



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO  
BIOLOGIA DE AGENTES INFECCIOSOS E PARASITÁRIOS

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* E *TREPONEMA PALLIDUM* NAS ALDEIAS INDÍGENAS, BAKAJÁ, APYTEREWA, XINGU E MROTDIDJÂM, ALTAMIRA, PARÁ, BRASIL.**

GLENDIA ROBERTA OLIVEIRA NAIFF FERREIRA

Belém-Pará  
2010

GLENDIA ROBERTA OLIVEIRA NAIFF FERREIRA

**SOROEPIDEMIOLOGIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* E *TREPONEMA PALLIDUM* NAS ALDEIAS INDÍGENAS BAKAJÁ, APYTEREWA, XINGU E MROTIDJÂM, ALTAMIRA, PARÁ, BRASIL.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientadora: Profa. Dra. Marluísa de Oliveira  
Guimarães Ishak

Belém – Pará

2010

GLENDIA ROBERTA OLIVEIRA NAIFF FERREIRA

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* E *TREPONEMA PALLIDUM* NAS ALDEIAS INDÍGENAS BAKAJÁ, APYTEREWA, XINGU E MROTIDJÃM, ALTAMIRA, PARÁ, BRASIL.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários.

Orientadora:                    Profª. Dra. Marluísa de Oliveira Guimarães Ishak  
  Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Banca Examinadora:        Prof. Dr. Luiz Fernando Almeida Machado  
  Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Prof. Dr. Ricardo Ishak  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Profª. Dra. Karla Tereza Silva Ribeiro  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Profª. Dra. Antônia Vieira (suplente)  
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA

Belém, 27 de outubro de 2010

## EPÍGRAFE

“Filho meu, se aceitares as minhas palavras e esconderes contigo os meus mandamentos, para fazeres atento à sabedoria o teu ouvido e para inclinares o coração ao entendimento, e, se clamares por inteligência, e por entendimento alçares a voz, se buscares a sabedoria com a prata e como a tesouros escondidos a procurares, então, entenderás o temor do SENHOR e acharás o conhecimento de Deus. Porque o SENHOR dá a sabedoria e da sua boca vem a inteligência e o entendimento. Ele reserva a verdadeira sabedoria para os retos; é escudo para os que caminham na sinceridade, guarda as veredas do juízo e conserva o caminho dos seus santos. Então, entenderás justiça, juízo e equidade, todas as boas veredas. Porquanto a sabedoria entrará no teu coração, e o conhecimento será agradável à tua alma.” Pv 2. 1-10.

“Este trabalho é consagrado ao Senhor meu Deus.

E dedicado a minha família.”

## AGRADECIMENTOS

Te agradeço Senhor por toda trajetória percorrida ao longo deste curso. Desde a especialização, que me deu base para o mestrado; nos estudos para a prova de seleção, aprovação e a conclusão desta dissertação; por conseguir conciliar estudo e trabalho, sempre com dedicação.

Te agradeço Senhor por Teu maravilhoso amor e misericórdia, pela força nos momentos difíceis. Agradeço pelas pessoas que estiveram ao meu lado para a realização deste trabalho.

Agradeço a minha família, minha querida mãe, irmão e padasto por sempre estarem dispostos a me ajudar, por seu carinho e paciência. Aos meus queridos amigos Viviane, Wilson e Gabriel Pereira pelo apoio e carinho nos momentos alegres e nos difíceis.

A minha querida orientadora Profa. Dra. Marluísa Ishak que me proporcionou ensinamentos tão valiosos que dificilmente são encontrados em livros, mas somente pessoas com muita sabedoria são capazes de ensinar.

As minhas queridas colegas de curso e laboratório, Núbia Caroline e Juliana Abreu, por estarem sempre tão dispostas a dividir um pouco do seu tempo para me acompanhar no laboratório. Aos colegas de laboratório pela disponibilidade em ajudar orientando às rotinas do laboratório.

Ao PPG-BAIP/ICB/UFGA e seus professores por terem me propiciado tão valioso conhecimento e ajuda no dia a dia do laboratório, dedicando e dividindo seu tempo e conhecimento, principalmente ao Prof. Dr. Ricardo Ishak, que sempre me ouviu, desde a época da especialização.

Aos queridos professores da especialização em microbiologia/ICB/UFGA, da qual tenho muito orgulho de ter cursado, pois me deu base teórica para cursar o mestrado com tranquilidade e conhecimento.

A Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará por investir na educação de seus servidores.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	9
<b>ABSTRACT</b>	10
<b>1 INTRODUÇÃO</b>	11
1.1 <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> E <i>CHLAMYDIA PNEUMONIAE</i> .....	11
1.1.1 <b>Histórico</b> .....	11
1.1.2 <b>Classificação</b> .....	13
1.1.3 <b>Características Estruturais e Morfológicas</b> .....	14
1.1.4 <b>Ciclo de Desenvolvimento</b> .....	16
1.1.5 <b>Características Genômicas</b> .....	18
1.1.6 <b>Manifestações Clínicas das Infecções por <i>Chlamydia trachomatis</i></b> .....	20
1.1.6.1 Tracoma.....	20
1.1.6.2 Infecções Neonatais.....	21
1.1.6.3 Linfogranuloma Venéreo.....	22
1.1.6.4 Outras Infecções Sexualmente Transmissíveis.....	23
1.1.7 <b>Manifestações Clínicas das Infecções por <i>Chlamydia pneumoniae</i></b> .....	25
1.1.8 <b>Epidemiologia das Infecções por <i>Chlamydia trachomatis</i></b> .....	26
1.1.8.1 Modos de Transmissão.....	30
1.1.9 <b>Epidemiologia das Infecções por <i>Chlamydia pneumoniae</i></b> .....	30
1.1.9.1 Modos de Transmissão.....	32
1.1.10 <b>Medidas de Prevenção e Controle</b> .....	32
1.1.10.1 Medidas de Prevenção e Controle para <i>Chlamydia trachomatis</i> ....	32

1.1.10.2	Medidas de Prevenção e Controle para <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	33
1.1.11	<b>Diagnóstico Laboratorial das Infecções por <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i></b> .....	34
1.1.11.1	Técnicas de Detecção Direta.....	34
1.1.11.2	Técnicas de Detecção Indireta.....	37
1.1.11.3	Técnicas Moleculares.....	38
1.2	<b>TREPONEMA PALLIDUM SUBESPÉCIE PALLIDUM</b> .....	40
1.2.1	<b>Histórico</b> .....	40
1.2.2	<b>Classificação</b> .....	41
1.2.3	<b>Características Estruturais e Morfológicas</b> .....	42
1.2.4	<b>Patogenia</b> .....	42
1.2.5	<b>Características Genômicas</b> .....	44
1.2.6	<b>Manifestações Clínicas das Infecções por <i>T. pallidum</i></b> .....	45
1.2.7.	<b>Epidemiologia das Infecções por <i>T. pallidum</i></b> .....	48
1.2.7.1	Modos de Transmissão.....	50
1.2.8	<b>Medidas de Prevenção e Controle</b> .....	51
1.2.9	<b>Diagnóstico Laboratorial das Infecções por <i>T. pallidum</i></b> .....	51
1.2.9.1	Métodos Diretos.....	52
1.2.9.2	Testes Não Treponêmicos.....	53
1.2.9.3	Testes Treponêmicos.....	54
1.3	<b>OBJETIVOS</b> .....	59
1.3.1	<b>Objetivo Geral</b> .....	59
1.3.2	<b>Objetivos Específicos</b> .....	59

<b>2</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	60
2.1	POPULAÇÃO ESTUDADA .....	60
2.2	OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	60
2.3	SOROLOGIA.....	60
2.3.1	Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para <i>Chlamydia</i> .....	61
2.3.2	Microimunofluorescência para <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>C pneumoniae</i> .....	62
2.3.3	Ensaio Imunoenzimático para Sífilis.....	63
2.3.4	Reaginina Plasmática Rápida (RPR).....	64
2.4	MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	65
<b>3.0</b>	<b>RESULTADOS</b> .....	66
3.1	CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA.....	66
3.2	SOROLOGIA.....	68
3.2.1	Prevalência de anticorpos para <i>Chlamydia</i> .....	68
3.2.2	Soroprevalência de anticorpos para <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i> .....	70
3.2.3	Soroprevalência de anticorpos para o <i>Treponema pallidum</i>	72
<b>4.0</b>	<b>DISCUSSÃO</b> .....	74
<b>5.0</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	83
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	84

## RESUMO

As bactérias do gênero *Chlamydia* estão associadas à diversas doenças, como cegueira, infecções genitais e pneumonia. Existem poucos dados sobre como a *Chlamydia* e o *Treponema pallidum* afetam indígenas na Amazônia brasileira. Este estudo objetivou determinar a soroprevalência das infecções pela *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* e *Treponema pallidum* nas aldeias indígenas Bakajá, Apyterewa, Xingu e Mrotdidjãm, no município de Altamira, Pará, Brasil. O estudo incluiu 270 amostras de sangue coletadas no ano de 2007. A detecção de anticorpos das classes IgM e IgG anti-*Chlamydia* foi realizada empregando-se o ensaio imunoenzimático (ELISA), e selecionada de forma aleatória amostragem de 36, entre os positivos, para determinar a sorotipagem pela microimunofluorescência. Para detecção de anticorpos anti-*T. pallidum* foi utilizado um teste treponêmico (ELISA) e as amostras positivas foram submetidas a um teste não treponêmico (RPR). A prevalência geral de anticorpos anti-*Chlamydia* foi de 26,7%, com prevalência de 100% para *C. trachomatis* entre as amostras testadas pela MIF. Para a *C. pneumoniae* a prevalência foi de 61,1% e a prevalência de anticorpos contra *Treponema pallidum* foi baixa. As bactérias do estudo circulam nas comunidades indígenas da Amazônia brasileira estudada, o que requer uma resposta urgente das autoridades de saúde pública, pois estas bactérias podem causar doenças graves, mas são sensíveis a tratamento específico, quando diagnosticadas adequadamente.

## ABSTRACT

Bacteria from the genus *Chlamydia* are associated with several diseases including blindness, reproductive tract infections and pneumonias. There is little data about *Chlamydia* and *Treponema pallidum* affects on native Indian population in the Brazilian Amazon region. This study determined the prevalence of infections by *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* and *Treponema pallidum* in Altamira, Para- Brazil among the native Indian populations Bakaja, Apyretewa, Mrotidjam, Xingu and included 270 plasma samples collected in 2007; they were tested using an enzyme immunoassay (ELISA) for the detection of IgM and IgG antibodies to *Chlamydia* and random samples (36) was chosen from the positives for serotyping through a microimmunofluorescence assay (MIF). Antibodies anti-*Treponema* were detected using a treponemal (ELISA) test and the positive samples were subjected to a non-treponemal test (RPR). The overall prevalence of antibodies to *Chlamydia* was 26.7% with a 100% prevalence of *C. trachomatis* tested through MIF. Prevalence of antibodies to *C.pneumoniae* was 61.1% and the prevalence of antibodies to *T. pallidum* was low. This study of bacteria circulating in the Brazilian Amazon indigenous communities confirms that it is necessary for an urgent response from public health authorities, because these bacteria's can cause serious illness. With adequate diagnoses these bacteria's can be treated because they are sensitive to specific treatment.

## 1. INTRODUÇÃO

### 1.1 *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* E *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*

#### 1.1.1 Histórico

O tracoma é reconhecido por milênios como causa de cegueira, sendo a mais antiga referência associada com infecção por *Chlamydia trachomatis*. Foi descrito há mais de 3.500 anos nos papiros egípcios e nas antigas escrituras chinesas (Schachter, 1990; Solomon *et al.*, 2004). Existem registros vagos de uma oftalmia egípcia, com casos associados ao tracoma, que acometeu soldados franceses, turcos e britânicos durante as campanhas no Egito, no período de 1798 a 1802 e em 1807 (Meyerhof, 1932).

Em 1700, o linfogranuloma venéreo, também associado à *Chlamydia trachomatis*, foi descrito pela primeira vez. Enquanto, que a psitacose foi descrita na Suíça, somente em 1870 (Schachter, 1990). Até 1879, acreditava-se que todos os casos de uretrite aguda eram infecções gonocócicas e, somente com o advento do método de Gram pode-se distinguir os casos de infecção gonocócica e não-gonocócica (Oriel, 1996).

Em 1907, Ludwig Halberstädter e Stanislaus Von Prowazek descreveram a presença de inclusões intracitoplasmáticas em raspados de células de conjuntiva de macacos, experimentalmente infectados com *Chlamydia* (*apud* Oriel, 1996). Posteriormente, eles descreveram inclusões, aparentemente idênticas, em células de conjuntiva de alguns neonatos com oftalmia não-gonocócica. Estudos posteriores mostraram a presença de inclusões nas células da uretra de homens, bem como na cérvice de mães de crianças com oftalmia não-gonocócica (Oriel, 1996). O agente etiológico do

tracoma não foi isolado até 1957, quando T'ang e colaboradores, em Pequim, completaram com sucesso o primeiro isolamento usando ovos embrionados, que haviam sido inoculados com raspados de conjuntiva de pacientes com tracoma (T'ang *apud* Solomon *et al.*, 2004).

Originalmente, o microrganismo foi considerado protozoário, e mais tarde, vírus (Schachter, 1990). Apenas na década de 60, estudos sobre a morfologia, natureza química e metabolismo, justificaram o reconhecimento do microrganismo como bactéria. Em 1966, após receber diversos nomes, Leslie Page, com base em estudos das características da bactéria, propôs classificar o microrganismo responsável pelo tracoma, linfogranuloma venéreo e psitacose, em um único gênero, *Chlamydia*, o qual havia sido anteriormente denominado por Jones, Rake e Stearns, em 1945. Em 1968, foram estabelecidas duas novas espécies, *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia psittaci*, para o gênero *Chlamydia* (Page, 1966; 1968).

A *Chlamydia pneumoniae* foi inicialmente denominada cepa TWAR pelo laboratório que realizou o isolamento; considerada um novo sorotipo de *Chlamydia psittaci*, foi isolada a partir da conjuntiva de uma criança durante um estudo da vacina contra o tracoma, em Taiwan, no ano de 1965 (Kuo *et al.*, 1986). Em 1983, foi obtido o primeiro isolado respiratório de um estudante universitário com faringite em Seattle, Washington, e desde então, é considerada uma importante bactéria respiratória. Sendo estabelecida, em 1989, como uma terceira espécie, denominada de *Chlamydia pneumoniae* (Grayston *et al.*, 1989).

No entanto, uma nova taxonomia das clamídias foi proposta por Everett *et al.* (1999) baseada na similaridade da sequência do rRNA e análise filogenética, aliada a diferenças bioquímicas das quatro espécies de clamídia. Com esta reclassificação a ordem Chlamydiales teria quatro famílias: Chlamydiaceae, Parachlamydiaceae, Waddliacea e Simkaniaceae. Com a família Chlamydiaceae tendo dois novos gêneros: *Chlamydophila* e *Chlamydia* e um total de nove espécies. Entretanto, não houve um consenso para que tais modificações fossem efetivadas, não sendo aceitas, por outros pesquisadores (Schachter *et al.*, 2001).

No Brasil, relata-se que o tracoma teria sido introduzido a partir do século XVIII, no Nordeste, e o mais conhecido foco foi o do Cariri, no Sul do estado do Ceará. Outros dois focos importantes para a disseminação da doença ocorreram em São Paulo e Rio Grande do Sul, a partir da segunda metade do século XIX. Atualmente, é encontrado em todo o território brasileiro (Brasil, 2001).

### **1.1.2 Classificação**

As clamídias formam a ordem Chlamydiales, compõe a família, Chlamydiaceae, e estão incluídas em um único gênero, *Chlamydia*, inicialmente descrito com duas espécies, *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia psittaci* (Page, 1966; 1968; Storz & Page, 1971). Posteriormente, análises por métodos sorológicos e moleculares conduziram a diferenciação de *Chlamydia pneumoniae* (Grayston *et al.*, 1989) e também de *Chlamydia pecorum* (Fukushi & Hirai, 1992).

As espécies de clamídia podem causar uma variedade de doenças em humanos e animais. A espécie *C. trachomatis* possui 19 sorotipos responsáveis por diferentes doenças em humanos. Os sorotipos A, B, Ba e C são associados ao tracoma. Os sorotipos D a K estão associados a infecções sexualmente transmissíveis (IST) e os sorotipos L1, L2/L2b e L3, associados ao linfogranuloma venéreo (LGV) (Moulder, 1991; Stark *et al.*, 2007).

As cepas de *C. psittaci* foram isoladas de seres humanos e um número muito grande de aves e mamíferos, em que produzem várias doenças (Moulder, 1991). A *C. pneumoniae* é uma cepa única, responsável por patologias respiratórias, aterosclerose e doenças cardiovasculares em humanos (Grayston *et al.*, 1989). A espécie *C. pecorum* causa doenças em bovinos e ovinos (Fukushi & Hirai, 1992).

### **1.1.3 Características Estruturais e Morfológicas**

As clamídias são bactérias intracelulares obrigatórias. São imóveis, Gram-negativas, possuem DNA e RNA e estão amplamente distribuídas no reino animal (Kuo *et al.*, 1986; Schachter, 1990).

A parede celular das clamídias se assemelha à das bactérias Gram-negativas, porém não possuem peptidoglicano (Caldwell *et al.*, 1981). Estas bactérias apresentam duas membranas, sendo uma membrana externa com dupla camada e uma membrana citoplasmática (Friis, 1972). A integridade estrutural da membrana externa é em parte mantida pela interação entre ligações dissulfídicas e a proteína principal de membrana externa (MOMP) (Hatch *et al.*, 1986).

No complexo da membrana externa das clamídias, a MOMP corresponde a 60% do peso total da membrana. Embora, a MOMP desempenhe uma importante função estrutural, também faz parte da estrutura antigênica da clamídia, já que é o principal antígeno de superfície exposto, sendo espécie e sorotipo-específico. O lipopolissacarídeo (LPS) é outro antígeno importante presente neste complexo, sendo gênero-específico (Caldwell *et al.*, 1981; Solomon *et al.*, 2004).

As clamídias são dimórficas, funcionalmente e morfológicamente distintas (Peeling & Brunham, 1996). O corpúsculo elementar (CE) que é adaptado para a sobrevivência extracelular, é a forma infectante, metabolicamente inerte, esférico e mede cerca de 0,3  $\mu\text{m}$ . É rodeado por uma membrana citoplasmática e uma membrana externa rígida, que confere a vantagem de tornar o corpúsculo elementar mais estável, osmoticamente, e resistente à estresse mecânico no ambiente extracelular (Tamura *et al.*, 1971; Hatch *et al.*, 1986).

O corpúsculo reticular (CR), não infectante, corresponde à forma intracelular é metabolicamente ativo e mede cerca de 0,5 a 1,0  $\mu\text{m}$ . Dispõe das membranas descritas na forma infectante, porém com diferenças estruturais que conferem plasticidade em sua parede celular, resultando no seu pleomorfismo (Tamura *et al.*, 1971; Friis, 1972; Hatch *et al.*, 1986).

Apesar de ter características estruturais, na membrana externa, similares às demais espécies do gênero *Chlamydia*, a *C. pneumoniae* difere na morfologia do CE, apresentando uma morfologia única, tipicamente piriforme, com o citoplasma redondo, e um grande espaço periplasmático. Contudo, o CR

de *C. pneumoniae* não apresenta diferenças com as demais espécies (Chi *et al.*, 1987; Campbell *et al.*, 1990).

#### 1.1.4 Ciclo de Desenvolvimento

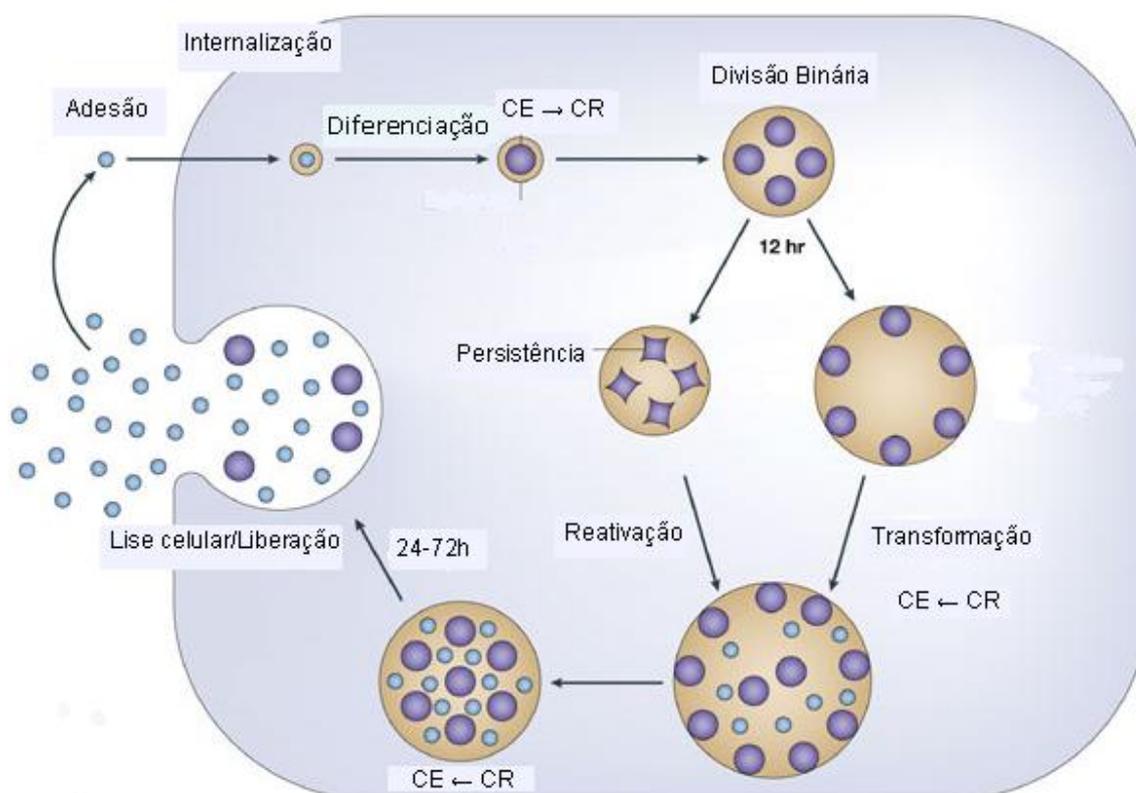
A entrada da clamídia em células hospedeiras foi dividida em adesão e internalização (Moulder, 1991). A adesão do CE à célula do hospedeiro inicia a infecção pela clamídia, através da interação com componentes proteináceos da célula (Hybiske & Stephens, 2007a). Kleba e colaboradores (2002) demonstraram que a fibronectina é um mediador deste processo de adesão.

No mecanismo de internalização dos CE, Hybiske & Stephens (2007a) demonstraram a participação de vias específicas, como o envolvimento de clatrina, podendo também envolver outros componentes celulares. Na internalização, não há fusão lisossomal, ocorrendo um mecanismo semelhante à endocitose, permitindo que o corpúsculo elementar se estabeleça na inclusão.

Após a entrada, a clamídia sofre diversas mudanças características (Figura 1). A reorganização do CE e diferenciação para CR, que se inicia com a perda da infectividade e síntese de proteínas, é seguida pela redução das ligações dissulfídicas e captação de ATP da célula do hospedeiro (Moulder, 1991). O CR aumenta de volume, o nucleóide que antes era denso, apresenta alterações tornando-se difuso e fibrilar. O CR no interior da inclusão sofre divisão binária, por volta de 12 horas após a entrada da bactéria, e durante esse processo são observadas formas intermediárias, até a completa

transformação em CE, dentro de 24 a 72 horas (Friis, 1972; Hybiske & Stephens, 2007b). O término do ciclo de desenvolvimento varia de acordo com a espécie e sorotipo de clamídia (Moulder, 1991).

O mecanismo de saída da bactéria, da célula do hospedeiro, pode ser mediado pelos processos de lise da inclusão e da célula, ou através da liberação da inclusão sem rompimento da membrana celular. Estes mecanismos são independentes do tipo de célula do hospedeiro (Hybiske & Stephens, 2007b).



**Figura 1** – Ciclo de desenvolvimento das clamídias (Adaptado de <http://www.nature.com>).

A clamídia é capaz de evadir-se dos mecanismos de defesa do hospedeiro. A sobrevivência dentro da célula do hospedeiro ocorre através do

impedimento da fusão do lisossomo com o vacúolo onde elas se encontram (Hogan *et al.*, 2004).

A bactéria pode está presente nos macrófagos e células dendríticas (CD), em que pode sobreviver, multiplicar e completar o ciclo de desenvolvimento no interior destas células, por vários dias. Contudo, por vezes, as formas desenvolvidas são anormais. Apesar da persistência, verificou-se que as clamídias não interferem com a capacidade das CD de apresentar antígenos. As clamídias recuperadas destas CD, também têm a capacidade de causar infecção *in vivo* e *in vitro*. Nos casos de tracoma e LGV, a recorrência ocorre mesmo após longo período de tratamento (Wolf *et al.*, 2005; Rey-Ladino *et al.*, 2007).

### 1.1.5 Características Genômicas

A comparação dos genomas de *C. trachomatis* sorotipos A, D e L2 isolados de tecido ocular, genital e de um bulbo inguinal, respectivamente, evidenciou um elevado grau de semelhança (Stephens *et al.*, 1998; Carlson *et al.*, 2005; Thomson *et al.*, 2008).

O genoma de *C. trachomatis*, sorotipo D, é formado por um cromossoma circular, com 1.042.519 pares de bases (pb) que consiste em 58,7% de adenina e timina (Stephens *et al.*, 1998). No genoma de clamídia, sorotipo A, o cromossoma circular apresenta 1.044.459 pb e 41,3% de guanina e citosina (Carlson *et al.*, 2005). O genoma de *C. pneumoniae*, cepa J138, consiste de um cromossoma circular de 1.226.565 pb, das quais 40,7% correspondem a guanina e citosina (Shirai *et al.*, 2000).

Análise do genoma do sorotipo A resultou na identificação de um total de 920 regiões de matriz de leitura aberta (ORF), das quais 08 são do plasmídeo de *C. trachomatis* (Carlson *et al.*, 2005). No sorotipo D, existem 894 genes que codificam proteínas, com 604 (68%) codificando proteínas de função conhecida (Stephens *et al.*, 1998). No genoma de *C. pneumoniae* existem 1.072 genes codificadores de proteínas (Shirai *et al.*, 2000).

Além do cromossoma, as clamídias comumente possuem um elemento genético extracromossômico de 7.493 pb, o plasmídeo pCT (Stephens *et al.*, 1998). Todavia, o elemento genético extracromossômico não foi identificado na espécie *C. pneumoniae* (Shirai *et al.*, 2000).

As clamídias apresentam enzimas, que respondem por exigências mínimas necessárias para a replicação do DNA, reparação, transcrição e tradução. Os sistemas de reparo e recombinação do DNA estão amplamente representados no genoma desta bactéria, o que indica que as clamídias têm elevada capacidade de recombinação (Stephens *et al.*, 1998). Esta bactéria possui duas helicases da família Sw2/Snf2, que são importantes na estrutura do nucleóide, regulação da transcrição e no reparo (Stephens *et al.*, 1998).

Os genomas dos sorotipos A e D de *C. trachomatis* apresentam 99,6% de similaridade, apesar de possuírem diferenças importantes, que talvez estejam envolvidas no tropismo da bactéria. A maior diferença entre estes sorotipos foi observada ao nível de polimorfismo de nucleotídeo em um número restrito de genes, sendo que os genes com elevado polimorfismo são *ompA* e *pmpF*, que codificam proteínas da membrana externa, a MOMP e proteínas polimórficas da membrana (Pmp), respectivamente (Carlson *et al.*, 2005).

Os genes que codificam as proteínas polimórficas da membrana estão associados com alta frequência de polimorfismo de nucleotídeo (Carlson *et al.*, 2005). A variação genética do gene que codifica a MOMP está, localizada em, 04 domínios variáveis, que são separados por regiões conservadas (Stephens *et al.*, 1987). Na *C. pneumoniae* as 4 regiões variáveis, compartilham poucas similaridades nas sequências com as outras espécies de clamídia (Kuo *et al.*, 1995).

Devido ao alto grau de conservação do plasmídeo, sugeriu-se que este poderia ter uma importante função no crescimento ou replicação das clamídias. No entanto, alguns sorotipos de *Chlamydia trachomatis*, de ocorrência natural, foram isolados sem o plasmídeo (Solomon *et al.*, 2004). Também, foram isolados plasmídeos com uma deleção de 377 pb, de amostras genitais, da Suécia (Ripa & Nilsson, 2007).

### **1.1.6 Manifestações Clínicas das Infecções por *Chlamydia trachomatis***

#### **1.1.6.1 Tracoma**

O tracoma é causado pelos sorotipos A, B, Ba e C de *Chlamydia trachomatis* (Moulder, 1991; Stevens *et al.*, 2004). É uma das principais causas de cegueira e, uma vez que ocorre é irreversível (WHO, 2006).

Na fase aguda, o primeiro sinal é uma inflamação na conjuntiva com a presença de folículos e papilas. Nas manifestações tardias do tracoma, repetidas infecções, causadas por esta bactéria, provocam cicatrizes no interior da parte superior da pálpebra, resultando em deformidade e na sua inversão, denominada de entrópio (Javaloy *et al.*, 2003; Burton, 2007).

O contato dos cílios com a córnea conduz a uma manifestação denominada de triquíase. Devido à presença de cicatrizes na córnea, causadas pela abrasão do contato dos cílios, verificou-se que a duração da triquíase tem associação significativa com presença de opacidade corneana e a perda visual (Melese *et al.*, 2005). No limbo, a substituição de folículos pela cicatriz resulta na formação de depressões chamadas de fossetas de Herbert (*apud* Solomon *et al.*, 2004).

#### 1.1.6.2 Infecções Neonatais

A *C. trachomatis* pode causar infecções no trato respiratório inferior em recém-nascidos (RN) e crianças menores de 06 meses. Entre os sinais e sintomas está a tosse com expectoração, secreção nasal e taquipnéia. A febre, nem sempre, é um sintoma encontrado nesta infecção. E pode haver associação de conjuntivite de inclusão e pneumonia (Chen *et al.*, 2007; Rours *et al.*, 2008). A maioria dos casos pode ocorrer no segundo ou terceiro mês de vida (Schachter, 1990).

A conjuntivite de inclusão, causada por *C. trachomatis*, apresenta como manifestações clínicas o edema palpebral, eritema da conjuntiva e secreção ocular mucopurulenta. Clinicamente, a diferenciação de outros agentes não é possível, o que conduz ao tratamento inadequado. A resolução espontânea pode evoluir com a formação de cicatrizes. O início da sintomatologia pode variar de 05 a 12 dias (Schachter, 1990; Chen *et al.*, 2007; Rours *et al.*, 2008).

Chen e colaboradores (2007) detectaram que 89% dos RN que possuíam infecção pulmonar ou conjuntivite de inclusão haviam nascido de

parto normal e somente 11% de parto cesáreo. Em RN com oftalmia neonatal, causada por *C. trachomatis*, detectaram somente genótipos associados a infecções genitais, sendo o genótipo E, o de maior prevalência (Fermepin *et al.*, 2007).

#### 1.1.6.3 Linfogranuloma Venéreo

O LGV representa infecção invasiva e sistêmica causada pelos sorotipos L1, L2/L2b, L3 de *C. trachomatis* (Mouder, 1991; Stark *et al.*, 2007). O LGV é uma IST, que até recentemente era restrito às regiões em desenvolvimento e raramente encontrado em países industrializados. Entretanto, atualmente surtos de LGV foram descritos em países desenvolvidos (Kropp & Wong, 2005; Spaargaren *et al.*, 2005; Bremer *et al.*, 2006; Van de Laar, 2006; Stark *et al.*, 2007).

O curso clínico do LGV pode ser dividido em três estágios. No primeiro, depois de um período de incubação de 3 a 30 dias, uma lesão primária indolor, auto-limitada, aparece no local de inoculação (prepúcio ou glândula nos homens; e na vulva, parede da vagina e cérvix nas mulheres) e por vezes é despercebida pelo indivíduo (Schachter, 1990; Mabey & Peeling, 2002; Bremer *et al.*, 2006).

No segundo estágio, após semanas da lesão inicial, se desenvolvem linfadenopatias regionais, geralmente unilaterais, caracterizada pela presença de “bubões”, quando os nódulos inguinais são acometidos. Em mulheres, geralmente, o desenvolvimento de linfadenopatia inguinal é menos frequente, sendo os gânglios retroperitoneais os mais acometidos. Nesta fase, podem

ocorrer manifestações sistêmicas como febre, mal-estar geral e artralgia (Schachter, 1990; Aggarwal *et al.*, 2002).

O envolvimento anorretal é caracterizado por graves infecções, com dor retal, úlceras retais, presença de anormalidades na mucosa, corrimento mucopurulento ou com sangue, linfadenopatia inguinal, tenesmo e constipação, com os sintomas persistindo por um período que varia entre 3 a 60 dias (Spaargaren *et al.*, 2005; Van de Laar, 2006; Stark *et al.*, 2007; Vall Mayans *et al.*, 2008).

No terceiro estágio, se não tratado o LGV pode conduzir a fibrose com obstrução linfática que conduz a elefantíase da genitália em ambos os sexos, e formação de fístulas (Aggarwal *et al.*, 2002).

#### 1.1.6.4 Outras Infecções Sexualmente Transmissíveis

As IST no trato urogenital causadas pelos sorotipos D, E, F, G, H, I, J, e K de *C. trachomatis* apresentam características clínicas diversas, incluindo infecções assintomáticas, mais prevalentes em mulheres que em homens, e representam risco não somente para o aparecimento de complicações, mas, também para sustentar a transmissão dentro de uma comunidade (Gao *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2007; CDC, 2008).

Em homens, a infecção por clamídia causa uretrite não-gonocócica e estes tendem a ter micção dolorosa, ardência ao urinar, irritação no prepúcio, corrimento uretral de aspecto claro e epididimite (Bakken *et al.*, 2007a). A co-infecção com *Neisseria gonorrhoeae* é freqüente, sendo este um fator para o desenvolvimento de uretrite pós-gonocócica (Schachter, 1990; Gaydos *et al.*,

2006). Complicações, mais raras, incluem a artrite e síndrome de Reiter nas articulações (Keat *et al.*, 1978).

O curso clínico da infecção em mulheres, com *C. trachomatis*, pode resultar em cervicite que, se não tratada, pode ascender para o trato genitourinário superior e causar endometrite, dor pélvica crônica e doença inflamatória pélvica (DIP), que leva a sequelas como a gravidez ectópica e infertilidade (Quadro 1). Em mulheres, com resultado positivo para clamídia, que foram submetidas ao exame pélvico evidenciou-se cervicite, e os sinais e sintomas mais frequentes são: corrimento mucopurulento proveniente da endocérvice e sangramento endocervical, quando aplicada uma leve pressão (Geisler *et al.*, 2007; CDC, 2008).

**Quadro 1** - Manifestações clínicas e outras doenças associadas à *Chlamydia trachomatis*

<b>Grupo</b>	<b>Síndrome clínica resultante</b>
<b>Homens:</b>	Corrimento uretral (uretrite) Epididimite Proctite Infertilidade
<b>Mulheres:</b>	<b>Cervicite</b> Endometrite Salpingite Doença Inflamatória Pélvica Infertilidade Peri-hepatite (comumente assintomática)
<b>Ambos os sexos:</b>	Faringite Síndrome de Reiter

Fonte: Adaptado de WHO, 2007

O isolamento da bactéria no endométrio está associado com a ocorrência de DIP aguda (Wiesenfeld *et al.*, 2005). E entre 10% a 40% das mulheres com infecção não tratada causada por clamídia desenvolvem doença

inflamatória pélvica sintomática (WHO, 2007). Além disso, estudos verificaram associação entre infecção prévia por *C. trachomatis* e o desenvolvimento de gravidez ectópica e infertilidade (Bakken *et al.*, 2007b; Siemer *et al.*, 2008). O dano tubário pós-infecção é responsável por 30% a 40% dos casos de infertilidade feminina (WHO, 2007).

A clamídia também está associada, apesar de raro, a peri-hepatite e peritonite (Müller-Schoop *et al.*, 1978). Além destes locais, a clamídia pode ser encontrada na uretra, no reto ou faringe (Van de Laar *et al.*, 1996).

#### **1.1.7 Manifestações Clínicas das Infecções por *Chlamydia pneumoniae***

A *C. pneumoniae* é uma bactéria que pode causar infecção respiratória de curso agudo ou brando. Entretanto, também está associada à doença coronariana e cerebrovascular (Campbell *et al.*, 1998; Chedid *et al.*, 2007).

A pneumonia e bronquite são as doenças mais frequentemente associadas a *C. pneumoniae*. O desenvolvimento da doença com sintomas leves é o resultado mais comum da infecção. As manifestações clínicas não são específicas para a infecção pulmonar, causada por esta bactéria, e incluem a tosse, febre, faringite, rouquidão, obstrução nasal, coriza e sibilos (Kuo *et al.*, 1995; Nakashima *et al.*, 2006). Evidências sorológicas de infecção por *C. pneumoniae* são frequentes em pacientes com asma (Costa, 2002; Agarwal & Chander, 2008).

A associação de *C. pneumoniae* com aterosclerose é corroborada pela presença de *C. pneumoniae* em lesões ateroscleróticas na artéria e à

quase ausência da bactéria nos tecidos saudáveis arteriais, também foi isolada de placas ateromatosas coronárias e carótidas (Campbell *et al.*, 1998).

Estudos soroepidemiológicos têm associado os anticorpos contra esta bactéria à doença coronariana, infarto do miocárdio, doença da artéria carótida, doença cerebrovascular e angina *pectoris* (Campbell *et al.*, 1998; Costa, 2002; Jha *et al.*, 2007). Ademais, o DNA de *C. pneumoniae* foi encontrado no líquido cefalorraquidiano de pacientes com esclerose múltipla, sugerindo uma associação entre a bactéria e a doença (Sriram *et al.*, 2005).

#### **1.1.8 Epidemiologia das Infecções por *Chlamydia trachomatis***

A Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou que 92 milhões de casos novos de infecção por clamídia ocorram em todo o mundo a cada ano. A maioria destes casos está distribuída em regiões em desenvolvimento ou subdesenvolvida (WHO, 2001).

Nas regiões em desenvolvimento como África e Sudeste da Ásia são altamente prevalentes os sorotipos de *C. trachomatis* associados ao tracoma, além da infecção ativa e da triquíase (Polack *et al.*, 2005). Em regiões com alta endemicidade, como na Etiópia, foi encontrado 56,3% em crianças de 1 a 5 anos, por métodos moleculares (Melese *et al.*, 2004).

No México, em 2004, detectou-se 15,5% dos sorotipos associados ao tracoma, através da técnica de microimunofluorescência, em crianças de 6 a 12 anos, de áreas rurais. Os fatores de risco para a doença incluem o nível sócio econômico da família, a distância do acesso a água e péssimos hábitos de higiene (Goldschmidt *et al.*, 2007).

Na Europa, uma epidemia de LGV, teve início em 2003 na Holanda, e constatou-se que a maioria dos casos estavam associados ao genótipo L2b de *C. trachomatis*. O acometimento ocorreu, principalmente, em homens que praticam sexo com homens, que na maioria eram portadores do vírus da imunodeficiência humana (HIV), e que haviam tido múltiplos parceiros sexuais. Neste país, 179 casos confirmados de LGV foram registrados até dezembro de 2005 (Van de Laar, 2006).

Diversos países da Europa como França, Reino Unido, Alemanha, Espanha e Portugal foram descritos casos de LGV associados ao genótipo L2b (Bremer *et al.*, Van de Laar, 2006; 2006; Castro *et al.*, 2008; Vall Mayans *et al.*, 2008). Na Austrália, entre 2005 e 2006, o LGV, genótipo L2b, foi detectado em 04 casos de homens portadores do HIV que tiveram relação sexuais com outros homens (Stark *et al.*, 2007). No Canadá, em 2005, foram confirmados 16 casos, a faixa etária acometida foi de homens entre 29 e 47 anos, neste país o LGV também foi causado pelo genótipo L2b, e os casos apresentavam as mesmas características clínicas e epidemiológicas descritas em países Europeus e na Austrália (Kropp & Wong, 2005).

A clamídia é uma das principais IST em países desenvolvidos, como nos Estados Unidos, sendo a infecção bacteriana mais comumente notificada neste país. Em 2007, foram notificados 1.108.374 casos (CDC, 2008). Em jovens encarcerados, a prevalência foi maior em mulheres (14,3%) do que homens (6%) (Joesoef *et al.*, 2009).

Na Noruega, em um estudo realizado em homens, foram detectados 7,8% de IST, por métodos moleculares, sendo a faixa etária de 21 a 25 anos a

mais acometida (Bakken *et al.*, 2007a). Na China, através de métodos moleculares, verificou-se que 13,6%, das profissionais do sexo e mulheres atendidas em clínicas de IST apresentavam os genótipos associados à IST (Gao *et al.*, 2007). Em Gana, na África, entre 2002 e 2003, encontraram 39% de anticorpos IgG para *C. trachomatis* em mulheres inférteis (Siemer *et al.*, 2008).

No Brasil, a notificação da infecção por clamídia não é obrigatória; e a distribuição da bactéria somente é conhecida através de estudos epidemiológicos (Lima *et al.*, 2007). Na cidade de Recife, Pernambuco, entre 2006 e 2007, em um ambulatório especializado para mulheres, detectou-se por métodos sorológicos 47,1% (Oliveira, M.L., *et al.*, 2008).

Na região Norte, constatou-se através de estudos soropidemiológicos que a infecção por clamídia é comum em diferentes grupos populacionais urbanos e não-urbanos. Na população de Serra Norte a prevalência de anticorpos IgG foi de 76,2%, na cidade de Belém foi de 53,6% e 48,6% em populações indígenas da Amazônia brasileira (Ishak *et al.*, 1988; Ishak & Ishak, 2001).

A ocorrência de IST em comunidades nativas é elevada. O isolamento geográfico, pouco acesso a serviços de saúde e a segregação racial são alguns dos fatores que contribuem para as disparidades que afetam estas comunidades (Kaufman *et al.*, 2007).

Em uma comunidade indígena da Austrália detectou-se maior frequência dos genótipos E (56,25%), F (15,6%), J/Ja (15,6%), sendo que os genótipos G, D/Da e K foram menos frequentes (Banda *et al.*, 2008). Stevens

e colaboradores (2004) evidenciaram a predominância do genótipo C em 87,1% e 12,9% do Ba, em comunidades remotas da Austrália. Entre membros de uma comunidade indígena com infecção ocular os genótipos Ba e C, foram os mais encontrados (Porter *et al.*, 2008).

No Brasil, em índios da tribo Xicrins a prevalência de anticorpos IgG anti-clamídia foi de 51,3%. No sexo feminino foi de 77,8%, exibindo diferença significativa em relação ao sexo masculino que foi de 27,5% (Ishak *et al.*, 1988).

Ishak & Ishak (2001) verificaram prevalências altas de anticorpos IgG para clamídia em populações indígenas da Amazônia brasileira, como nas tribos Urubú-Kaapor (80,8%), Parakanã (81%), Xikrín do Bacajá (81,5%), Katwena (84,2%), Yamamadí (86,1%), Yanomámi (87,6%) e Awa-Guajá (90,7%). Títulos elevados de anticorpos IgG para clamídia foram encontrados em 6,1% da população testada, indicando que após a infecção permanecem disseminando a bactéria. Este estudo descreveu, pela primeira vez, o sorotipo A, em outra região fora de sua distribuição característica, no Oriente Médio e na África.

Paula e colaboradores (2002) constataram áreas endêmicas do tracoma em tribos Yanomámi, com 30,3% destes apresentando tracoma, sendo as mulheres foram mais afetadas que os homens. As cicatrizes foram mais observadas em idosos, 35,2%. Sinais clínicos da doença ativa foram identificados em 24,4% das crianças, o que indica uma contínua infecção. A existência das formas ativa e cicatricial mostra que a infecção ocorre naturalmente nesta comunidade, em que as precárias condições de moradia, higiene e hábitos culturais facilitam a circulação da *C. trachomatis*.

Em índios de tribos do rio Negro, que se localizam em uma região extremamente quente e úmida, no Amazonas, o entropio e a triquíase tracomatosa foram detectados com maior frequência em mulheres (Soares & Cruz, 2004).

#### 1.1.8.1. Modos de Transmissão

O tracoma afeta pessoas muito pobres que vivem em zonas rurais, onde o acesso à água e ao saneamento é limitado. As crianças com até 10 anos de idade são os principais reservatórios da doença, pois apresentam o tracoma ativo. A transmissão da *C. trachomatis*, ocorre de forma direta, a partir de pessoas com infecção ocular para pessoas não infectadas através das mãos, ou de modo indireto através de toalhas partilhadas. As moscas também podem atuar como vetores mecânicos (WHO, 2006).

A transmissão de *C. trachomatis* ao RN está associada à passagem pelo canal do parto, existindo casos de infecção em crianças nascidas de parto cesáreo (Chen *et al.*, 2007; Rours *et al.*, 2008). Sorotipos D, E, F, G, H, I, J, e K de *C. trachomatis* estão associados a infecções no trato urogenital transmitidas por via sexual. Os sorotipos L1, L2/L2b, e L3, associados ao LGV, também são transmitidos sexualmente através da via vaginal, anal ou oral (Schachter, 1990; Kropp & Wong, 2005; Gaydos *et al.*, 2006; Lima *et al.*, 2007).

#### 1.1.9 Epidemiologia das Infecções por *Chlamydia pneumoniae*.

A prevalência de anticorpos IgG e IgA para *C. pneumoniae* difere entre as Ilhas Salomão (64,9% e 82,2%), Nepal (73,1% e 69,8%) e Japão

(53,6% e 41, 4%), sendo que os homens foram os mais afetados (Shimizu *et al.*, 2002). Na Índia, entre 2005 e 2006, em pacientes com doença coronariana o DNA de *C.pneumoniae* foi encontrado em 29,67%, com soroprevalência mais elevada de anticorpos IgA (12%) em relação a IgG (1,1%) (Jha *et al.*, 2007).

No Japão, um surto de *C. pneumoniae* ocorreu em um lar para idosos, entre dezembro de 1999 a fevereiro de 2000, com infecção confirmada em 17% das pessoas, com média de idade de 87 anos. A doença com desenvolvimento mais severo foi associada a pacientes mais idosos e que praticavam pouca atividade física (Nakashima *et al.*, 2006).

Na Finlândia, em indivíduos saudáveis, a soroprevalência de anticorpos IgG para *C. pneumoniae* foi de 70% e para IgA foi de 60% na idade de 15 a 19 anos. Em pessoas com idade acima de 65 anos, a prevalência de anticorpos IgG em homens foi de 100% e 75% em mulheres, enquanto que IgA foi de 100% e 73% respectivamente (Tuuminen *et al.*, 2000).

No Brasil, em Porto Alegre, entre 2000 e 2001, constatou-se que 63,8% dos pacientes com pneumonia adquirida na comunidade foram soropositivos para *C. pneumoniae* (Chedid *et al.*, 2007).

Ishak & Ishak (2001) detectaram pela primeira vez, no Brasil, a circulação da *C. pneumoniae* entre as populações indígenas que habitam a região Amazônica do Brasil. No Pará, Costa (2002) detectou soroprevalência de 25% para *C. pneumoniae*. E 67% em pacientes com doença coronariana isquêmica, 57% em pacientes com angina *pectoris* e infarto agudo do miocárdio e 75% em pacientes hipertensos.

A soropositividade para *C. trachomatis* foi de 43% e de 30% para a

*C. pneumoniae* em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica e asma; também foi constatado uma associação significativa entre pacientes com enfisema e *C. pneumoniae* (Costa, 2002).

#### 1.1.9.1 Modos de Transmissão

A transmissão de *C. pneumoniae* ocorre de forma direta, de pessoa a pessoa através de secreções respiratórias. A forma indireta, também pode ocorrer por meio de materiais contaminados (Kuo *et al.*, 1995). O período de incubação varia de 7 a 21 dias (Peeling & Brunham, 1996).

### 1. 1.10 Medidas de Prevenção e Controle

#### 1.1.10.1 Medidas de Prevenção e Controle para *Chlamydia trachomatis*

A OMS recomenda que as atividades de controle do tracoma, em áreas endêmicas, sejam baseadas na cirurgia da triquíase, administração de antibióticos para a infecção, limpeza facial (promoção da higiene pessoal) e nas melhorias ambientais, que visam reduzir a transmissão da bactéria (WHO, 2006).

O tratamento recomendado, com antibiótico, é a tetraciclina ocular tópica, além de azitromicina oral em dose única (WHO, 2006). Estratégias para prevenção e controle das IST causadas por *C. trachomatis* incluem a promoção de comportamentos sexuais saudáveis, uso correto de preservativos, notificação de parceiros, serviços de saúde eficazes e acessíveis para estas tratar estas infecções (WHO, 2007).

A medicação utilizada na conjuntivite de inclusão, em crianças, foram os antimicrobianos tópicos prescritos juntamente com os sistêmicos, como a eritromicina e claritromicina (Rours *et al.*, 2008). A azitromicina e eritromicina são usadas nas infecções respiratórias (Chen *et al.*, 2007).

Nas IST, a medicação de primeira escolha é a azitromicina em dose única e doxiciclina 2 vezes ao dia por 7 dias, os antimicrobianos substitutos são a ofloxacina, tetraciclina e eritromicina. Em grávidas, recomenda-se a azitromicina e amoxicilina. O estearato de eritromicina em grávidas é contra-indicado, devido à hepatotoxicidade (WHO 2007). Em surtos de LGV, causados pelo sorotipo L2b, o antimicrobiano utilizado foi a azitromicina e a doxiciclina (Spaargaren *et al.*, 2005).

#### 1.1.10.2 Medidas de Prevenção e Controle para *Chlamydia pneumoniae*

O contato com pessoas infectadas é um importante fator de risco para a transmissão de *C. pneumoniae*, principalmente em locais fechados. Para impedir a propagação de surtos da doença, é necessário a detecção precoce dos casos por meio de vigilância epidemiológica, e posterior isolamento dos doentes, visando limitar o contato destes com pessoas saudáveis e suscetíveis (Nakashima *et al.*, 2006).

Os antimicrobianos de eleição são a eritromicina, doxiciclina, claritromicina e azitromicina, além de ventilação mecânica nos casos graves (Kuo *et al.*, 1995; Peeling & Brunham, 1996; Reechaipichitkul *et al.*, 2005).

### **1.1.11 Diagnóstico Laboratorial das Infecções por *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*.**

Entre as técnicas laboratoriais para a detecção direta de clamídia, através da pesquisa de antígeno, estão a citologia, a cultura, a imunofluorescência direta (IFD), o ensaio imunoenzimático do tipo ELISA. E técnicas de diagnósticos indireto através de pesquisa de anticorpos no soro dos pacientes, como a imunofluorescência indireta (IFI), microimunofluorescência (MIF) e ensaio imunoenzimático indireto (ELISA). Além das técnicas de amplificação de ácidos nucleicos (Seadi *et al.*, 2002).

#### **1.1.11.1. Técnicas de Detecção Direta**

##### **a) Método Direto (citologia)**

A pesquisa de *C. trachomatis* por detecção direta através da citologia desempenhou um importante papel histórico no diagnóstico da infecção ocular ativa causada por clamídia (Barnes, 1989), sendo possível o reconhecimento da conjuntivite de inclusão no recém-nascido, através da pesquisa de corpúsculos de inclusão, pela técnica de Giemsa, utilizando raspado de conjuntiva aliado ao exame clínico (Vaz *et al.*, 1999).

Nesta técnica também se utilizava esfregaço de material cervical. No entanto, esta técnica entrou em desuso, pois se mostrou menos sensível e específica, quando comparada à sorologia e cultura (Barnes, 1989). Em crianças, com tracoma ativo a sensibilidade da técnica de Giemsa foi menor quando comparada com os métodos sorológicos (Goldschimdt *et al.*, 2007).

## b) Cultura

As clamídias crescem em cultura celular quando inoculadas em monocamadas de célula. Várias linhagens celulares permitem o cultivo de clamídia, sendo comumente usadas as células *McCoy* e HeLa (Chernesky, 2005). Para verificar a positividade do teste, através da presença de inclusão citoplasmática constituída de CE e CR, cora-se o tecido cultivado preferentemente com anticorpo monoclonal fluorescente (Seadi *et al.*, 2002), uma vez, que este é mais específico que o iodo ou Giemsa (Chernesky, 2005).

Jespersen e colaboradores (2005) verificaram que a cultura é menos sensível e específica que os testes de amplificação de ácido nucléico. As vantagens da cultura é que ela preserva a bactéria para estudos adicionais, como genotipagem ou teste de suscetibilidade antimicrobiana. As desvantagens são a necessidade de laboratório com infra-estrutura, além disso, é trabalhosa, exige cuidados na conservação da amostra (Seadi *et al.*, 2002). A sensibilidade varia entre 70 a 80% e 100% de especificidade (Barnes, 1989).

## c) Ensaio Imunoenzimático do tipo ELISA

O ensaio imunoenzimático para detecção direta de antígeno em amostras de pacientes é uma alternativa menos dispendiosa em relação à cultura celular (Gaydos *et al.*, 2008). O ensaio pode variar quanto à fase sólida (microplaca, pérolas e tubos) onde está ligado o anticorpo primário. Quando o antígeno está presente, este reage com um anticorpo marcado com enzima,

cujo produto final pode ser avaliado por espectrofotometria ou fluorescência e correlacionado com a positividade ou não do teste (Seadi *et al.*, 2002).

Estes testes utilizam anticorpos monoclonais ou policlonais para detectar antígeno gênero específico (LPS) da clamídia (Barnes, 1989). A sensibilidade varia de 65% a 75% quando comparado com métodos de amplificação de ácidos nucleicos. Sem confirmação, o teste tem especificidade de 97% (Chernesky, 2005).

Em técnicas que empregam anticorpo anti-LPS, a diminuição na especificidade das amostras pode ser causada por reação cruzada com o LPS de outras bactérias do trato genital, levando a resultados falso-positivo (Seadi *et al.*, 2002). Exames confirmatórios podem ser feitos com o uso de anticorpo bloqueador (Gaydos *et al.*, 2008).

#### d) Imunofluorescência Direta (IFD)

A IFD consiste na identificação dos CR ou CE, utilizando-se anticorpos monoclonais fluorescentes que se ligam aos antígenos de clamídia presentes nos raspados de uretra ou endocervical fixados em lâmina (Seadi *et al.*, 2002). Exames comerciais usam anticorpos monoclonais anti-MOMP ou LPS (Chernesky, 2005).

Verificou-se que a sensibilidade do teste foi de 77,1% em pacientes com lesões cervicais (Oliveira, M.L., *et al.*, 2008) e a especificidade foi de 98% em amostras clínicas da uretra de homens (Gaydos *et al.*, 2008).

#### 1.1.11.2. Técnicas de Detecção Indireta

##### a) Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA)

Inicialmente, Lewis e colaboradores (1977) visando evitar as dificuldades encontradas em outros procedimentos sorológicos, desenvolveram testes imunoenzimáticos para detecção de anticorpos anti-clamídia a partir da adaptação das técnicas usadas no diagnóstico de outros agentes. Este teste detecta anticorpos de todas as espécies de clamídia, uma vez que utiliza o LPS como antígeno (Black, 1997).

##### b) Imunofluorescência Indireta

O teste de imunofluorescência indireta descrito por Richmond & Caul (1975) detecta anticorpos para clamídia contra o antígeno LPS dos CE ou CR, utilizando lâminas onde estão aderidos os antígenos de clamídia, sobre a qual será acrescentado o soro diluído do paciente. Esta preparação é incubada com conjugado fluorescente (fluorescência ligado a uma anti-imunoglobulina humana), após etapas de lavagem. A leitura é feita com o auxílio de microscópio de fluorescência. Esta técnica utiliza como antígenos *C. trachomatis* L2, que reage com todos os sorotipos de *C. trachomatis* e com as outras espécies de clamídia (Barnes, 1989; Seadi *et al.*, 2002).

Este teste é adequado para triagem de um grande número de amostras de soro por ser de metodologia simples e por detectar anticorpos contra os sorotipos mais predominantes. Por outro lado, o mesmo não permite a distinção entre as cepas que usualmente infectam o olho e o trato genital, ou entre *C. trachomatis* e outras espécies de clamídia (Ishak *et al.*, 1988).

### c) Microimunofluorescência

A microimunofluorescência (MIF) é o método usado para detectar os sorotipos de *C. trachomatis* e de *C. pneumoniae*. Diluições seriadas da amostra são colocadas sobre uma lâmina na qual antígenos dos diferentes sorotipos de *C. trachomatis* e de *C. pneumoniae* foram fixados. Este complexo antígeno-anticorpo na lâmina é incubado com um conjugado fluorescente (fluorescência ligado a uma anti-imunoglobulina humana). A positividade é demonstrada pela presença de fluorescência (Wang, 2000; Solomon *et al.*, 2004).

A principal desvantagem é que a MIF é muito trabalhosa, os antígenos são onerosos e a disponibilidade é limitada. Por estas razões, o teste é realizado apenas em laboratórios de pesquisa (Black, 1997).

#### 1.1.11.3. Técnicas Moleculares

O desenvolvimento de testes baseados na tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos surgiu como o mais importante avanço no diagnóstico da clamídia desde que a técnica cultura de células (*in vitro*) substituiu a técnica de isolamento em ovos embrionados (Black, 1997). Os testes de amplificação de ácido nucleico disponíveis comercialmente são: reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR), reação em cadeia mediada pela ligase (LCR), amplificação mediada por transcrição (TMA) e amplificação de deslocamento de fita (SDA) (Gaydos *et al.*, 2008).

Estes testes oferecem a possibilidade de utilização de técnicas não invasivas, para detecção de infecções em indivíduos assintomáticos, que normalmente não procuram atendimento clínico. Esta é uma vantagem crítica,

uma vez que a maioria das infecções em mulheres e uma proporção significativa das infecções no homem são assintomáticas (Black,1997).

As técnicas de amplificação detectam, com rapidez, pequenas quantidades de ácidos nucleicos em amostras clínicas. A amplificação de DNA ou RNA consiste na obtenção de cópias de um segmento de DNA a partir de iniciadores de uma sequência de DNA-alvo. Os iniciadores definem as regiões do DNA a serem amplificadas (Seadi *et al.*, 2002). Jespersen e colaboradores (2005) constaram que os testes de amplificação de ácidos nucleicos são significativamente mais sensíveis que a cultura celular, e podem ser considerados o novo “padrão ouro” para o diagnóstico laboratorial da infecção por *C. trachomatis*.

A PCR quando comparada a técnicas sorológicas de detecção direta de antígenos, mostrou-se o método mais sensível para detecção de clamídia em amostras clínicas de urina, sangue periférico, fluido sinovial e leucócitos do sangue periférico (Kuipers *et al.*, 1995). Verificou-se que a sensibilidade da PCR foi de 95% e 96% da TMA, a especificidade foi de 99,1% e 98%, respectivamente. A SDA apresenta sensibilidade de 100% (Gaydos *et al.*, 2008). Jha e colaboradores (2007) verificaram que a nested-PCR é mais sensível e específica que os outros métodos moleculares para detecção de *C. pneumoniae*.

A área que o teste utiliza como alvo para iniciar a amplificação pode interferir no resultado. Ripa & Nilsson (2007) evidenciaram resultado falso-negativo em PCR que amplifica sequência de nucleotídeos do plasmídeo. Estes PCR não detectaram cepas de *C. trachomatis* com uma deleção no

plasmídeo. E a positividade ocorreu em teste de amplificação de ácido nucléico que utilizou como alvo a sequência do gene *ompA*. Sendo, mais confiável a utilização de teste que tenha dois alvos diferentes.

Para a confirmação de resultados positivos de testes de amplificação de ácidos nucléicos, a estratégia a ser usada pode ser a amplificação de uma sequência de ácido nucléico, diferente da anteriormente usada, com a amostra original ou coleta em duplicata (Schachter *et al.*, 2005).

## 1.2 *TREPONEMA PALLIDUM* SUBESPÉCIE *PALLIDUM*

### 1.2.1 Histórico

Embora, as antigas escrituras bíblicas e chinesas descrevam alguns sinais da sífilis, a doença somente foi reconhecida no final do século XV na Europa e, desde então, sua origem é alvo de especulações e controvérsias (Baughn & Musher, 2005). Existem duas teorias, a primeira estabelece que com a tripulação de Cristovão Colombo, em 1493, a sífilis foi levada do Novo Mundo ao continente Europeu. Esta teoria é apoiada por evidências da sífilis em fósseis encontrados na República Dominicana, onde Colombo desembarcou (Rothschild, 2005). Mas, uma segunda origem, denominada pré-colombiana, estabelece que a doença surgiu através de eventos mutacionais ocorridos em um tipo de espiroqueta, similar a boubá, que já existia na África (Baughn & Musher, 2005).

No início do século XVI, a doença rapidamente atingiu proporções epidêmicas na Europa e em todo mundo (Fraser *et al.*, 1998). Em 1838, foi esclarecido que sífilis e gonorréia eram infecções distintas (Lafond & Lukehart,

2006). Em 1905, o agente etiológico da sífilis foi identificado com sucesso por Schaudinn e Hoffmann, que demonstraram a presença de espiroquetas no fluído de lesões de sífilis secundárias, coradas pelo Giemsa (Schaudinn e Hoffman *apud* Singh & Romanowski, 1999).

Em 1906, os primeiros testes sorológicos para sífilis foram desenvolvidos. E em 1943, após o emprego de diversas terapias, foi realizado com sucesso o primeiro tratamento para sífilis administrando-se a penicilina (Singh & Romanowski, 1999). Apesar, do avanço terapêutico a sífilis permanece como um problema global de saúde pública (Fraser *et al*, 1998; WHO, 2001).

### 1.2.2 Classificação

O *Treponema pallidum* subespécie *pallidum* é um membro da ordem Spirochaetales, família Spirochaetaceae, e gênero *Treponema* (*apud* Singh & Romanowski, 1999). Este gênero é composto de duas espécies patogênicas ao homem: o *Treponema carateum*, que é o agente etiológico da pinta e o *Treponema pallidum*, que inclui 3 subespécies: *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*, que causa a sífilis e também infecção no sistema nervoso central e cardiovascular; o *T. pallidum* subespécie *endemicum*, que causa a sífilis endêmica (bejel); e o *T. pallidum* subespécie *pertenue*, que causa a boubá (Centurion-Lara *et al.*, 2006).

As espécies do gênero *Treponema* são morfologicamente e geneticamente semelhantes, muito embora, as manifestações clínicas das infecções causadas sejam diferentes (Miao & Fieldsteel, 1980). Entretanto, a

diferenciação das subespécies de *T. pallidum* pode ser realizada através de métodos moleculares (Centurion-Lara *et al.*, 2006).

### 1.2.3 Características Estruturais e Morfológicas

O *T. pallidum* varia de 6 a 15  $\mu\text{m}$  de comprimento e 0,2  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com o corpo em forma de espiral (Figura 2), altamente móvel que se impulsiona por movimentos de rotação em torno de seu eixo longitudinal (Thomas *et al.*, 1988; Lafond & Lukehart, 2006).

A morfologia básica inclui uma membrana externa, que delimita a superfície celular e uma membrana citoplasmática, que circunda o citoplasma cilíndrico da bactéria (Johnson *et al.*, 1973). A estabilidade estrutural das membranas é proporcionada por uma fina camada de peptidoglicano no espaço entre as membranas. Adicionalmente, a ausência de LPS, justifica a fragilidade da membrana externa (Fraser *et al.*, 1998; Lafond & Lukehart, 2006).

No espaço entre as membranas, o endoflagelo, que é uma estrutura de fibrilas, se estende de uma extremidade a outra da bactéria, estando aderido em grânulos citoplasmáticos. Esta organela é responsável pela motilidade característica do *T. pallidum* (Johnson *et al.*, 1973; Norris *et al.*, 2001).

### 1.2.4 Patogenia

A fixação do *T. pallidum* à célula do hospedeiro é favorecida por adesinas. As proteínas Tp0155, Tp0483 e Tp0136 do *T. pallidum* têm a

habilidade de se ligar à fibronectina, e desta forma, favorece a interação entre o *T. pallidum* e a célula do hospedeiro (Cameron *et al.*, 2004; Brinkman *et al.*, 2008) .

Outra proteína, a Tp0751, liga-se especificamente a laminina. A adesão pode ocorrer em múltiplos locais ao longo do comprimento e nas extremidades da bactéria (Cameron, 2003).

Após a adesão, o *T. pallidum* penetra nos tecidos e na circulação, pelas junções entre o tecido endotelial. A forma em espiral desta bactéria e a vigorosa motilidade facilitam a invasão (Thomas *et al.*, 1988). A invasão resulta em uma infecção bacteriana disseminada, com vários estágios desde a lesão eritematosa endurecida, até o estabelecimento da infecção crônica (Fieldsteel *et al.*, 1981; Cameron *et al.*, 2004).

Na ausência de citotóxicas e outros fatores de virulência é provável que a inflamação e a resposta imunológica ao *T. pallidum* sejam a causa da destruição dos tecidos (Lafond & Lukehart, 2006).

O *T. pallidum* induz as células endoteliais (em cultura celular) a expressarem moléculas de adesão, que promovem aderência e saída de leucócitos dos vasos sanguíneos para os tecidos infectados, e estão presentes nas lesões da sífilis primária, embora, a infiltração seja curta (Riley *et al.*, 1994).

Os mediadores líticos como a perforina e granzima B, produzidos por células TCD8+, talvez sejam parcialmente, responsáveis pela destruição dos tecidos na sífilis (Lafond & Lukehart, 2006).

### 1.2.5 Características Genômicas

O genoma do *T. pallidum* subespécie *pallidum* foi descrito por Fraser e colaboradores (1998) e consiste de um único cromossoma circular de 1.138,006 pb contendo uma média de 52% de guanina e citosina, um total de 1041 regiões de matriz de leitura aberta (ORF) com média de 1023 bp cada, representando 92,9% do total de DNA genômico.

Apresenta sistemas intactos para replicação do DNA, transcrição, tradução e reparação; porém, as atividades catabólicas e de biossíntese são reduzidas (Walker *et al.*, 1995; Fraser *et al.*, 1998).

O *T. pallidum* é microaerofílico e cresce somente em reduzidas concentrações de oxigênio. Esta bactéria, aparentemente, não tem genes que codificam superóxido dismutase, catalase e peroxidase, que protegem contra a toxicidade do oxigênio (Fitzgerald *et al.*, 1975; Fraser *et al.*, 1998).

Os genes associados à motilidade são altamente conservados no *T. pallidum*, consistente com a importância desta atividade nesta espiroqueta altamente invasiva. A bactéria tem 36 genes que codificam proteínas envolvidas na estrutura e função flagelar. A membrana externa contém baixo número de proteínas integrantes, uma característica que talvez permita a bactéria evadir-se da resposta imune (Fraser *et al.*, 1998).

A análise do genoma confirma os estudos morfológicos que indicam a ausência de lipopolissacarídeo ou exotoxinas potentes, embora atividade citotóxica contra neuroblastos e outros tipos celulares foram observados em concentrações relativamente altas nesta bactéria (Fraser *et al.*, 1998).

## **1.2.6 Manifestações Clínicas das Infecções por *T. pallidum***

### **1.2.6.1 Sífilis Primária**

O período de incubação varia entre 10 a 90 dias (geralmente 14 a 21 dias) antes do desenvolvimento do cancro da sífilis primária que se manifesta como uma úlcera, geralmente, acompanhada de linfadenopatia regional. A úlcera, na maioria das vezes, é única, não dolorosa e possui a base endurecida recoberta por um exsudato seroso claro (Rompalo *et al.*, 2001; French *et al.*, 2009).

As lesões, tipicamente, se localizam no pênis, região anal e boca, apesar de atípicos, os cancros dolorosos foram observados em 35% dos pacientes (Hourihan *et al.*, 2004). Indivíduos portadores do HIV são mais afetados por múltiplas úlceras genitais (Rompalo *et al.*, 2001).

### **1.2.6.2 Sífilis Secundária**

A sífilis secundária se desenvolve entre 3 a 6 semanas depois do aparecimento do cancro (French *et al.*, 2009). Contudo, verificou-se que em 25% dos casos de sífilis secundária, a lesão primária ainda estava presente. A linfadenopatia generalizada, usualmente, não dolorosa, envolve toda a estrutura linfática, como resultado da passagem do treponema (Hourihan *et al.*, 2004; Baughn & Musher, 2005).

As manifestações clínicas incluem erupções maculares, maculopapular, placas mucosas e condilomas planos, alopecia difusa e osteocondrite, além de erupções localizadas no tronco, extremidades, regiões palmar e plantar

(Rompalo *et al.*, 2001; Gutierrez-Galhardo *et al.*, 2005). Também pode ocorrer erupção cutânea pruriginosa (Hourihan *et al.*, 2004).

Concomitante ao quadro dermatológico ocorre manifestações sistêmicas como a meningite, hepatite, esplenomegalia, periostite e glomerulonefrite (French *et al.*, 2009). Os pacientes podem apresentar uma variedade de sintomas, como leve mal-estar, cefaléia, anorexia, náusea, dores musculares e febre baixa (Rompalo *et al.*, 2001; Baughn & Musher, 2005).

Paciente com sífilis ocular pode apresentar sintomas visuais que incluem a diminuição da visão e fotofobia, acompanhado de lesão cutânea e cefaléia (Parc *et al.*, 2007). A sífilis quando latente pode ser precoce ou tardia, a latente precoce é a ocorrência da doença inferior a 1 ano, enquanto que a sífilis latente tardia é definida como a ocorrência após 1 ano (Baughn & Musher, 2005).

#### 1.2.6.3 Sífilis Terciária

A fase terciária ocorre vários anos ou décadas depois da infecção primária. Pode afetar o sistema nervoso central, sistema cardiovascular e pele. Sem tratamento com antimicrobiano, estas complicações irão aparecer em cerca de 40% das pessoas com infecção latente (OMS, 2008).

A sífilis cardiovascular envolve a aorta e na maioria dos casos é assintomática. Entretanto, em indivíduos não tratados, os sinais clínicos encontrados são a angina, regurgitação e aneurisma aórtico, além de estenose coronariana (Lafond & Lukehart, 2006; French *et al.*, 2009). Lesões nodulares e granulomatosas, denominadas de gomas sífilíticas, envolvem vários órgãos e

estruturas, principalmente a pele e ossos. Pode resultar em lesões destrutivas com perfuração ou em infiltrados (Goh, 2005).

Em pacientes com neurosífilis, a cefaléia foi a única manifestação clínica encontrada (Gutierrez-Galhardo *et al.*, 2005). Mas, pode haver comprometimento ocular, auricular, meningovascular e parenquimatosa (paresia generalizada e *tabes dorsalis*), além de mudanças na personalidade, instabilidade emocional e alucinações (Lafond & Lukehart, 2006).

Kassutto & Doweiko (2004) descreveram um caso de neurosífilis, em indivíduos portadores do HIV com 35 anos de idade, em que ocorreu rápida progressão da sífilis primária para a neurosífilis e com títulos elevados de anticorpos em teste não treponêmico, sendo recentemente diagnosticado com a co-infecção. Constatando-se, que a sífilis pode ter seu curso alterado em indivíduos portadores do HIV, sendo diferente da história natural da doença em HIV-negativo.

#### 1.2.6.4 Sífilis Congênita

As mulheres grávidas infectadas pela sífilis podem transmitir a infecção ao seu feto, causando sífilis congênita, com consequências graves em 80% dos casos (OMS, 2008). A sífilis congênita, se não tratada, pode afetar profundamente a gravidez, resultando em aborto espontâneo, morte fetal, parto prematuro, peso reduzido ao nascer ou morte perinatal. As manifestações pós-natal são divididas em fases precoces (até o 2º ano de vida) e tardias (Singh, & Romanowski, 1999).

A síndrome clínica da sífilis congênita precoce envolve uma reinite persistente, lesões mucosa e cutânea, condiloma plano, osteíte, periostite, osteocondrite, hepatite, ascite, hepatoesplenomegalia, glomerulonefrite e anemia (French *et al.*, 2009). As manifestações de sífilis congênita tardia surgem após o 2º ano de vida e incluem de tríade de Hutchinson (dentes incisivos pequenos, cônicos e com entalhe, ceratite intersticial, surdez por lesão no VIII nervo craniano), joelhos de *Clutton*, relevo frontal, maxilas curtas, mandíbula curva, arco palatino elevado, retardo mental e hidrocefalia (Lafond & Lukehart, 2006).

### **1.2.7 Epidemiologia das Infecções por *T. pallidum***

Desde a descoberta da penicilina, a sífilis pode ser, não só evitada como também tratada. Apesar disso, a sífilis continua a ser um problema mundial, estimando-se em 12 milhões de casos novos a cada ano. A maioria destes casos estão distribuídos em regiões como a África Subsaariana (4 milhões), Sul e Sudeste da Ásia (4 milhões) e 3 milhões na América do Sul e Caribe, 370 mil na Oriente Médio e Norte da África, 240 mil na Ásia Oriental e Pacífico, 100 mil na América do Norte, 140 mil na Europa Ocidental, 100 mil na Europa Oriental e Ásia Central, 10 mil na Austrália e Nova Zelândia (WHO, 2001; OMS, 2008).

Na Suécia, 192 casos de sífilis foram notificados em 2004, este foi o maior número de notificações desde a década de 1980. Observou-se que 60% foram de homens que praticam sexo com outros homens e 38% das infecções foram de heterossexuais (Payne *et al.*, 2005).

Na França, o ressurgimento da sífilis ocorreu a partir do ano de 2000, sendo que em 2004 foram identificados 06 casos de sífilis congênita em crianças menores de um (01) ano, todos RN de mães diagnosticadas com sífilis (Nicolay *et al.*, 2008). Na Itália, observou-se 14,0% em imigrantes ilegais, transexuais profissionais do sexo, sendo que 42,3% foram positivos no teste HIV, com média de idade de 27,8 anos (Saleri *et al.*, 2006).

No Nepal, o tráfico sexual de mulheres adultas e adolescentes para a Índia tem também contribuído para epidemiologia da doença, com 20,4% de casos reativos no VDRL, e neste grupo 31% estavam co-infectadas com HIV (Silverman *et al.*, 2008). Nos Estados Unidos, em 2007, o número de casos de sífilis primária e secundária notificados foi de 11.466, com um aumento de 17,5% em relação a 2006 (CDC, 2008).

No Brasil, na cidade de Salvador, foram detectados anticorpos em 2% das mulheres atendidas em uma clínica de planejamento familiar; 3,9% nas escolas e 5,1% na comunidade. Enquanto, que em homens da comunidade a frequência foi de 6,7% (Codes *et al.*, 2006). No Paraná, 2,1% dos doadores de sangue de um hemonúcleo foram reativos, através do ELISA (Oliveira, V.M., *et al.*, 2008). No Pará, na cidade de Itaituba, 42% (77) foram reativos utilizando-se o ELISA (Santos *et al.*, 1995).

Em gestante, os 6.143 casos de sífilis foram notificados em 2007 (Brasil, 2008). Na gravidez, a sífilis não tratada precocemente, resulta em uma taxa de 25% de natimorto e é responsável por 14% das mortes neonatais (WHO, 2007). A sífilis congênita é doença de notificação compulsória no Brasil desde 1986. A análise dos dados de 1998 a junho de 2008 revela que foram

notificados 46.530 casos de sífilis congênita em menores de um ano de idade. (Brasil, 2008).

Nos Estados Unidos, foram detectados 93 casos durante um surto de sífilis em uma reserva indígena (Gerber *et al.*, 1989). No período entre 2006 a 2007 a taxa de sífilis aumentou em 6,3% entre índios americanos/nativos do Alaska (CDC, 2008).

Na população indígena, Chayahuita, da região Amazônica do Peru, verificou-se que a prevalência foi de 6,3% em índios adultos com sífilis, com a faixa etária de 46 a 60 anos sendo a mais acometida (14,3%). Os fatores de risco associados foram que nenhum dos participantes nunca havia usado preservativo, o comportamento como parte da tradição cultural, que incluem o início precoce em atividade sexual e poligamia (Zavaleta *et al.*, 2007).

Em índios das tribos Kayapós, a prevalência de sífilis foi de 37%, em pessoas acima de 40 anos foi de 89,2%, na idade de 0 a 4 anos não foi detectado nenhum caso positivo. Evidências da contínua exposição foram comprovadas através da retestagem depois de um intervalo de tempo, no qual se constatou a soroconversão de negativos para positivos. Entre os índios Parakanã não foi detectado nenhum caso. E foram detectados 3 casos em índios Tiriyo (Lee *et al.*, 1978).

#### 1.2.7.1 Modos de Transmissão

A sífilis é transmitida através de relações sexuais ou a transmissão é vertical da mãe ao feto (Goh, 2005). Outras formas menos

comuns incluem a inoculação acidental e transfusão de sangue (Singh & Romanowski, 1999).

### **1.2.8 Medidas de Prevenção e Controle**

A prevenção e controle da sífilis congênita incluem estratégias, como o aumento do acesso e a melhoria da qualidade de serviços de saúde para mães e RN, detecção e tratamento das mulheres grávidas e seus parceiros (OMS, 2008). Assim como, outras IST, as estratégias para prevenção e controle da sífilis, incluem a promoção de comportamentos sexuais saudáveis, uso de preservativos, notificação de parceiros, serviços de saúde acessíveis (WHO, 2007). E a triagem sorológica contínua do sangue de bancos de sangue (Singh & Romanowski, 1999).

A penicilina permanece a droga de escolha para o tratamento da sífilis, e a doxiciclina como a segunda opção, para tratar sífilis em adultos, sífilis congênita e materna (WHO, 2005; 2007; French *et al.*, 2009). Em caso de paciente, com complicação cerebral, a penicilina foi usada com sucesso 1 vez ao dia por 14 dias (Kassutto & Doweiko, 2004).

### **1.2.9 Diagnóstico Laboratorial das Infecções por *T. pallidum***

O diagnóstico da sífilis é baseado na avaliação clínica, em testes sorológicos ou na identificação do *T. pallidum* na amostra (Wheeler *et al.*, 2004). Embora, o *T. pallidum* não possa ser cultivado em cultura celular, existem métodos diretos, testes treponêmicos e não-treponêmicos usados para o diagnóstico da sífilis (Ratnam, 2005).

### 1.2.9.1 Métodos Diretos

#### a) Microscopia de Campo Escuro

Na detecção direta, o *T. pallidum* é observado na lâmina por microscopia de campo escuro. As amostras de linfa são coletadas a partir de lesões suspeitas, no pênis, ânus, vaginal, vulva, e pele. A identificação do *T. pallidum* é baseada em características morfológicas e de motilidade (Wheeler *et al.*, 2004).

Este método não é aconselhado para úlceras orais, pois este local geralmente abriga outras espiroquetas não patogênicas (Palmer *et al.*, 2003). É um teste econômico, rápido, sensível e específico. Contudo, a realização do teste pode ser inviabilizada, devido à falta de treinamento e experiência do técnico microscopista, falha do equipamento e coletas inadequadas (Hourihan *et al.*, 2004). Wheeler e colaboradores (2004) verificaram que a sensibilidade foi de 97% em lesões de sífilis primária e 84% na sífilis secundária.

#### b) Imunofluorescência Direta para o *Treponema pallidum* (DFA-TP)

Este método detecta antígenos e, deste modo, não requer a presença de treponemas móveis. Entretanto, não diferencia o *T. pallidum* subesp. *pallidum* de outros treponemas patogênicos, somente o diferencia dos não patogênicos. Utiliza anticorpos anti-treponema conjugados a fluorescência, para identificar a bactéria presente na amostra. É mais sensível quando as lesões estão presentes. A sensibilidade varia entre 73 a 100% e a especificidade em 89 a 100% (Peeling & Ye, 2004; Ratnam, 2005).

### 1.2.9.2 Testes Não Treponêmicos

A positividade em um teste não treponêmico não confirma a infecção pelo *T. pallidum*, sem que seja confirmado por algum outro método para o diagnóstico da sífilis (Larsen *et al.*, 1995). Estes testes detectam entre 80 a 86% dos casos de sífilis primária, 100% de secundária, 80% das infecções latentes e 71 a 76% dos casos tardios (WHO, 2005).

#### a) *Venereal Disease Research Laboratory* (VDRL)

É um teste de microfloculação que necessita de microscópio óptico para a leitura do teste. Uma solução alcoólica, contendo uma mistura de cardiolipina, lecitina e colesterol, é usada como antígeno, que deve ser preparada diariamente para pesquisa de anticorpos anti-cardiolipina, que ocorrem como uma consequência da sífilis ou de outras doenças em que ocorram danos aos tecidos. É necessário que se realize a inativação do soro, através do aquecimento das amostras (Larsen *et al.*, 1995; Ratnam, 2005).

Para realizar o VDRL, inicialmente, um teste qualitativo é realizado colocando-se o soro não diluído e uma gota do antígeno, a leitura é feita imediatamente após a rotação. O teste quantitativo é realizado de maneira comparável ao teste qualitativo, exceto que as diluições seriadas da amostra devem ser preparadas em solução salina (Larsen *et al.*, 1995).

Nesta técnica, Azevedo e colaboradores (2006) constataram que, o emprego de amostras diluídas na realização do VDRL tem elevada importância na prevenção de resultados falso-negativos, quando elevados títulos de anticorpos estão presentes (fenômeno pró-zona).

A sensibilidade deste teste encontra-se entre 78% e 100% e a especificidade é de 100% (Peeling & Ye, 2004), sendo menos sensível que teste de aglutinação passiva para anticorpos de *T. pallidum* (Creegan *et al.*, 2007). O VDRL é usado para o diagnóstico e para o acompanhamento do curso da doença durante e após o tratamento da sífilis (Gutierrez-Galhardo *et al.*, 2005).

#### b) Reaginina Plasmática Rápida (RPR)

O RPR é um teste de floculação macroscópica para a sífilis, que utiliza plasma ou soro (Larsen *et al.*, 1995). Detecta anticorpos anti-cardiolipina, presentes na amostra de pacientes infectados com *T. pallidum* (Singh & Romanowski, 1999). O exame é realizado em um cartão contendo círculos, onde será adicionada a amostra e a suspensão antigênica de cardiolipina, lecitina e colesterol, juntamente com partículas de carbono. O carbono favorece a leitura visual sem a necessidade de um microscópio. A suspensão de antígeno contém cloreto de colina que dispensa a necessidade de inativação da amostra (Portnoy *et al.*, 1957; 1962).

O RPR apresenta sensibilidade de 86-100% e especificidade de 93-98% (Peeling & Ye, 2004) e, o RPR também pode ser utilizado para monitorar o tratamento (Kassutto & Doweiko, 2004).

#### 1.2.9.3 Testes treponêmicos.

São utilizados como testes confirmatórios para sífilis (Larsen *et al.*, 1995).

a) Absorção de Anticorpos Treponêmicos Fluorescentes (FTA-Abs).

O FTA-Abs é um teste de imunofluorescência indireta para absorção de anticorpos anti-treponêmicos. Utiliza uma solução preparada a partir de treponemas não patogênicos, que remove os anticorpos inespecíficos a treponemas patogênicos que estejam presentes na amostra. Após a absorção, a amostra é colocada sobre uma lâmina aderida com o antígeno, que consiste de uma suspensão liofilizada de *T. pallidum*, seguido de processo de lavagem e incubação. Uma antiglobulina conjugada com fluorescência é adicionada à lâmina. A leitura é feita com o auxílio de microscópio de fluorescência (Hunter *et al.*, 1964).

Embora, este teste seja altamente sensível e específico, podem produzir resultados variáveis, devido à variação dos equipamentos, reagentes e interpretação (Ratnam, 2005). A sensibilidade pode variar de 70 a 100%, enquanto que a especificidade, de 94 a 100% (Peeling & Ye, 2004). O FTA-Abs pode ser reativo em casos considerados como sífilis latente, em pacientes assintomáticos (Zavaleta *et al.*, 2007).

b) Teste de Microaglutinação Passiva para Anticorpos de *T. pallidum* e Teste de Aglutinação Passiva para Anticorpos de *T. pallidum* (TP-PA)

Na hemaglutinação passiva eritrócitos de ovelha são sensibilizados com antígenos de *T. pallidum* (lisado de *T. pallidum*) que reagem com anticorpos anti-treponema presentes na amostras. As amostras de soro do paciente são pré-tratadas, para remover anticorpos inespecíficos de treponema

não patogênicos, antes da adição nas microplacas (Larsen *et al.*, 1995; Singh & Romanowski, 1999).

O teste de aglutinação passiva para anticorpos de *T. pallidum* baseia-se em uma preparação de partículas gelatinosas coloridas sensibilizadas com o antígeno (*T. pallidum*) ao invés de eritrócitos. É menos oneroso e menos complicado que o FTA-Abs. Os resultados são lidos sem a necessidade de microscópio, também podem ser usados para monitorar terapia (Ratnam, 2005).

#### c) Ensaio imunoenzimático (ELISA)

Exames imunoenzimáticos para detecção de anticorpos específicos de *T. pallidum* no soro de pacientes com sífilis utilizam antígenos preparados a partir desta bactéria e também enzimas conjugadas a anti-anticorpos (Veldkamp & Visser, 1975). O ELISA pode detectar anticorpos das classes IgG ou IgM no soro do paciente (Ratnam, 2005).

Um maior número de sorologia positiva aos anticorpos anti-Treponema por ELISA é observado em relação ao VDRL (Oliveira, V.M., *et al.*, 2008). Tem sensibilidade entre 82 a 100% e especificidade entre 97 a 100% (Peeling & Ye, 2004; Ratnam, 2005). Na sífilis secundária o ELISA mostrou-se com elevada sensibilidade, mas pouca na sífilis primária (Wheeler *et al.*, 2004).

#### d) Técnicas Moleculares

Os testes para amplificação de ácidos nucleicos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), são desenvolvidos e avaliados, com resultados

que indicam o aumento da sensibilidade (91%) para o diagnóstico da infecção pelo *T. pallidum*. As amostras de sangue total em heparina ou EDTA, exsudado e esfregação das lesões, são úteis para utilização na PCR (Wicher *et al.*, 1992).

O DNA do *T. pallidum* foi detectado no soro, líquido cerebrospinal e fluido amniótico de pacientes com sífilis, mas não em controles não-sifilicos (Burstain *et al.*, 1991). Também, foi detectado em lesões de pele em recém-nascido com sífilis congênita após tratamento com a clindamicina durante a gravidez, sendo importante para o diagnóstico da sífilis congênita (Woznicová *et al.*, 2007).

A sensibilidade e especificidade para a sífilis primária foram 94,7% e 98,6%, respectivamente e, para a sífilis secundária estes foram 80,0% e 98,6% (Palmer *et al.*, 2003). Técnicas de PCR-transcriptase reversa e PCR em tempo real foram desenvolvidas utilizando alvos direcionados e específicos da bactéria (Centurion-Lara *et al.*, 1997; Leslie *et al.*, 2007).

#### e) Anticorpos Anti-treponema Detectados por *Western-Blotting* (WB)

O *Western-Blotting* (WB) é usado para detectar anticorpos específicos contra proteínas antigênicas. Os anticorpos específicos, caso estejam presentes na amostra, irão fixar-se às proteínas do *T. pallidum* aderidas nas fitas de nitrocelulose. A fita é lavada para remover o material não fixado. Os anticorpos que se fixaram especificamente às proteínas do *T. pallidum*, podem ser visualizados por uma série de reações que envolvem o uso de anticorpo anti-IgG ou anti-IgM humana conjugado à enzima ou material

radioativo. Este método é uma ferramenta adicional para confirmação da infecção pelo *T. pallidum* (Hensel *et al.*, 1985; Larsen *et al.*, 1995).

As principais proteínas utilizadas como antígenos recombinantes são a Tp17, Tp15 e Tp 47 (Miranda & Sato, 2008). Esta técnica apresentou 93,8% de sensibilidade e 100% de especificidade, com a sensibilidade igual ou superior à do FTA-ABS, constituindo-se um excelente teste confirmatório para sífilis (Byrne *et al.*, 1992).

### 1.3. OBJETIVOS

#### 1.3.1 Objetivo Geral:

Descrever a distribuição das infecções bacterianas por *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* e *Treponema pallidum* nas aldeias indígenas Bakajá, Apyterewa, Xingu e Mrotdidjãm, localizadas no município de Altamira, Pará, Brasil.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos:

- Descrever a soroprevalência das infecções pelo *T. pallidum* nas aldeias de acordo com sexo e idade.
- Descrever a soroprevalência das espécies e sorotipos de *Chlamydia* nas aldeias de acordo com sexo e idade.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Este é um estudo de prevalência, descritivo, do tipo transversal que incluiu 270 amostras de índios pertencentes às aldeias indígenas, Bakajá (109), Apyterewa (65), Xingu (45), Mrotidjãm (50) e Pot-Kro (1) atendidos pelo Centro de Testagem e Aconselhamento (CTA) de Altamira, Pará, Brasil.

### 2.2 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram coletadas no ano de 2007, pelo CTA de Altamira, a partir de uma expedição Médica, sendo encaminhadas pela Secretaria de Estado de Saúde Pública do Pará (SESPA) ao Laboratório de Virologia, do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da Universidade Federal do Pará (UFPA), com finalidade de diagnóstico.

Foram coletados 10 mL de sangue periférico em sistema de colheita a vácuo, em tubos contendo EDTA como anticoagulante. As amostras foram transportadas ao Laboratório de Virologia, onde foram processadas por centrifugação a 4.000 rotações por minuto, durante 10 minutos, para obtenção de plasma, o qual foi estocado à - 20 °C.

### 2.3 SOROLOGIA

A abordagem soroepidemiológica consistiu em testar as amostras de plasma dos indivíduos para detecção de anticorpos específicos para as bactérias *T. pallidum* e *Chlamydia*.

Para pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydia* foi utilizada a técnica de ensaio imunoenzimático do tipo ELISA e, para a determinação dos sorotipos de *C. trachomatis* e da espécie *C. pneumoniae* foi utilizada a técnica de microimunofluorescência. Para a pesquisa de anticorpos para sífilis, foram utilizados o ensaio imunoenzimático (ELISA) para detecção de anticorpos específicos e a reaginina plasmática rápida.

### **2.3.1 Ensaio Imunoenzimático (ELISA) para *Chlamydia***

Para a detecção de anticorpos anti-*Chlamydia trachomatis* foram utilizados os testes imunoenzimáticos – *Chlamydia trachomatis* IgG (*Diagnostic Automation Inc. - Microwell, Califórnia, EUA*) e *Chlamydia trachomatis* IgM (*Diagnostic Automation Inc. - Microwell, Califórnia, EUA*) que detecta anticorpos contra o gênero *Chlamydia*. As microplacas são sensibilizadas com antígeno L<sub>2</sub> de *Chlamydia trachomatis*, que reage com todas as espécies do gênero. As amostras de plasma, posteriormente, foram adicionadas às placas sensibilizadas com o antígeno.

Os anticorpos específicos IgM e/ou IgG presentes na amostra unem-se aos antígenos da fase sólida, formando imunocomplexos antígeno-anticorpo específicos. Após a primeira série de lavagens, foi adicionado um conjugado que corresponde a anticorpos monoclonais anti-IgG ou anti-IgM humana biotinilados unidos com estreptavidina e *horse radish peroxidase* (HRP) para sinalizar a soropositividade. Posteriormente, foi adicionada uma solução de substrato enzimático e cromógeno e em seguida, adicionada a solução de parada (HRP, 0.344M de ácido sulfúrico), que provoca a interrupção

da ação enzimática. A leitura do teste foi realizada através de espectrofotômetro que medirá a absorvância de cada amostra.

### **2.3.2 Microimunofluorescência para *Chlamydia trachomatis* e *C. pneumoniae***

Dentre as 72 amostras que apresentaram resultado positivo para o gênero *Chlamydia* no teste de ELISA, foi selecionada uma amostragem aleatória de 50% (36) entre os positivos, para serem sorotipadas por MIF, em diluição inicial de 1:8 em solução salina tamponada (PBS). Para realização da técnica de microimunofluorescência, as lâminas foram preparadas no Laboratório de Virologia, ICB, UFPA. Foram utilizados como antígenos, corpúsculos elementares dos 15 sorotipos de *Chlamydia trachomatis* (A, B, B<sub>a</sub>, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L<sub>1</sub>, L<sub>2</sub> e L<sub>3</sub>) e da *Chlamydia pneumoniae* (*Washington Research Foundation, Seattle, Washington, USA*).

As preparações antigênicas são constituídas de corpúsculos elementares inteiros, obtidos a partir de infecção em células HeLa 229 e purificados em gradiente de concentração, apresentando superfície intacta e tratados com formalina, sem que ocorra a modificação da antigenicidade. Cada preparação apresenta cerca de 10<sup>9</sup> partículas/ mL de CE em PBS, contendo formalina. Volumes de 0,1mL de suspensões de gema de ovo, foram adicionadas a iguais volumes de suspensões antigênicas e homogeneizadas em Vórtex com o objetivo de facilitar a fixação da suspensão de antígeno sobre a lâmina e a visualização do material ao microscópio. Para elaboração das lâminas, foi utilizado um molde com dezesseis pontos, com um espaçamento

de 5 mm de distância entre si, para orientar a distribuição dos antígenos. Com o auxílio de uma pena para tinta nanquim (*Hunt Artist's Pens 104 n 9404*), cada um dos dezesseis antígenos foi depositado sobre a lâmina e após 30 minutos de secagem, à temperatura ambiente, as lâminas foram fixadas em acetona, durante 15 minutos, em temperatura ambiente.

Após o preparo, o soro diluído a 1:8 foi depositado sobre cada um dos antígenos; as lâminas, então, foram incubadas a 37 °C, em câmara úmida, durante 30 minutos e após esse período passaram por lavagens em PBS por quatro vezes durante 5 minutos, cada lavagem, e em seguida lavadas três vezes em água destilada por 1 minuto. Após a lavagem, sem deixar a lâmina secar, foi adicionado o conjugado (imunoglobulina anti-IgG humana conjugada ao isotiocianato de fluoresceína) previamente titulado. Em seguida, as lâminas foram incubadas, como na etapa anterior, e submetidas a um novo ciclo de lavagens. Ainda observando que a lâmina não pode secar, seguiu-se a montagem, utilizando glicerina tamponada (pH 9.0). As amostras que mostraram fluorescência clara, nítida e esverdeada frente a qualquer um dos sorotipos foram consideradas positivas. Foram levado em consideração o número de CE apresentando fluorescência e a intensidade da mesma. Utilizou-se controle negativo e controle positivo.

### **2.3.3 Ensaio Imunoenzimático para Sífilis**

Para pesquisa de anticorpos anti-*Treponema pallidum* foi utilizado o teste imunoenzimático ELISA - IgG anti-*Treponema pallidum* (*Diagnostic Automation Inc.*, Califórnia, EUA) para a detecção qualitativa em

amostras de plasma. O teste será executado segundo a especificação dada pelo fabricante.

As amostras de plasma foram depositadas nos poços das placas sensibilizadas com antígenos de *Treponema pallidum* (p15, p17 e p47). As amostras que apresentarem anticorpos específicos para *T. pallidum* formaram complexos antígeno-anticorpo específicos, e então, foi adicionado o conjugado (anticorpos monoclonais anti-IgG humana biotinilados unidos com estreptavidina e *horse radish peroxidase* (HRP) para sinalizar a soropositividade. O conjugado se ligou somente aos anticorpos específicos. A leitura do teste foi realizada através de espectrofotômetro o qual medirá a absorvância de cada amostra.

#### **2.3.4 Reaginina Plasmática Rápida (RPR)**

As amostras de plasma que apresentaram reação positiva para o *T. pallidum* no teste de ELISA foram testadas pelo RPR (RPR Brás, Laborclin, Paraná, Brasil), com realização do teste qualitativo seguido do quantitativo. Para realizar a etapa qualitativa, inicialmente as amostras foram testadas puras e em uma diluição a 1:10. Em uma escavação da placa de Kline foi adicionada a amostra e uma gota (aproximadamente 50 $\mu$ L) da solução antigênica (cardiolipina-lecitina-colesterol) presente no *Kit*. A placa foi colocada em um agitador de placas mecânico (*Vórtex – Ts 2000a VDRL Shaker*) e submetida à agitação de 180  $\pm$  2 rpm, durante 4 minutos, sendo em seguida levadas para análise em microscópio óptico convencional (Microscópio Óptico, Olympus BX41, Brasil), foram utilizados os controles positivo e negativo. As amostras

consideradas reagentes apresentaram a formação de grumos.

## 2.4 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

As informações obtidas foram armazenadas no programa Microsoft Office *Excel 2007* e *Access 2007*. As análises estatísticas foram realizadas por meio do programa *Bioestat 5.0* (Ayres *et al.*, 2007) e, foi empregado teste exato de Fischer e teste não paramétrico, Qui-quadrado, com nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ).

### 3 - RESULTADOS

#### 3.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

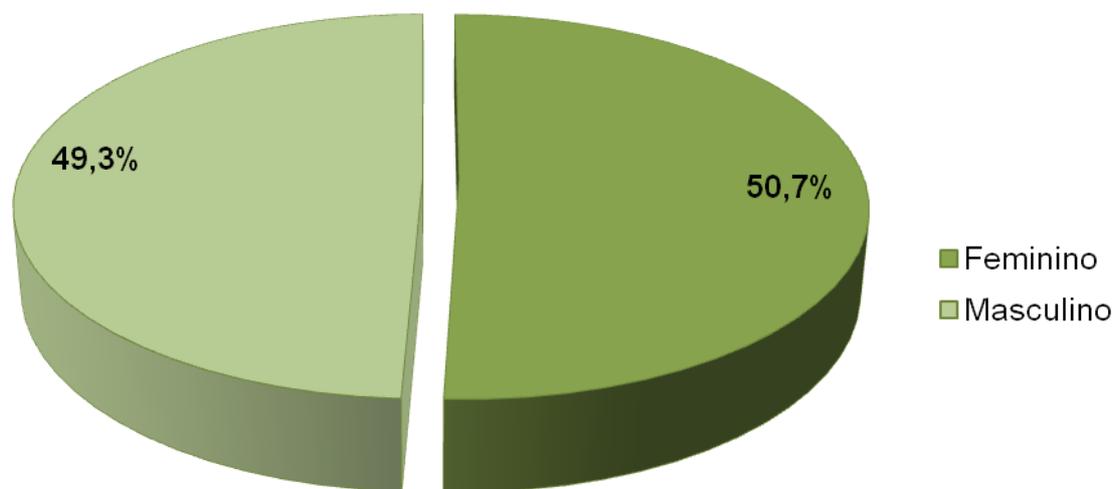
Para análise dos resultados a seguir utilizaram-se amostras de plasma de 270 indígenas provenientes do município de Altamira. Na Tabela 1 está descrito a distribuição dos indígenas, de acordo com a aldeia de origem, no município de Altamira, no ano de 2007. Verifica-se que 40,4% (109/270) das pessoas foram oriundas da aldeia Bakajá e 24,1% (65/270) da aldeia Apyterewa.

**Tabela 1** – Distribuição da população examinada, de acordo com a aldeia de origem, no município de Altamira, no ano de 2007.

<b>Aldeia</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
Bakajá	109	40,4
Apyretewa	65	24,1
Mrotidjãm	50	18,5
Xingu	45	16,7
Pot-kro	01	0,4
<b>Total</b>	<b>270</b>	<b>100,0</b>

A Figura 3 representa os valores percentuais da distribuição dos indígenas examinados de acordo com o sexo, no município de Altamira, no ano de 2007. Pode-se verificar que 50,7% (137/270) das amostras foram provenientes de indivíduos do sexo feminino e 49,3% (133/270) do sexo masculino.

É possível constatar (Tabela 2) que na aldeia Xingu o número de mulheres foi duas vezes maior que o de homens e, na Pot-kro somente um representante da aldeia (sexo masculino) foi examinado, pelo fato das amostras terem sido encaminhadas com finalidade diagnóstica.



**Figura 3** - Distribuição da população de indígenas de acordo com o sexo, no município de Altamira, no ano de 2007.

**Tabela 2** – Distribuição dos indígenas de acordo com o sexo e a aldeia, no município de Altamira, no ano de 2007.

Aldeia	Sexo		Total
	Feminino	Masculino	
Bakajá	52	57	109
Apyretewa	29	36	65
Mrotidjãm	26	24	50
Xingu	30	15	45
Pot-Kro	0	1	1
<b>Total (%)</b>	<b>137 (50,7)</b>	<b>133 (49,3)</b>	<b>270 (100)</b>

Considerando a distribuição do grupo examinado, de acordo com a faixa etária e a aldeia, no município de Altamira, observou-se (Tabela 3) que a aldeia

Mrotidjãm apresenta maior concentraçãõ de indivíduos na faixa etária de 0 a 14 anos e a aldeia Bakajá concentra o maior número de indivíduos acima de 60 anos. No total, a maioria do grupo examinado apresentou-se na faixa etária de 15 a 40 anos.

**Tabela 3** – Distribuição do grupo de indígenas, de acordo com a faixa etária e a aldeia de origem, no município de Altamira, no ano de 2007.

<b>Faixa etária (anos)</b>	<b>Bakajá</b>	<b>Apyretewa</b>	<b>Mrotidjãm</b>	<b>Xingu</b>	<b>Pot-Kro</b>	<b>Total</b>
0 a 14	16	8	18	12	0	54 (20)
15 a 20	28	18	9	4	1	60 (22,2)
21 a 30	28	20	9	12	0	69 (25,6)
31 a 40	10	6	9	4	0	29 (10,7)
41 a 50	5	7	2	7	0	21 (7,8)
51 a 60	4	3	2	2	0	11 (4,1)
Acima de 60	18	3	1	4	0	26 (9,6)
<b>Total</b>	<b>109</b>	<b>65</b>	<b>50</b>	<b>45</b>	<b>1</b>	<b>270 (100)</b>

### 3.2 SOROLOGIA

#### 3.2.1 Prevalência de anticorpos para *Chlamydia*.

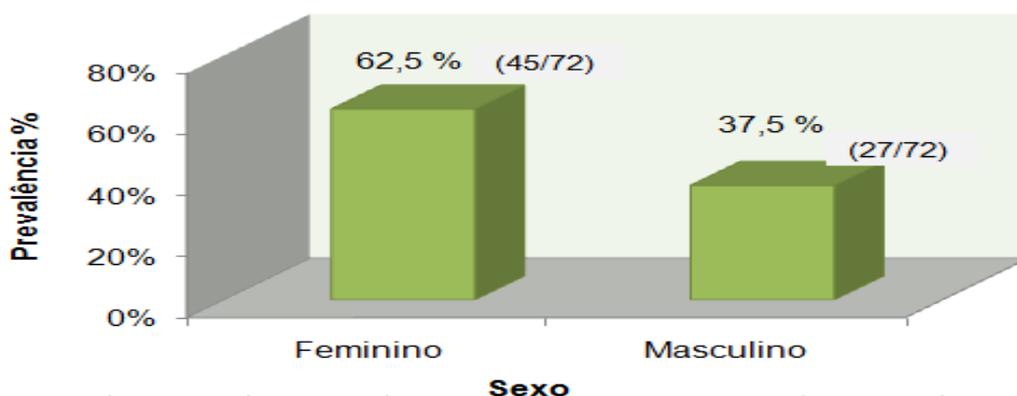
As 270 amostras de plasma examinadas foram submetidas a ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA para detecção de anticorpos anti-*Chlamydia* das classes IgG e IgM.

Verificou-se que 72 amostras (26,7%) foram positivas para anticorpos de classe IgG, sendo que nenhuma destas amostras foi soropositiva para anticorpos da classe IgM (Tabela 4). A aldeia Bakajá apresentou maior prevalência 56% (61/109) e a Mrotidjãm a menor (2,0%). A Figura 4 mostra que

dentre os positivos para anticorpos contra *Chlamydia*, 62,5% (45/72) foram mulheres, apresentando diferença significativa ( $p=0,022$ )

**Tabela 4** – Prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia*, entre indígenas, de acordo com a aldeia de origem, no município de Altamira, ano 2007.

Aldeia	n	Positivo (%)
Bakajá	109	61 (56)
Apyretewa	65	4 (6,1)
Mrotidjãm	50	1 (2,0)
Xingu	45	6 (13,3)
Pot-Kro	1	0
Total	270 (100)	72 (26,7)



**Figura 4** – Prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia*, entre indígenas, de acordo com o sexo, no município de Altamira, no ano de 2007.

A Tabela 05 apresenta a prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia*, de acordo com a faixa etária. A faixa etária de 15 a 30 anos concentrou os indivíduos com maior número de resultados positivos no teste ELISA. No entanto, não apresenta relação com a soropositividade para *Chlamydia*.

**Tabela 05** - Prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia*, entre indígenas, de acordo com a faixa etária, no município de Altamira, no ano de 2007

<b>Faixa etária (anos)</b>	<b>n</b>	<b>Positivo (%)</b>	<b>PPA *</b>
0 a 14	54	8 (11,1)	15 (8/54)
15 a 20	64	15 (20,8)	20,2 (23/114)
21 a 30	69	22 (30,6)	24,6 (45/183)
31 a 40	29	8 (11,1)	25 (53/212)
41 a 50	21	5 (7)	24,9 (58/233)
51 a 60	11	4 (5,6)	25,4 (62/244)
Acima de 60	26	10 (13,8)	26,7 (72/270)
<b>Total (%)</b>	<b>270</b>	<b>72 (100)</b>	

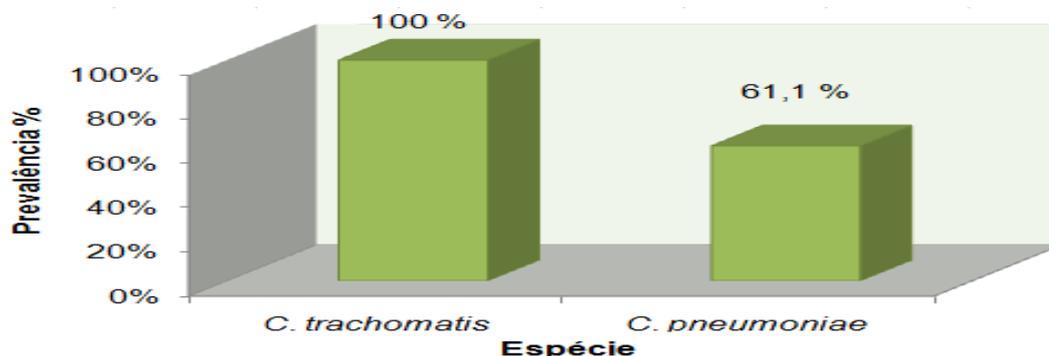
\* Percentual Positivo Acumulado

### 3.2.2 Soroprevalência de anticorpos para *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*.

A reatividade aos sorotipos da *C. trachomatis* e à *C. pneumoniae* foi determinada pelo uso do teste de MIF. Dentre as 72 amostras que apresentaram resultado positivo para o gênero *Chlamydia* no teste de ELISA, foi selecionada uma amostragem aleatória de 50% (36/72), e destas, 29 amostras foram procedentes da aldeia Bakajá, 3 da Apyretewa e 4 da aldeia Xingu. A prevalência de anticorpos para *C. trachomatis* foi de 100% (Figura 5), sendo que todas as 36 amostras testadas reagiram com um ou mais sorotipos desta espécie.

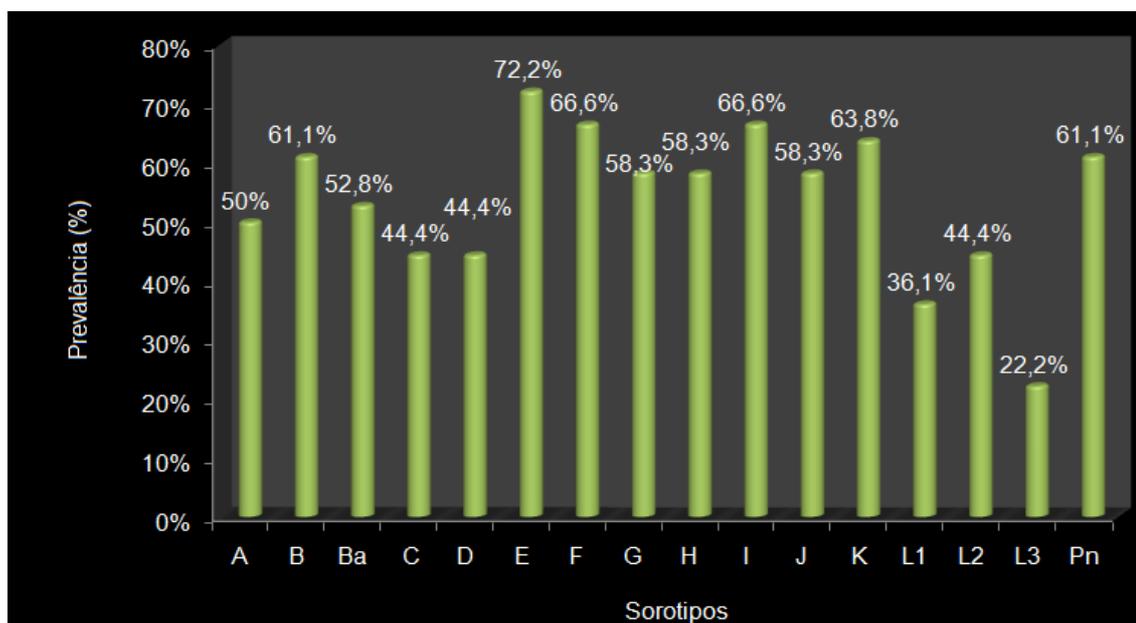
Anticorpos para *C. pneumoniae* estavam presentes em 61,1% das amostras (22/36). Nenhuma amostra apresentou sororreatividade isoladamente

para esta espécie, assim sendo, todas as amostras soropositivas para *C. pneumoniae* também foram positivas para *C. trachomatis*.



**Figura 5** – Prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*, entre indígenas, no município de Altamira, no ano de 2007.

Na Figura 6 se observa que o sorotipo E foi o mais frequente com 72,2% (26/36) de prevalência, seguido do sorotipo F com 66,7% (24/36). O sorotipo menos prevalente foi o L3 com 22,2% (8/36).



**Figura 6**-Prevalência de anticorpos da classe IgG para os sorotipos de *C. trachomatis*, entre indígenas, no município de Altamira, no ano de 2007.

### 3.2.3 Soroprevalência de anticorpos para o *Treponema pallidum*

As 270 amostras foram testadas pelo ELISA e as amostras positivas foram testadas pelo RPR, observou-se que 1,5% (4/270) das amostras foram soropositivas no ELISA, indicando que este grupo apresentou anticorpos anti-treponêmicos. Nenhuma amostra foi reagente no RPR (Tabela 06).

**Tabela 06** – Distribuição da sororreatividade ao *Treponema pallidum* por meio de um ensaio imunoenzimático (ELISA) nas aldeias indígenas Bakajá, Apyterewa, Xingu e Mrotidjãm, Altamira, Pará, ano de 2007.

Aldeia	Positivo	%
Bakajá	3	1,1
Apyretewa	1	0,4
Mrotidjãm	0	0
Xingu	0	0
Pot-Kro	0	0
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>1,5</b>

A presença de anticorpos ocorreu em maior frequência entre as mulheres, mas, não teve relação com soropositividade para o *T. pallidum* ( $p=0,328$ ). A distribuição por faixa etária mostrou maior frequência entre mulheres acima de 51 anos. Entretanto, a faixa etária não está relacionada com a reatividade para o *T. pallidum* ( $p=0,239$ ) (Tabela 7).

**Tabela 7** – Distribuição dos indígenas examinados quanto à presença de anticorpos para *Treponema pallidum* de acordo com a faixa etária e sexo, no município de Altamira, no ano de 2007.

<b>Faixa etária (anos)</b>	<b>Feminino</b>	<b>Masculino</b>	<b>Total (%)</b>
0 a 14	0	0	0
15 a 20	0	0	0
21 a 30	0	0	0
31 a 40	1	0	1 (0,37)
41 a 50	0	1	1 (0,37)
51 a 60	1	0	1 (0,37)
Acima de 60	1	0	1 (0,37)
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>1</b>	<b>4 (1,5)</b>

#### 4 - DISCUSSÃO

O presente trabalho é um estudo soropidemiológico efetuado com o intuito de conhecer a epidemiologia descritiva das bactérias do gênero *Chlamydia* – em particular as espécies *C. trachomatis* e a *C.pneumoniae* – e *T. pallidum*, entre comunidades indígenas residentes no município de Altamira, Pará, Brasil.

Este tipo de estudo permite avaliar a prevalência de infecções em uma determinada população, as quais podem ter sido introduzidas através de novas práticas culturais, afetando o estado de saúde/doença dos indivíduos (Ambrosio *et al.*, 2009).

Foram examinados 270 indivíduos procedentes de 04 comunidades indígenas. O maior número de indígenas examinados foi proveniente da aldeia Bakajá e a aldeia Xingu teve o menor número de examinados. A composição demográfica dos indivíduos foi equivalente entre ambos os sexos. A idade mínima dos examinados foi de 1 ano e a máxima foi 80 anos. A faixa etária de 15 a 40 anos concentrou a maioria dos examinados.

A prevalência de anticorpos IgG para o gênero *Chlamydia* foi de 26,7%. Este achado de positividade para *Chlamydia* é coerente com um estudo realizado nas Ilhas do Pacífico em mulheres grávidas (26,1%), sendo que esta prevalência variou de acordo com o país, com baixa prevalência nas Ilhas Salomão (7,3%) e média na Samoa (40,7%) (Cliffe *et al.*, 2008).

No entanto, foi menor que a encontrada em populações urbanas, do município de Belém, (64,2%) em portadores de HIV (Almeida, 2009). E menor também, que outro estudo realizado em indivíduos com bronquite crônica, no

município de Belém, onde se encontrou prevalência de 50% para o gênero *Chlamydia* (Costa, 2002). Em um estudo realizado em populações indígenas da Amazônia brasileira, a prevalência foi maior que neste estudo (48,5%) (Ishak & Ishak, 2001). É possível verificar que a prevalência varia de acordo com a população estudada, atingindo principalmente indivíduos com algum tipo de comprometimento no estado de saúde.

No perfil dos indígenas positivos para o gênero *Chlamydia*, em relação à aldeia, observou-se que a aldeia Bakajá teve metade dos indivíduos testados apresentando sorologia positiva e a aldeia Mrotidjãm teve o menor número de indivíduos positivos. Outro trabalho realizado com populações indígenas já havia evidenciado elevada prevalência entre os indígenas da aldeia Bakajá, este mesmo estudo, também verificou prevalência variável entre as diferentes aldeias testadas.

O emprego de método sorológico para a detecção de anticorpos de longa duração torna possível comprovar grande variabilidade de exposição associada à larga disseminação da *Chlamydia* nos grupos testados (Ishak & Ishak, 2001), desta forma, é de fundamental importância nos estudos soropidemiológicos.

Foi encontrado que o sexo tem influência sobre a presença de anticorpos para o gênero *Chlamydia* (IgG), em que foi maior em mulheres ( $p = 0,022$ ). Na população da Noruega, foram encontrados dados semelhantes, em que 61% foram mulheres (Klovstad & Aavistsland, 2009). Contudo, em indivíduos portadores de HIV, no município de Belém, a presença de anticorpos se mostrou maior em homens (56, 9%) (Almeida, 2009).

A idade mínima entre os positivos foi de 7 anos e a máxima foi 71 anos, com a faixa etária de 15 a 30 anos tendo o maior número entre os positivos. Nas Ilhas do Pacífico em mulheres grávidas a prevalência foi maior na faixa etária de 15 a 19 anos (31,4%) e diminuiu com o aumento da idade (Cliffe *et al.*, 2008). Estes números são semelhantes aos encontrados em um estudo realizado na população da Noruega, em que 40% dos indivíduos encontravam-se na faixa etária de 15 a 24 anos (Klovstad & Aavistsland, 2009). Em populações indígenas da Austrália, as prevalências específicas da faixa etária foram semelhantes a este estudo (Miller *et al.*, 2003).

Contudo, Almeida (2009) encontrou uma associação da infecção com uma faixa etária mais avançada. Frequência elevada de anticorpos IgG para *Chlamydia*, em adultos jovens, é importante, pois estes indivíduos podem estar sendo expostos a infecção em idades mais baixas, uma vez que não foi detectado anticorpos da classe IgM entre os indivíduos testados, além disso, podem estar disseminando a infecção.

As reações dos indivíduos positivos aos quinze sorotipos da *C. trachomatis* e ao antígeno de *C. pneumoniae* foi detectada por MIF. A utilização desse método tornou possível detectar que todas as amostras selecionadas reagiram para *C. trachomatis*, uma menor frequência de reações foi encontrada para *C. pneumoniae*.

Mas, em nenhuma amostra ocorreu falta de reatividade, como encontrado em um estudo anteriormente realizado com indígenas, em que a falta de reação na MIF (10,8%), poderia estar sendo causadas por *C. psittaci* ou outra espécie ainda não associada à infecção em seres humanos, como a

*C. pecorum* (Ishak & Ishak, 2001). Assim sendo, os indivíduos examinados apresentaram reatividade para espécies causadoras de diversas infecções em humanos.

Os resultados deste estudo indicam que os sorotipos associados ao tracoma estão presentes nas comunidades examinadas, nas diversas faixas etárias, sendo que somente um indivíduo, com idade de 7 anos, apresentou reatividade apenas para os sorotipos associados ao tracoma. A maior frequência detectada foi do sorotipo B. Em comunidades indígenas da Austrália foram identificados os genótipos Ba e C causando infecções oculares (Porter *et al.*, 2008).

Nos indígenas da região Amazônica as condições de saneamento ambiental, elevado número de pessoas dividindo a mesma habitação e higiene pessoal deficitária favorece a transmissão dos sorotipos associados ao tracoma (Giatti *et al.*, 2007; Reilly *et al.*, 2007). Isto pode ser confirmado por evidências de sinais clínicos do tracoma nestes grupos (Paula *et al.*, 2002). Os resultados comprovam que a cadeia de transmissão não está sendo interrompida, apesar das medidas de prevenção e disseminação desta doença serem simples e eficazes.

Entre os sorotipos associados às infecções sexualmente transmissíveis, todos os estavam presentes, bem como, os sorotipos associados ao linfogranuloma venéreo. Dentre estes, o E foi mais frequente e entre os sorotipos associados ao linfogranuloma venéreo, o L2 foi o mais frequente e o L3 foi o menor. Em indivíduos portadores de HIV de Belém o sorotipo L1 foi o mais prevalente (Almeida, 2009). Ishak & Ishak (2001) já haviam detectado a

ocorrência de sorotipos relacionados a IST e ao linfogranuloma venéreo em comunidades indígenas.

Além da clamídia, a transmissão sexual do HTLV foi evidenciada em grupos indígenas da região Amazônica, este achado comprova a ocorrência de outros agentes infecciosos que comprometem a fertilidade destas comunidades com pouco ou nenhum recurso médico disponível e que estão propensas a contatos com pessoas não diretamente relacionadas com a comunidade (Ishak *et al.*, 2003). Estes fatos estão aliados a falta de conhecimento sobre os modos de transmissão destas doenças e a ocorrência maior de clamídia nas mulheres (Wiik, 2001).

Portanto, os resultados mostram que os sorotipos transmitidos por via sexual estão disseminados nestas comunidades, sendo relevante, uma vez, que foi encontrada uma associação significativa da infecção com o sexo feminino, em idade fértil, pois além das infecções genitais como a cervicite, os sorotipos causadores de IST estão associados com aborto e infertilidade.

Anticorpos para *C. pneumoniae* foram detectados em 61,1% das 36 amostras testadas. Prevalência mais baixa (25%) foi encontrada em pacientes com doenças respiratórias em Belém (Costa, 2002). Na Tailândia, a prevalência entre paciente hospitalizados com pneumonia adquirida na comunidade foi de 8,7% (Reechaipichitkul *et al.*, 2005). Almeida (2009) detectou prevalência mais altas de anticorpos IgG (73,5%) e IgM (70,5%) para *C. pneumoniae* em indivíduos portadores de HIV.

No entanto, em populações indígenas da Amazônia já se detectou uma maior frequência de reações para a *C. pneumoniae* do que neste estudo (Ishak

& Ishak, 2001). A circulação desta espécie nestas comunidades é importante, já que nas habitações destes indivíduos convive um grande número de pessoas, em contato íntimo, sem condições de higiene e também a inacessibilidade do diagnóstico laboratorial favorece a transmissão desta bactéria e, acabam ficando sem tratamento adequado para estes casos.

Com o objetivo de descrever a soroprevalência de *T. pallidum* nas comunidades indígenas. Detectou-se baixa prevalência de anticorpos anti-*Treponema* pelo teste de ELISA e não houve casos de RPR positivo. Desta forma, nenhuma amostra teve ambos os resultados positivos, o que indicaria uma infecção presente ou latente (Peterman *et al.*, 2008). Mas, os indivíduos positivos no ELISA podem estar no início da infecção pelo *T. pallidum* quando os testes não-treponêmicos como o RPR, ainda apresentam resultados não reagentes (LaFond & Lukehart, 2006). Estes indivíduos, também podem ter tido a infecção em algum momento no passado, mas não se pode distinguir se a infecção foi ou não tratada. Estes testes podem produzir resultados reagentes para a vida toda, mesmo após um tratamento adequado para a sífilis (Peterman *et al.*, 2008).

Assim como neste trabalho, um estudo realizado com grávidas na Nicarágua encontrou valores semelhantes (1,5%) (Hoekstra *et al.*, 2006). No sul do Brasil, se verificou que, apesar da tribo de índios Kaingang apresentarem alta taxa de miscigenação, foi observado ausência de casos de *T. pallidum*, pelo RPR, e nenhum caso de infecção pelo HIV-1 (Ambrosio *et al.*, 2009). Anticorpos anti-cardiolipina e anti-treponêmicos foram encontrados em 3,9% e 3,2% respectivamente, entre indígenas da Amazônia peruana (Bartlett

*et al.*, 2008). Entre índios Chayahuitas do Peru, observou-se prevalência de 6,3% (Zavaleta *et al.*, 2007).

No México a soroprevalência para o *T. pallidum* foi de 3,1% em adultos (Conde-González, 2007). Prevalências superiores foram detectadas em portadores de HIV-1 na cidade de Belém (34,9%) (Almeida, 2009). O baixo conhecimento sobre IST, a baixa adesão ao uso do preservativo e as relações sexuais extraconjugais, inclusive com trabalhadoras do sexo da área urbana, fazem parte da cultura indígena (Zavaleta *et al.*, 2007; Bartlett *et al.*, 2008).

Podemos constatar que a frequência desta IST nestes grupos populacionais difere dos achados em populações urbanas. Apesar destes grupos indígenas da Amazônia estarem em comunidades isoladas, Bartlett e colaboradores (2008) evidenciaram que existe contato entre indígenas e populações urbanas, proporcionando uma persistente rota pela qual os indivíduos podem ser infectados com IST na área urbana e reintroduzir as infecções em suas comunidades de origem.

Considerando o sexo, o maior número de casos positivos para o *T. pallidum* foi observado em mulheres. Este mesmo achado foi observado com a positividade para *Chlamydia* neste estudo. Em um surto ocorrido em tribos indígenas americanas verificou-se que a maioria dos casos ocorreu em mulheres (Johnson *et al.*, 2010). Contudo, em grupos indígenas do Peru o número de positivo foi maior em homens (Zavaleta *et al.*, 2007; Bartlett *et al.*, 2008). A infecção em mulheres é preocupante por causa da sífilis congênita, mas em homens, mesmo que a infecção afete um pequeno número, isso pode ter um grande impacto sobre a saúde de uma grande parte da população.

Neste estudo a metade dos casos foi em indivíduos com idade acima de 51 anos. Em mulheres grávidas da Nicarágua 75% dos positivos foram na faixa etária de 21 a 30 anos (Hoekstra *et al.*, 2006). Nos índios chayahuitas, do Peru, observou-se que a prevalência também aumentou com a idade, sendo maior na faixa etária de 46 a 60 anos (Zavaleta *et al.*, 2007).

Em grupos indígenas americanos, a maioria dos casos de sífilis foi detectada em pessoas com idade acima de 25 anos (Johnson *et al.*, 2010). Entre indivíduos não indígenas, Almeida (2009) encontrou proporção maior de positividade na faixa etária de 37 a 58 anos. A ocorrência da positividade no ELISA em indivíduos com idade mais elevada pode indicar infecção passada.

O presente estudo confirma a presença de *Chlamydia* e *T. pallidum* nas comunidades indígenas da Amazônia brasileira e estabelece soroprevalências para ambos os agentes, nestas comunidades, inferiores às encontradas em estudo anteriores, em outras comunidades indígenas. O fato destes agentes estarem presentes na populações indígenas, que têm hábitos culturais diferentes das populações urbanas é preocupante, pois estas podem se disseminar silenciosa e rapidamente, afetando todas as faixas etárias.

Pelo fato de todos os sorotipos da *C. trachomatis* e a *C. pneumoniae* estarem presentes nas amostras testadas, pode-se ter nestes grupos uma variedade de doenças, que incluem infecções oculares, como a conjuntivite neonatal e o tracoma em crianças; infecções sexualmente transmissíveis em adultos e adolescentes; infecções pulmonares causadas pela *C. pneumoniae* em indivíduos idosos.

Ainda existem poucos dados sobre infecções sexualmente transmissíveis disponíveis sobre populações indígenas, principalmente das causadas pela *Chlamydia*. Os estudos realizados sobre soroprevalência destas infecções são direcionados, prioritariamente, a grupos específicos de populações urbanas, havendo preocupação maior para o risco de expor populações urbanas a essas infecções, do que aos riscos de se introduzir as infecções e doenças, originadas nos grupos urbanos, em populações indígenas.

Os resultados mostram que a *Chlamydia* e o *T. pallidum* são mais frequentes nas mulheres que correm o risco de abortamento e sequelas crônicas da infecção por clamídia, sendo necessário implementar estratégias para prevenir a propagação destas infecções que são um problema de saúde pública, mas que podem ser resolvidos.

## 5 – CONCLUSÕES

(i) A prevalência de anticorpos da classe IgG para *Chlamydia* entre indígenas residentes no município de Altamira foi de 26,7% e nenhum indivíduo examinado apresentou anticorpos da classe IgM;

(ii) A aldeia Bakajá apresentou a maior prevalência de anticorpos para *Chlamydia*, envolvendo mais da metade de seus integrantes e a aldeia Mrotdjãm teve o menor número.

(iii) Foi encontrada uma associação significativa entre a infecção por *Chlamydia* e o sexo feminino, mas não com a idade;

(iv) Todos os indivíduos (100%) que mostraram anticorpos para *Chlamydia* foram positivos para um ou mais sorotipos de *C. trachomatis* e 61,1% para *C. pneumoniae*.

(v) Os sorotipos mais prevalentes na população indígena foram o E e o F associados a transmissão sexual;

(vi) A prevalência de anticorpos anti-*Treponema* foi baixa e não se evidenciou nenhum caso apresentando resultado laboratorial indicativo de sífilis.

## 6 REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, N.C.C. Soroepidemiologia da *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* e *Treponema pallidum* em portadores do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), no Estado do Pará. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2009.
- AMBROSIO, A. R., BRAGA, CHIU Y. Y., BRAGA, D., BARBOSA, L. E., MARTINELLI, E. M.P., KAMEI, S. M. A., GILBER, S. R., REASON, I. J. T. M. Soroepidemiologia para HIV, HTLV e Sífilis em índios Kaingang do Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, **41**: 221-222, 2009.
- AGARWAL, A., CHANDER, Y. Chronic *Chlamydia pneumoniae* infection and bronchial asthma: is there a link? **Indian Journal Medical Microbiology**, **26**: 338-41, 2008.
- AGGARWAL, K., JAIN, V. K.; GUPTA, S. Bilateral groove sign with penoscrotal elephantiasis. **Sexually Transmitted Infections**, **78**:458–458, 2002.
- AYRES, M., AYRES JR, M., AYRES, D. L. & SANTOS A. S. **Bioestat 5.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas**. Sociedade Civil de Mamirauá, Belém, 2007.
- AZEVEDO, L. K. A., FERNANDES, P. S. G., GERALDO, DANY, SILVA, K. C., NETO, M. J. B.; QUEIROZ, M.G.L.; DANTAS, V. C. R.; SALES, V. S. F., JÚNIOR, G. B. C. Caracterização e correlação do fenômeno pró-zona com títulos de sororeatividade do VDRL e reação de imunofluorescência indireta em soros de pacientes com sífilis. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, **38**: 183-187, 2006.

- BAKKEN, I. J.; SKJELDESTAD, F. E.; HALVORSEN, T. F.; THOMASSEN, T.; STORVOLD, G.; NORDBO, S. A. *Chlamydia trachomatis* Among Young Norwegian Men: Sexual behavior and Genitourinary Symptoms. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 245–249, 2007a.
- BAKKEN, I. J., SKJELDESTAD, F. E., NORDBO, S. A. *Chlamydia Trachomatis* Infections Increase the Risk for Ectopic Pregnancy: A Population-Based, Nested Case–Control Study. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 166–169, 2007b.
- BANDEA, C. I., DEBATTISTA, J., JOSEPH, K., IGIETSEME, J., TIMMS, P., BLACK, C. M. *Chlamydia trachomatis* Serovars among Strains Isolated from Members of Rural indigenous Communities and Urban Populations in Australia. **Journal of Clinical Microbiology**, **46**: 355–356, 2008.
- BARTLETT, E. C., ZAVALETA, C., FERNANDEZ, C., RAZURI, H., VILCARROMERO, S., VERMUND, S. H., GOTUZZO, E. Expansion of HIV and syphilis into the Peruvian Amazon: a survey of four communities of an indigenous Amazonian ethnic group. **International Journal of Infectious Diseases**, **12**: 89–94, 2008.
- BARNES, R. C. Laboratory Diagnosis of Human *Chlamydial* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, **2**: 119–136, 1989.
- BAUGHN, R. E., MUSER, D. M. Secondary Syphilitic Lesions. **Clinical Microbiology Reviews**, **18**: 205–216, 2005.
- BLACK, C. M. Current Methods of Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. **Clinical Microbiology Reviews**, **10**: 160–184, 1997.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. Manual de Controle do Tracoma. Brasília: MS, 2001.p. 8-9.

**BRASIL.** Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico:** Dezembro 2008, Brasil. Disponível em: <[http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/aids\\_2007.pdf/](http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/aids_2007.pdf/)> Acesso em: 15/03/09.

BREMER, V., MEYER, T., MARCUS. U., HAMOUDA, O. Lymphogranuloma venereum emerging in men who have sex with men in Germany. **Eurosurveillance**, **11**: 152-154, 2006.

BRINKMAN, M. B., MCGILL, M. A., PETTERSSON, J., ROGERS, A., MATEJKOVÁ, P., SMAJS, D., WEINSTOCK, G. M., NORRIS, S. J., PALZKILL, T. A Novel *Treponema pallidum* Antigen, TP0136, Is an Outer Membrane Protein That Binds Human Fibronectin. **Infection and Immunity**, **76**: 1848-1857, 2008.

BURSTAIN, J.M.; GRIMPREL, E., LUKEHART, S.A., NORGARD, M.V.,RADOLF, J. D. Sensitive Detection of *Treponema pallidum* by Using the Polymerase Chain Reaction. **Journal of Clinical Microbiology**, **29**: 62-69, 1991.

BURTON, M. J.Trachoma: an Overview. **British Medical Bulletin**, **84**: 99–116, 2007.

BYRNE, R.E., LASKA, S., BELL, M., LARSON, D., PHILLIPS, J., TODD, J. Evaluation of a *Treponema pallidum* Western Immunoblot Assay as a Confirmatory Test for Syphilis.**Journal of Clinical Microbiology**, **30**:115-122, 1992.

CALDWELL, H. D., KROMHOUT, J., SCHACHTER, J. S. Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*.

- Infection and Immunity** 31:1161-1176, 1981.
- CAMERON, C. E. Identification of a *Treponema pallidum* laminin binding protein. **Infection and Immunity**, 71: 2525–2533, 2003.
- CAMERON, C.E., BROWN, E.L., KUROIWA, J.M.Y., SCHNAPP, L.M., BROUWER, N.L. *Treponema pallidum* Fibronectin-Binding Proteins. **Journal of Bacteriology**, 186: 7019–7022, 2004.
- CAMPBELL, L.A., KUO, C.C. GRAYSTON, J. T. Structural and antigenic analysis of *Chlamydia pneumoniae*. **Infection and Immunity**, 58: 93-97, 1990.
- CAMPBELL, L. A., KUO, C.C., GRAYSTON, J.T. *Chlamydia pneumoniae* and Cardiovascular Disease. **Emerging Infectious Diseases**. 4: 571-579, 1998.
- CARLSON, J.H., PORCELLA, S.F., MCCLARTY, G., CALDWELL, H.D. Comparative genomic analysis of *Chlamydia trachomatis* oculotropic and genitotropic strains. **Infection and Immunity**, 73: 6407–641, 2005.
- CASTRO, R., BAPTISTA, T., VALE, A., NUNES, H., PRIETO, E., MANSINHO, K., PEREIRA, F. M. L. Anorectal lymphogranuloma venereum: the first two confirmed cases in Portugal. **Eurosurveillance**, 13: 8-9, 2008.
- CENTERS FOR DISEASES CONTROL AND PREVENTION.** Sexually Transmitted Disease Surveillance, 2007. National profile, 2008.
- CENTURION-LARA, A.; CASTRO, C.; SHAFFER, J. M.; VOORHIS, W. C. V.; MARRA, C. M.; LUKEHART, S. A. Detection of *Treponema pallidum* by a Sensitive Reverse Transcriptase PCR. **Journal of Clinical Microbiology**, 35:1348–1352, 1997.
- CENTURION-LARA, A., MOLINI, B. J., GODORNES, C., SUN, E., HEVNER, K., VAN VOORHIS, W. C., LUKEHART, S. A. Molecular Differentiation of

- Treponema pallidum* Subspecies. **Journal of Clinical Microbiology**, **44**: 3377-3380, 2006.
- CHEDID, M. B., CHEDID, M. F., ILHA, D. O., BOZZETTI, M. C., CHAVES, L., GRIZA, D., DALCIN, P. R. Community-Acquired Pneumonia by *Chlamydophila pneumoniae*: A Clinical and Incidence Study in Brazil. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **11**: 75-82, 2007.
- CHEN, C.J., WU, K.G., TANG, R.B., YUAN, H.C., SOONG, W.J., HWANG, B.T. Characteristics of *C.trachomatis* infection in hospitalized infants with lower respiratory tract infection. **Journal Microbiology, Immunology and Infection**, **40**: 225-259, 2007.
- CHERNESKY, M. A. The laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. **The Canadian Journal of Infectious Diseases Medical & Microbiology**, **16**: 39-44, 2005.
- CHI, E. Y., KUO, C.C., GRAYSTON, J. T. Unique ultrastructure in the elementary body of *Chlamydia* sp. Strain TWAR. **Journal of Bacteriology**, **169**:3757-3763, 1987.
- CLIFFE, S. J., TABRIZI, S., SULLIVAN, E.A. Chlamydia in the Pacific Region, the Silent Epidemic. **Sexually Transmitted Diseases**, **35**: 801–806, 2008.
- CODES, J. S., COHEN, D. A., MELO, N. A., TEIXEIRA, G. G., LEAL, A. D. S., SILVA, T. D. J., OLIVEIRA, M. P. R. Detecção de doenças sexualmente transmissíveis em ambientes clínicos e não clínicos na Cidade de Salvador, Bahia, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, **22**: 325-334, 2006.
- CONDE-GONZÁLEZ, C.J., VALDESPINO, J.L., JUÁREZ-FIGUEROA, L.A., PALMA, O., OLAMENDI-PORTUGAL, M., OLAIZ-FERNÁNDEZ, G.,

- SEPÚLVEDA, J. Prevalencia de anticuerpos antitreponémicos y características sociodemográficas de la población mexicana adulta en el año 2000. **Salud pública de México**, **49**: 412-420, 2007.
- COSTA, M. M. **Soroepidemiologia da *Chlamydia trachomatis* e de *Chlamydia pneumoniae* em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica e asma e em pacientes com doença coronariana isquêmica**. Dissertação (Mestrado em Biologia de Agentes Infecciosos e Parasitários) – Belém, Universidade Federal do Pará, 2002. 138p.
- CREEGAN, L., BAUER, H. M., SAMUEL, M. C., KLAUSNER, J., LISKA, S., BOLAN, G. An Evaluation of the Relative Sensitivities of the Venereal Disease Research Laboratory Test and the *Treponema pallidum* Particle Agglutination Test Among Patients Diagnosed With Primary Syphilis. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**:1016–1018, 2007.
- EVERETT, K. D. E., BUSH, R. M., ANDERSEN, A. A. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **49**: 415-440, 1999.
- FERMEPIN, M. R., ENTROCASSI, C.A., SAUKA, D. H., VAULET, M. L. G., COROMINAS, A. I. *Chlamydia trachomatis* Serovars in Buenos Aires, Argentina: Predominance of Serovar E in Ophthalmia Neonatorum. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 1041, 2007.

- FIELDSTEEL, A. H., COX, D. L., MOECKLI, R. A. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture. **Infection and Immunity**, **32**: 908-915, 1981.
- FITZGERALD, T. J., MILLER, J. N., SYKES, J. A. *Treponema pallidum* (Nichols Strain) in Tissue Cultures: Cellular Attachment, Entry, and Survival. **Infection and Immunity**, **11**: 1133-1140, 1975.
- FRASER, C. M., NORRIS, S. J., WEINSTOCK, G.M., WHITE, O., SUTTON, G. G., DODSON, R., GWINN, M., HICKEY, E. K., CLAYTON, R., KETCHUM, K. A., SODERGREN, E., HARDHAM, J. M., MCLEOD, M.P, SALZBERG, S., PETERSON, J., KHALAK, H., RICHARDSON, D., HOWELL, J. K., CHIDAMBARAM, M., UTTERBACK, T., MCDONALD, L., ARTIACH, P., BOWMAN, C., COTTON, M. D., FUJII, C., GARLAND, S., HATCH, B., HORST, K., ROBERTS, K., SANDUSKY, M., WEIDMAN, J., SMITH, H.O., VENTER, J. C. Complete Genome Sequence of *Treponema pallidum*, the Syphilis Spirochete. **Science**, **281**: 375 – 388, 1998.
- FRENCH, P., GOMBERG, M., JANIER, M., SCHMIDT, B., VAN VOORST VADER, P., YOUNG, H. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. **International Journal of STD & AIDS**, **20**: 300–309, 2009.
- FRIIS, R. R. Interaction of L cells and *Chlamydia psittaci*: entry of the parasite and host responses to its development. **Journal of Bacteriology**, **110**:706-721, 1972.
- FUKUSHI. H., HIRAI, K. Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for *Chlamydia* Strains Derived from Ruminants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **42**: 306-308, 1992.

- GAO, X., CHEN, X. S., YIN, Y.P., ZHONG, M. Y., SHI, M. Q., WEI, W. H., CHEN, Q., PEELING, R. P., MABEY D. Distribution Study of *Chlamydia trachomatis* Serovars among High-Risk Women in China Performed Using PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism Genotyping. **Journal of Clinical Microbiology**, **45**: 1185–1189, 2007.
- GAYDOS, C. A.; KENT, C. K.; RIETMEIJER, C. A.; WILLARD, N. J.; MARRAZZO, J. M.; CHAPIN, J.B.; DUNNE, E. F.; MARKOWITZ, L.E.; KLAUSNER, J.D.; ELLEN, J. M.; SCHILLINGER, J. A. Prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* Among Men Screened for *Chlamydia trachomatis* in Four United States Cities, 1999–2003. **Sexually Transmitted Diseases**, **33**:314–319, 2006.
- GAYDOS, C.A., FERRERO, D.V., PAPP, J. Laboratory aspects of screening men for *Chlamydia trachomatis* in the new millennium. **Sexually Transmitted Diseases**, **35**: 45-50, 2008.
- GEISLER, W.M.; CHOW, J. M.; SCHACHTER, J.; MCCORMACK, W. M. Pelvic Examination Findings and *Chlamydia trachomatis* Infection in Asymptomatic Young Women Screened With a Nucleic Acid Amplification Test. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**:335–338, 2007.
- GERBER, A. R.; KING, L. C.; DUNLEAVY, G. J.; NOVICK, L. F. An Outbreak of Syphilis on an Indian Reservation: Descriptive Epidemiology and Disease-Control Measures. **American Journal Public Health**, **79**: 83-85, 1989.
- GIATTI, L. L., ROCHA, A. A., TOLEDO, R.F., BARREIRA, L.P., RIOS, L., PELICIONI, M.C.F., MUTTI, L. V., CUTOLO, S. A. Condições sanitárias e socioambientais em Iauaretê, área indígena em São Gabriel da Cachoeira, AM. **Ciência e saúde coletiva**, **12**: 1711-1724, 2007.

- GOH, B. Syphilis in adults. **Sexually Transmitted Infections**, **81**: 448–452, 2005.
- GOLDSCHMIDT, P., VANZZINI, Z. V., DIAZ, V. L., GARCIA, L.E., MONTOYA, C. M., PERALTA, B., MERCADO, M. *Chlamydia trachomatis* in the conjunctiva of children living in three rural areas in Mexico. **Revista Panamericana de Salud Publica**, **22**:29–34, 2007.
- GRAYSTON, J. T., KUO, C.C., CAMPBELL, L. A., WANG, S.P. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. Strain TWAR. **International Journal Systematic Bacteriology**. **39**:88-90, 1989.
- GUTIERREZ-GALHARDO, M.C.; VALLE, G.F.; SÁ, F.C.S.; SCHUBACH, A.O. & VALLE, A.C.F. - Clinical characteristics and evolution of syphilis in 24 HIV+ individuals in Rio de Janeiro, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **47**: 153-157, 2005.
- HATCH, T.P., MICELI, M., SUBLETT, J.E. Synthesis of disulfide-bonded outer membrane proteins during the developmental cycle of *Chlamydia psittaci* and *Chlamydia trachomatis*. **Journal of Bacteriology**, **165**: 379 - 385, 1986.
- HARRISON, H.R., BOYCE, T., HAFFNER, W. H. J., CROWLEY, B., WEINSTEIN, L., LEWIS, M., ALEXANDER, E. R. The prevalence of Genital *Chlamydia trachomatis* and Mycoplasmal infections during pregnancy in an American Indian population. **Sexually transmitted diseases**, **10**: 184-186, 1983.
- HENSEL, U.; WELLENSIEK, H.-J.; BHAKDI, S. Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrylamide Gel Electrophoresis Immunoblotting as a Serological Tool in the

- Diagnosis of Infections Syphilitic. **Journal of Clinical Microbiology**, **21**: 82-87,1985.
- HOEKSTRA, C. E. L., RIEDIJK, M., MATUTE, A.J., HAK, E., DELGADO, E., ALONSO, R.E., BENAVIDES, M.D., LOON, A.M.V., HOEPELMAN, I.M. PREVALENCE OF HIV AND SYPHILIS IN PREGNANT WOMEN IN LEÓN, NICARAGUA. **American. Journal Tropical Medicine Hygiene**, **75**(3): 522–525, 2006.
- HOGAN, R. J., MATHEWS, S. A., MUKHOPADHYAY, S., SUMMERSGILL, J. T., TIMMS, P. Chlamydial Persistence: beyond the Biphasic Paradigm. **Infection and Immunity**, **72**:1843–1855, 2004.
- HOURIHAN, M.; WHEELER, H.; HOUGHTON, R.; GOH, B. T. Lessons from the syphilis outbreak in homosexual men in east London. **Sexually Transmitted Infections**, **80**: 509–511, 2004.
- HUNTER, E. F.; DEACON, W. E.; MEYER, P.E. An Improved FTA Test for Syphilis, The Absorption Procedure (FTA-ABS). **Public Health Reports**, **79**: 410-412,1964.
- HYBISKE, K., STEPHENS, R.S. Mechanisms of *Chlamydia trachomatis* Entry into Nonphagocytic Cells. **Infection and Immunity**, **75**: 3925–3934, 2007a.
- HYBISKE, K., STEPHENS, R.S. Mechanisms of host cell exit by the intracellular bacterium *Chlamydia*. **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, **104**:11430-11435. 2007b.
- ISHAK, M. O. G., MUMTAZ, G., ISHAK, R., RIDGWAY, G. L. Prevalência de anticorpos para *Chlamydia trachomatis* em grupos populacionais do Brasil,

- Inglaterra e Portugal. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **30**: 40-44, 1988.
- ISHAK, M. O. G. & ISHAK, R. O impacto da infecção por *Chlamydia* em populações indígenas da Amazônia brasileira. **Cadernos de Saúde Pública**, **17**: 385-396, 2001.
- ISHAK, R.; VALLINOTO, A. C. R.; AZEVEDO, V. N.; ISHAK, M. O. G. Epidemiological aspects of retrovirus (HTLV) infection among Indian populations in the Amazon Region of Brazil. **Cadernos de Saúde Pública**, **19(4)**: 901-914, 2003.
- JAVALOY, J., FERRER, C., VIDAL, M.T., ALIÓ, J. L. Follicular conjunctivitis caused by *Chlamydia trachomatis* in an infant Saharan population: molecular and clinical diagnosis. **British Journal of Ophthalmology**, **87**: 142–146, 2003.
- JESPERSEN, D. J., FLATTEN, K. S., JONES, M. F., SMITH, T. F. Prospective Comparison of Cell Cultures and Nucleic Acid Amplification Tests for Laboratory Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, **43**: 5324–5326, 2005.
- JHA, H.C., VARDHAN, H., GUPTA, R., VARMA, R., PRASAD, J., MITTAL, A. Higher incidence of persistent chronic infection of *Chlamydia pneumoniae* among coronary artery disease patients in India is a cause of concern. **BMC Infectious Diseases**, **7**: 48, 2007.
- JOESOEUF, M. R., WEINSTOCK, H. S., KENT, C. K., CHOW, J. M., BOUDOV, M.R., PARVEZ, F.M., COX, T., LINCOLN, T., MILLER, J. L., STERNBERG, M. Sex and Age Correlates of *Chlamydia* Prevalence in Adolescents and Adults

- Entering Correctional Facilities, 2005: Implications for Screening Policy. **Sexually Transmitted Diseases**, **36**: 67–71, 2009.
- JOHNSON, R. C., RITZI, D. M., LIVERMORE, B. P. Outer Envelope of Virulent *Treponema pallidum*. **Infection and Immunity**, **8**: 291-295, 1973.
- JOHNSON, M., URQUIDI, A., LOZANO, R., NORTON, J., ANDREWS, C., LORENTINE, A., FALLON, A., ZIEGLER, P., HOBBS, D., BROWN, G., TULLOCH, S., RAVELLO, L., PETERMAN, T., TAYLOR, M., Syphilis Outbreak Among American Indians — Arizona, 2007–2009. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, **59**: 158-161, 2010.
- KASSUTTO, S., DOWEIKO, J.P. Syphilis in the HIV Era. **Emerging Infectious Diseases**, **10**: 1471-1473, 2004.
- KAUFMAN, C.E., SHELBY, L., MOSURE, D. J., MARRAZZO, J., WONG, D., RAVELLO, L., RUSHING, S. C., WARREN-MEARS, V., NEEL, L., EAGLE, S.J., TULLOCH, S., ROMERO, F., PATRICK, S., AND CHEEK, J. E. Within the Hidden Epidemic: Sexually Transmitted Diseases and HIV/AIDS Among American Indians and Alaska Natives. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 767–777, 2007.
- KEAT, A. C., MAINI, R. N., NKWAZI, G. C., PEGRUM, G. D., RIDGWAY, G. L., SCOTT, J.T. Role of *Chlamydia trachomatis* and HLA-B27 in sexually acquired reactive arthritis. **British Medical Journal**, **1**: 605-607, 1978.
- KLEBA, B. J., BANTA, E., LINDQUIST, E. A., STEPHENS, R. S. Recruitment of mammalian cell fibronectin to the surface of *Chlamydia trachomatis*. **Infection and Immunity**, **70**: 3935–3938, 2002.

- KLOVSTAD, H., AAVITSLAND, P., *Chlamydia Trachomatis* Infections in Norway, 1986 to 2006, Surveillance Data. **Sexually Transmitted Diseases, 36:** 17-21, 2009.
- KROPP, R. Y., WONG, T., Emergence of lymphogranuloma venereum in Canada. **Canadian Medical Association Journal, 172:**1674–6, 2005.
- KUIPERS, J.G., SCHARMANN, K., WOLLENHAUPT, J., NETTELNBREKER, S.H., ZEIDLER, H. Sensitivities of PCR, Micro Trak, ChlamydiaEIA, IDEIA and PACE2 for purified *Chlamydia trachomatis* elementary bodies in urine, peripheral blood, peripheral blood leukocytes, and synovial fluid. **Journal of Clinical Microbiology, 33:** 3186-3190, 1995.
- KUO, C.C., CHEN, H.H., WANG, S.P., GRAYSTON, J. T. Identification of a new group of *Chlamydia psittaci* strains called TWAR. **Journal of Clinical Microbiology, 24:**1034-1037, 1986.
- KUO, C.C., JACKSON, L.A., CAMPBELL, L. A., GRAYSTON, J.T. *Chlamydia pneumoniae* (TWAR). **Clinical Microbiology Reviews, 8:** 451–461, 1995.
- LAFOND, R. E., LUKEHART, S. A. Biological Basis for Syphilis. **Clinical Microbiology Reviews, 19:** 29–49, 2006.
- LARSEN, S. A., STEINER, B. M., RUDOLPH, A.H. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis. **Clinical Microbiology Reviews, 8:** 1–21, 1995.
- LEE, R. V.; BLACK, F. L.; HIERHOLZER, W. J. J.; WEST, B. L. A Novel Pattern of Treponemal Antibody Distribution in Isolated South American Indian Populations. **American Journal of Epidemiology, 107:** 46-53, 1978.

- LESLIE, D. E.; AZZATO, F.; KARAPANAGIOTIDIS, T.; LEYDON, J.; FYFE, J. Development of a Real-Time PCR Assay To Detect *Treponema pallidum* in Clinical Specimens and Assessment of the Assay's Performance by Comparison with Serological Testing. **Journal of Clinical Microbiology**, **45**: 93–96, 2007.
- LEWIS, V.J., THACKER, W. L., MITCHELL, S. H. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Chlamydial Antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**, **6**: 507-510, 1977.
- LIMA, H. E., OLIVEIRA, M.B., VALENTE, B.G., AFONSO, D.A.F., DAROCHA, W. D., SOUZA, M.D.C.M., ALVIM, T.C., BARBOSA-STANCIOLI, E.F., NORONHA, F.S.M. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* From Endocervical Specimens in Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**:709–717, 2007.
- MABEY, D., PEELING, R. W. Lymphogranuloma venereum. **Sexually Transmitted Infections**, **78**: 90-92, 2002.
- MELESE, M., CHIDAMBARAM, J. D., ALEMAYEHU, W., LEE, D. C., YI, E. H., CEVALLOS, V., ZHOU, Z., DONNELLAN, C., SAIDEL, M., WHITCHER, J. P., GAYNOR, B. D., LIETMAN, T. M. Feasibility of Eliminating Ocular *Chlamydia trachomatis* With Repeat Mass Antibiotic Treatments. **The Journal of the American Medical Association**, **292**: 721-725, 2004.
- MELESE, M., WEST, E. S., ALEMAYEHU, W., MUNOZ, B., WORKU, A., GAYDOS, C.A., WEST, S.K. Characteristics of trichiasis patients presenting for surgery in rural Ethiopia. **British Journal of Ophthalmology**, **89**: 1084–1088, 2005.

- MEYERHOF, M. A short history of ophthalmia during the egyptian campaigns of 1798-1807. **British Journal of Ophthalmology**, **16**: 129–152, 1932.
- MIAO, R. M., FIELDSTEEL, A. H. Genetic relationship between *Treponema pallidum* and *Treponema pertenue*, two noncultivable human pathogens. **Journal of Bacteriology**, **141**: 427 - 429 1980.
- MILLER, G.C., MCDERMOTT, R., MCCULLOCH, B., FAIRLEY, C.K., MULLER, R. Predictors of the prevalence of bacterial STI among young disadvantaged Indigenous people in north Queensland, Australia. **Sexually Transmitted Infectious**, **79**: 332-335, 2003.
- MIRANDA, A. P. F., SATO, N. S. Profile of Anti-Tp47 Antibodies in Patients With Positive Serology for Syphilis Analyzed by Western Blot. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, **12**: 139-143, 2008.
- MOULDER, J.W. Interaction of *Chlamydiae* and host cells *in vitro*. **Microbiological Reviews**, **55**: 143-90, 1991.
- MÜLLER-SCHOOP, J. W., WANG, S. P., MUNZINGER, J., SCHLAPFER, H. U., KNOBLAUCH, M., AMMANN, R. W. *Chlamydia trachomatis* as possible cause of peritonitis and perihepatitis in young women. **British Medical Journal**, **1**: 1022-1024, 1978.
- NAKASHIMA, K., TANAKA, T., KRAMER, M. H., TAKAHASHI, H., OHYAMA, T., KISHIMOTO, T., TOSHIMA, H., MIWA,S., NOMURA, A., TSUMURA, N., OUCHI, K., OKABE, N. Outbreak of *Chlamydia pneumoniae* Infection in a Japanese Nursing Home, 1999-2000. **Infection Control and Hospital Epidemiology**, **27**: 1171-1177, 2006.

- NICOLAY, N., GALLAY, A., MICHEL, A., NICOLAU, J., DESENCLOS, J. C., SEMAILLE, C. Reported cases of congenital syphilis in the French national hospital data base. **Eurosurveillance**, **13**: 15-17, 2008.
- NORRIS, S.J., COX, D. L., WEINSTOCK, G.M. Biology of *Treponema pallidum*: Correlation of Functional Activities with Genome Sequence Data. **Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology**, **3**: 37-62, 2001.
- OLIVEIRA, M. L., DE AMORIM, M.M.R., DE SOUZA, P.R.E., DE ALBUQUERQUE, L.C.B., BRANDÃO, L.C.A, GUIMARÃES, R.L. *Chlamydia* infections in patients with and without cervical intra-epithelial lesions tested by real-time PCR vs. Direct Immunofluorescence. **The Brazilian Journal of Infections Diseases**, **12**: 324-328, 2008.
- OLIVEIRA, V. M.; VERDASCA, I. C.; MONTEIRO, M. C. Detecção de sífilis por ensaios de ELISA e VDRL em doadores de sangue do Hemonúcleo de Guarapuava, Estado do Paraná. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **41**: 428-430, 2008.
- ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE.** Eliminação mundial da sífilis congênita: fundamento lógico e estratégia para ação. Genebra: Organização Mundial de Saúde, 2008.
- ORIEL, J. D. The history of non-gonococcal urethritis. **Genitourinary Medicine**, **72**: 374-379, 1996.
- PAGE, L. A. Revision of the family *Chlamydiaceae* Rake (Rickettsiales): unification of the Psittacosis-lymphogranulomaVenereum-Trachoma Group of organisms in the genus *Chlamydia* Jones, Rake and Stearns, 1945. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **16**: 223-252, 1966.

- PAGE, L. A. Proposal for the recognition of two species in the genus *Chlamydia* Jones, Rake, and Stearns, 1945. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **18**: 51-66, 1968.
- PALMER, H. M.; HIGGINS, S. P.; HERRING, A. J.; KINGSTON, M. A. Use of PCR in the diagnosis of early syphilis in the United Kingdom. **Sexually Transmitted Infections**, **79**:479–483, 2003.
- PARC, C. E.; CHAHED, S.; PATEL, S. V.; SALMON-CERON, D. Manifestations and Treatment of Ocular Syphilis During an Epidemic in France. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 553–556, 2007.
- PAULA, J.S., MEDINA, N.H., CRUZ, A.A.V. Trachoma among the Yanomami Indians. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, **35**: 1153-1157, 2002.
- PAYNE, L., BERGLUND, T., HENRIKSSON, L., BERGGREN-PALME, I. Re-emergence of syphilis in Sweden: results from a surveillance study for 2004. **Eurosurveillance**, **10**, 2005. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=2830>> Acesso em 15.03.09.
- PEELING, R. W., YE, H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. **Bulletin of the World Health Organization**, **82**: 439-446, 2004.
- PEELING, R.W., BRUNHAM, R.C. *Chlamydiae* as Pathogens: New Species and New Issues. **Emerging Infectious Diseases**, **2**: 307-319, 1996.
- PETERMAN, T., SCHILLINGER, J., BLANK, S., BERMAN, S., BALLARD, R., COX, D., JOHNSON, R., HARIRI, S., SELVAM, N., Syphilis Testing Algorithms

- Using Treponemal Tests for Initial Screening — Four Laboratories, New York City, 2005–2006. **Morbidity and Mortality Weekly Report**, **57(32)**: 873-875, 2008.
- POLACK, S., BROOKER, S., KUPER, H., MARIOTTI, S., MABEY, D., FOSTER, A. Mapping the global distribution of Trachoma. **Bulletin of the World Health Organization**, **83**: 913–919, 2005.
- PORTER, M., MAK, D., CHIDLOW, G., HARNETT, G. B., SMITH, D. W. The Molecular Epidemiology of Ocular *Chlamydia trachomatis* Infections in Western Australia: Implications for Trachoma Control. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **78**: 514–517, 2008.
- PORTNOY, J., GARSN, W.; SMITH, C. A. Rapid Plasma Reagin Test for Syphilis. **Public Health Reports**, **72**: 761-766, 1957.
- PORTNOY, J., BREWER, J.H., HARRIS, A. Rapid Plasma Reagin Card Test for Syphilis and Other Treponematoses. **Public Health Reports**, **77**: 645-652, 1962.
- RATNAM, S. The laboratory diagnosis of syphilis. **The Canadian Journal of Infectious Diseases Medical & Microbiology**, **16**: 45–51, 2005.
- REECHAIPICHITKUL, W., SAELEE, R., LULITANOND, V. Prevalence and clinical features of *Chlamydia pneumoniae* pneumonia at srinagarind hospital, Khon kaen, Thailand. **Southeast Asian Journal Tropical Medical Public Health**, **36**: 151-155, 2005.
- REILLY, L.A., FAVACHO, J., GARCEZ, L.M., COURTENAY, O. Preliminary evidence that synanthropic flies contribute to the transmission of trachoma

- causing *Chlamydia trachomatis* in Latin America. **Cadernos de Saúde Pública**, **23(7):1682-1688**, 2007.
- REY-LADINO, J., JIANG, X., GABEL, B. R., SHEN, C., BRUNHAM, R. C. Survival of *Chlamydia muridarum* within Dendritic Cells. **Infection and Immunity**, **75**: 3707–3714, 2007.
- RICHMOND, S. J., CAUL, E. O. Fluorescent Antibody Studies in Chlamydial Infections. **Journal of Clinical Microbiology**, **1**: 345-352, 1975.
- RILEY, B. S., OPPENHEIMER-MARKS, N., RADOLF, J. D., NORGDARD, M. V. Virulent *Treponema pallidum* promotes adhesion of leukocytes to human vascular endothelial cells. **Infection and Immunity**, **62**: 4622–4625, 1994.
- RIPA, T., NILSSON, P.A. *Chlamydia trachomatis* Strain with a 377-bp deletion in the Cryptic Plasmid Causing False-Negative Nucleic Acid Amplification Tests. **Sexually Transmitted Diseases**, **34**: 255–256, 2007.
- ROMPALO, A. M., LAWLOR, J., SEAMAN, P., QUINN, T. C., ZENILMAN, J. M., HOOK, E. W. Modification of syphilitic genital ulcer manifestations by co-existent HIV infection. **Sexually Transmitted Disease**, **28**: 448–54, 2001.
- ROTHSCHILD, B.M. History of syphilis. **Clinical Infectious Diseases**, **40**: 1454-63, 2005.
- ROURS, I. G.I.J.G., HAMMERSCHLAG, M. R., OTT, A., DE FABER, T. J.T.H.N., VERBRUGH, H. A., GROOT, R. D., VERKOOYEN, R. P. *Chlamydia trachomatis* as a Cause of Neonatal Conjunctivitis in Dutch Infants. **Pediatrics**, **121**: 321-326, 2008.

SALERI, N., GRAIFEMBERGHI, S., EL HAMAD, I., MINELLI, A., MAGRI, S., MATTEELLI, A. Prevalence and Incidence of Syphilis Among South American Transgender Sex Workers in Northern Italy. **Sexually Transmitted Diseases**, **33**: 334–335, 2006.

SANTOS, E. O., LOUREIRO, E. C. B., JESUS, I. M., BRABO, E., SILVA, R. S. U., SOARES, M. C. P., CÂMARA, V. M., SOUZA, M. R. S., BRANCHES, F. Diagnóstico das Condições de Saúde de uma Comunidade Garimpeira na Região do Rio Tapajós, Itaituba, Pará, Brasil, 1992. **Cadernos de Saúde Pública**, **11**: 212-225, 1995.

SCHACHTER, J. Chlamydial infections. **Western Journal of Medicine**, **153**: 523-534, 1990.

SCHACHTER, J., STEPHENS, R.S., TIMMS, P., KUO, C., BAVOIL, P.M., BIRKELUND, S., BOMAN, J., CALDWELL, H., CAMPBELL, L.A., CHERNESKY, M., CHRISTIANSEN, G., CLARKE, I.N., GAYDOS, C., GRAYSTON, J.T., HACKSTADT, T., HSIA, R., KALTENBOECK, B., LEINONNEN, M., OJCIUS, D., MCCLARTY, G., ORFILA, J., PEELING, R., PUOLAKKAINEN, M., QUINN, T. C., RANK, R. G., RAULSTON, J., RIDGEWAY, G. L., SAIKKU, P., STAMM, W. E., TAYLOR-ROBINSON, D., WANG, S.P., WYRICK, P.B. Radical changes to chlamydial taxonomy are not necessary just yet. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, **51**: 249, 2001.

SCHACHTER, J., HOOK, E. W., MARTIN, D. H., WILLIS, D., FINE, P., FULLER, D., JORDAN, J., JANDA, W. M., CHERNESKY, M. Confirming Positive Results of Nucleic Acid Amplification Tests (NAATs) for *Chlamydia trachomatis*: All

- NAATs Are Not Created Equal. **Journal of Clinical Microbiology**, 43:1372–1373, 2005.
- SEADI, C.F., ORAVEC, R., VON POSER, B., CANTARELLI, V. V., ROSSETTI, M.L. Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, **38**: 125-133, 2002.
- SHIMIZU, C., NABESHIMA, S., KIKUCHI, K., FURUSYO, N., KASHIWAGI, S., HAYASHI, J. Prevalence of Antibody to *Chlamydia Pneumoniae* in Residents of Japan, the Solomon Islands, and Nepal. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **67**:170–175, 2002.
- SHIRAI, M., HIRAKAWA, H., KIMOTO, M., TABUCHI, M., KISHI, F., OUCHI, K., SHIBA, T., ISHII, K., HATTORI, M., KUHARA, S., NAKAZAWA, T. Comparison of whole genome sequences of *Chlamydia pneumoniae* J138 from Japan and CWL029 from USA. **Nucleic Acids Research**, **28**: 2311-4, 2000.
- SIEMER, J., THEILE, O., LARBI, Y., FASCHING, P.A., DANSO, K. A., KREIENBERG, R., ESSIG, A. *Chlamydia trachomatis* Infection as a Risk Factor for Infertility among Women in Ghana, West Africa. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **78**: 323–327, 2008.
- SILVERMAN, J. G., DECKER, M.R., GUPTA, J., DHARMADHIKARI, A., SEAGE, G.R., RAJ, A. Syphilis and Hepatitis B Co-infection among HIV-Infected, Sex-Trafficked Women and Girls, Nepal. **Emerging Infectious Diseases**, **14**:932-934, 2008.
- SINGH, A. E., ROMANOWSKI, B. Syphilis: Review with Emphasis on Clinical, Epidemiologic, and Some Biologic Features. **Clinical Microbiology Reviews**,

12: 187–209, 1999.

SOARES, O.E., CRUZ, A.A.V. Community-based transconjunctival marginal rotation for cicatricial trachoma in Indians from the upper rio negro basin. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 34: 669-674, 2004.

SOLOMON, A. W., PEELING, R. W., FOSTER, A., MABEY, D. C. W. Diagnosis and Assessment of Trachoma. **Clinical Microbiology Reviews**, 17: 982–1011, 2004.

SPAARGAREN, J., FENNEMA, H.S.A., MORRÉ, S.A., VRIES, H. J.C. D., COUTINHO, R. A. New Lymphogranuloma Venereum *Chlamydia trachomatis* Variant, Amsterdam. **Emerging Infectious Diseases**, 11: 1090-1092, 2005.

SRIFEUNGFUNG, S., ROONGPISUTHIPONG, A., ASAVAPIRIYANONT, S., LOLEKHA, R., TRIBUDDHARAT, C., LOKPICHART, S., SUNGTHONG, P., TONGTEP, P., Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in HIV-seropositive patients and gonococcal antimicrobial susceptibility: an update in Thailand. **Japanese Journal of Infectious Diseases**, 62: 467-470, 2009.

SRIRAM, S., ROSE, A. L., YAO, S.Y., WHETSELL, W.O. J. Detection of Chlamydial Bodies and Antigens in the Central Nervous System of Patients with Multiple Sclerosis. **The Journal of Infectious Diseases**, 192:1219-28, 2005.

STARK, D.; VAN HAL, S.; HILLMAN, R.; HARKNESS, J.; MARRIOTT, D., Lymphogranuloma Venereum in Australia: Anorectal *Chlamydia trachomatis* Serovar L2b in Men Who Have Sex with Men. **Journal of Clinical Microbiology**, 45:1029–1031, 2007.

- STEPHENS, R. S., SANCHEZ-PESCADOR, R., WAGAR, E. A., INOUE, C., URDEA, M. S. Diversity of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. **Journal of Bacteriology**, **169**:3879-3885, 1987.
- STEPHENS, R.S., KALMAN, S., LAMMEL, C., FAN, F., MARATHE, R., ARAVIND, L., MITCHELL, W., OLINGER, L., TATUSOV, R.L., ZHAO, Q., KOONIN, E.V., DAVIS, R.W. Genome Sequence of an Obligate Intracellular Pathogen of Humans: *Chlamydia trachomatis*. **Science**, **282**: 754-759, 1998.
- STEVENS, M. P., TABRIZI, S. N., MULLER, R., KRAUSE, V., GARLAND, S. M. Characterization of *Chlamydia trachomatis omp1* genotypes detected in eye swab samples from remote Australian communities. **Journal of Clinical Microbiology**, **42**: 2501–2507, 2004.
- STORZ, J., PAGE, L. A. Taxonomy of the Chlamydiae: Reasons for Classifying Organisms of the Genus *Chlamydia*, Family *Chlamydiaceae*, in a Separate Order, *Chlamydiales* ord. nov. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **21**: 332-334, 1971.
- TAMURA, A., MATSUMOTO, A., MANIRE, G.P., HIGASHI, N. Electron Microscopic Observations on the Structure of the Envelopes of Mature Elementary Bodies and Developmental Reticulate Forms of *Chlamydia psittaci*. **Journal of Bacteriology**, **105**: 355-360, 1971.
- THOMAS, D.D., NAVABO, M., HAAKE, D.A., FOGELMAN, A.M., MILLER, J.N., LOVETT, M.A. *Treponema pallidum* invades intercellular junctions of endothelial cell monolayers (bacterial virulence/syphilis/adherence). **Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America**, **85**: 3608-3612, 1988.

THOMSON, N. R., HOLDEN, M. T.G., CARDER, C., LENNARD, N., LOCKEY, S. J., MARSH, P., SKIPP, P., O'CONNOR, C. D., GOODHEAD, I., NORBERTZCAK, H., HARRIS, B., ORMOND, D., RANCE, R., QUAIL, M. A., PARKHILL, J., STEPHENS, R. S., CLARKE, A. N. *Chlamydia trachomatis*: Genome sequence analysis of lymphogranuloma venereum isolates. **Genome Research, 18**: 161–171, 2008.

TUUMINEN, T., VARJO, S., INGMAN, H., WEBER, T., OKSI, J., VILJANEN, M. Prevalence of *Chlamydia pneumoniae* and *Mycoplasma pneumoniae* Immunoglobulin G and A Antibodies in a Healthy Finnish Population as analyzed by Quantitative Enzyme Immunoassays. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 7**: 734–738, 2000.

VALL MAYANS, M., CABALLERO, E., GARCIA DE OLALLA, P., ARMENGOL, P., CODINA, M.G., BARBERÀ, M.J., SANZ, B., ANDREU, A., CAYLÀ, J.A. Outbreak of lymphogranuloma venereum among men who have sex with men in Barcelona 2007/2008 – an opportunity to debate sexual health at the Eurogames 2008. **Eurosurveillance, 13**: 4-6, 2008.

VAN DE LAAR, M. J. W. ; LAN, J.; VAN DUYNHOVEN, Y. T. H. P. ; FENNEMA, J. S. A.; OSSEWAARDE, J. M.; VAN DEN BRULE, A. J. C. ; VAN DOORNUM, G. J. J. COUTINHO, R. A.; VAN DEN HOEK, J. A. R. Differences in clinical manifestations of genital chlamydial infections related to serovars. **Genitourinary Medicine, 72**:261-265, 1996.

VAN DE LAAR, M. The emergence of LGV in Western Europe: what do we know, what can we do?. **Eurosurveillance, 11**: 146-8, 2006.

- VAZ, F.A.C.; CECCON, M.E.J.; DINIZ, E.M.A. Infecção por *Chlamydia trachomatis* no período neonatal: aspectos clínicos e laboratoriais. Experiência de uma década: 1987-1998. **Revista da Associação Médica Brasileira**, **45**: 303-11, 1999.
- VELDKAMP, J., VISSER, A. M. Application of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the serodiagnosis of syphilis. **The British Journal of Venereal Disease**, **51**: 227-231, 1975.
- WALKER, E. M., HOWELL, J. K., YOU, Y., HOFFMASTER, A. R., HEATH, J. D., WEINSTOCK, G. M., NORRIS, S. J. Physical Map of the Genome of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* (Nichols). **Journal of Bacteriology**, **177**: 1797–1804, 1995.
- WANG, S. P. The Microimmunofluorescence Test for *Chlamydia pneumoniae* Infection: Technique and Interpretation. **The Journal of Infectious Diseases**, **181**:421–5, 2000.
- WHEELER, H., AGARWAL, S., GOH, B. Dark ground microscopy and treponemal serological tests in the diagnosis of early syphilis. **Sexually Transmitted Infections**, **80**: 411–414, 2004.
- WICHER, K., NOORDHOEK, G. T., ABBRUSCATO, F., WICHER, V. Detection of *Treponema pallidum* in early syphilis by DNA amplification. **Journal of Clinical Microbiology**, **30**: 497–500, 1992.
- WIESENFELD, H. C., SWEET, R. L., NESS, R. B., KROHN, M. A., AMORTEGUI, A. J., HILLIER, S. L. Comparison of Acute and Subclinical Pelvic Inflammatory Disease. **Sexually Transmitted Diseases**, **32**: 400–405, 2005.

WIJK, F.B. Contato, epidemias e corpo como agentes de transformação: um estudo sobre a AIDS entre os Índios Xokleng de Santa Catarina, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, **17(2)**:397-406, 2001.

WOLF, K., FISCHER, E., HACKSTADT, T. Degradation of *Chlamydia pneumoniae* by Peripheral Blood Monocytic Cells. **Infection and Immunity**, **73**: 4560–4570, 2005.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections: Overview and Estimates. Geneva. 2001.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Sexually Transmitted and Other Reproductive Tract Infections: A guide to essential practice. World Health Organization. Geneva. 2005.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Trachoma control: a guide for programme managers. World Health Organization. Geneva. 2006.

**WORLD HEALTH ORGANIZATION.** Global strategy for the prevention and control of sexually transmitted infections: 2006 - 2015: breaking the chain of transmission. World Health Organization. Geneva. 2007.

WOZNICOVÁ, V., SMAJS, D., WECHSLER, D., MATEJKOVÁ, P., FLASAROVÁ, M. Detection of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* from Skin Lesions, Serum, and Cerebrospinal Fluid in an Infant with Congenital Syphilis after Clindamycin Treatment of the Mother during Pregnancy. **Journal of Clinical Microbiology**, **45**: 659–661, 2007.

ZAVALETA, C.; FERNANDEZ, C.; KONDA, K.; VALDERRAMA, Y.; VERMUND, H. S.; GOTUZZO, E. Short Report: High Prevalence of Hiv and Syphilis in A Remote Native Community of the Peruvian Amazon. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **76**: 703–705, 2007.