
2. Cola, éter
3. Cocaína
4. Crack
5. Remédios
6. Outras_____

Você já utilizou droga injetável?
1. Sim
2. Não
3. NR

INFORMAÇÃO CONTRACEPTIVA

Você utiliza algum método contraceptivo?
1. Pílula
2. Preservativo
3. DIU
4. Muco cervical/billings
5. Temperatura
6. Tabela
7. Diafragma
8. Pílula do dia seguinte
9. Preservativo feminino
10. Não

Você e seu parceiro utilizam preservativos?
1. Sim
2. Não

Se sim, com que frequência vocês fazem uso do preservativo?
1. Sempre
2. Às vezes
3. Raramente
4. Nunca

HISTÓRIA SEXUAL E REPRODUTIVA

Qual era sua idade quando você teve a primeira relação sexual?

|__|__| anos

Qual era a idade de seu parceiro/a?
|__|__| anos

Você tem ou já teve relação sexual anal?
1. Sim
2. Não
3. NR

Você já teve relação sexual com outra mulher?
1. Sim
2. Não
3. NR

Em média, quantas relações você tem (ou tinha) por semana?
|__|__|__|

Quantos parceiros sexuais masculinos você já teve na vida?
|__|__|__|

Quantos parceiros sexuais masculinos você teve nos últimos 12 meses?
|__|__|__|

Você j á recebeu dinheiro para ter relações sexuais?
1. Sim
2. Não
3. NS

Já lhe aconteceu de ser forçada a ter relação sexual contra sua vontade?
1. Sim
2. Não
3. NR

Se sim, com que idade?
|__|__|

Isto se repetiu?
1. Sim
2. Não
3. NR

Se sim, quantas vezes?
|__|__|__|

Quem foi a pessoa?
1. Alguém de sua família, um adulto
2. Alguém de sua família, um jovem
3. Um conhecido
4. Um desconhecido

5. Várias pessoas

Você já engravidou?
1. Nunca
2. Uma vez
3. Várias vezes

Se sim, qual era sua idade na primeira gravidez?
|__|__| anos

Número: filhos ( ) Abortos espontâneos ( ) Abortos provocados ( )

Você está grávida?
1. sim
2. Não

SAÚDE, DST E AIDS

Qual foi a última vez que você fez exame ginecológico (preventivo)?
_____

Você sabe dizer se você já teve alguma doença transmitida sexualmente? 1. Sim
2. Não

Se sim, qual? _____

Como você descobriu essa doença/infecção:
1. Seu parceiro lhe disse que estava infectado
2. Você apresentou sintomas que a levaram procurar um serviço de saúde.
3. Durante uma consulta de rotina ou por outro motivo

Na ocasião dessa doença você procurou:
1. Ninguém
2. Um médico/ Unidade do PSF
3. Uma farmácia
4. Serviço de DST

Você avisou a seu parceiro que você tinha uma DST?
1. Sim
2. Não

Após o diagnóstico da DST você utilizou mais frequentemente o preservativo?
1. Sim
2. Não

Após o diagnóstico da DST você reduziu sua atividade sexual?
1. Sim
2. Não

Você saberia dizer se seu parceiro:
1. Tem outras parceiras
2. Usa drogas
3. Já esteve preso
4. História de DST
5. É HIV positivo
6. Outras _____

Você tem algum dos seguintes sintomas?
1. Dor pélvica
2. Sangramentos genitais frequentes
3. Coceiras na vagina
4. Corrimentos
5. Adenopatia inguinal (ínguas na virilha)
6. Ardência ao urinar
7. Ferida genital
8. Outras: _____

Observações: