



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* EM PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV), NO ESTADO DO PARÁ

NÚBIA CAROLINE COSTA DE ALMEIDA

Belém - Pará
2009

NÚBIA CAROLINE COSTA DE ALMEIDA

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* E *TREPONEMA PALLIDUM* EM PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV), NO ESTADO DO PARÁ

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
2009

NÚBIA CAROLINE COSTA DE ALMEIDA

SOROEPIDEMIOLOGIA DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *CHLAMYDIA PNEUMONIAE* E *TREPONEMA PALLIDUM* EM PORTADORES DO VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA (HIV), NO ESTADO DO PARÁ

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia de Agentes Infeciosos 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 Infeciosos e Parasitários.

Orientadora: Prof. 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.

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

Prof. Dr. Antônio Carlos Rosário Vallinoto (suplente).
Instituto de Ciências Biológicas, UFPA.

Belém, 28 de abril de 2009.

EPIGRAFE

“O ser humano vivencia a si mesmo e seus pensamentos como algo separado do resto do universo - numa espécie de ilusão de ótica de sua consciência. E essa ilusão é uma espécie de prisão que nos restringe a nossos desejos pessoais, conceitos e ao afeto por pessoas mais próximas. Nossa principal tarefa é a de nos livrarmos dessa prisão, ampliando o nosso círculo de compaixão, para que ele abranja todos os seres vivos e toda a natureza em sua beleza. Ninguém conseguirá alcançar completamente esse objetivo, mas lutar pela sua realização já é por si só parte de nossa liberação e o alicerce de nossa segurança interior”.

Albert Einstein

“À minha mãe, Maria Estanila, pela dedicação, amor, amparo e renúncias;

Ao meu filho Gabriel, por ser a razão e alegria da minha existência;

Ao meu companheiro, marido, e melhor amigo Igor,

pelo amor e paciência nos momentos bons e ruins;

À minha irmã, Nívea Juliane, pela amizade e apoio;

Ao meu pai, por me amar e sempre torcer por mim.”

AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar à Deus por me permitir a construção deste trabalho com saúde, por ter iluminado meu caminho durante estes dois anos me dando tudo que eu precisei para conciliar a função de mãe com meus estudos.

Em todos os momentos Deus se mostrou presente na minha vida através de seu anjo mais bonito, através da amiga mais verdadeira, forte e fiel que eu poderia ter: Minha mãe. Deus não poderia estar em todos os lugares por isso acho que ele criou as mães. Muito obrigada por me estender os seus braços quando os momentos mais difíceis caíram sobre mim. Obrigada por cuidar do meu filho com todo o amor para que eu pudesse assistir às aulas do mestrado e poder desenvolver este trabalho. Sem a sua ajuda seria impossível levar este sonho adiante.

Ao Gabriel, muitas vezes tão privado da minha companhia, meu muito obrigado por ser minha fonte de energia, meu consolo que com um simples abraço ou sorriso me faz sentir confiança, segurança, paz e serenidade. O amor de mãe por seu filho é diferente de qualquer outra coisa no mundo. Por você eu faria tudo de novo, mil vezes.

Ao meu eterno amor, Igor, que tantas vezes deixou seu estudo em segundo plano para que eu pudesse desenvolver o meu, demonstrando todos os dias de forma incansável sua compreensão, paciência, carinho, amor e incentivo. O amor que sinto por você me dá coragem todos os dias para enfrentar minhas lutas. Obrigada!

À minha irmã, Juli, que uma vez me disse: “Família é pra isso: pra apoiar”, e foi quando eu percebi o valor dessa amizade e sei que admiramos as diferenças umas das outras. Ao meu pai que passou a vida trabalhando longe da família com o objetivo de nos proporcionar tudo de melhor que poderíamos ter. Apesar da distância sempre torceu por mim e mostrou seu amor, obrigada.

À todos os meus familiares (Avó, avô, tios, primos e meu afilhado), pela maravilhosa convivência e união que me fazem sentir muitas saudades em momentos como esse. Sei que mesmo de longe acreditam e torcem por mim. Em especial à família Guimarães (Nonato, Arleth, Adrienne, Danielle e Paulo), com que convivi diariamente por dois anos e foi onde comecei a traçar meus sonhos profissionais, obrigada pelos momentos inesquecíveis de amor, amizade e risadas.

À minha família Brasil Costa (Paulo, Ana, Vladia e Alodia) por todo o carinho, apoio e ajuda ficando com o Gabriel tanto por amor como para me ajudar na conclusão deste trabalho.

À minha orientadora, Profa. Dra. Marluísa Ishak primeiro por abrir as portas do Laboratório de Virologia em 2005, para mais uma estagiária dando a oportunidade para eu crescer. Obrigada por ajudar neste crescimento, com seus ensinamentos, experiência, exigência e confiança que foram de total importância para o desenvolvimento deste trabalho. Ao Prof. Dr. Ricardo Ishak que abriu as portas de sua sala e me ajudou em todos os momentos que eu precisei. Que Deus os ilumine sempre!

À todos os membros do Laboratório de Virologia iniciando pelos responsáveis: Prof. Dr. Antonio Vallinoto, Prof. Dr. Luiz Fernando, Profa. Msc. Vânia Nakauth, por depositarem confiança em mim no desenvolvimento das atividades do laboratório e pelo exemplo de profissionalismo que são. Aos queridos amigos: Renata, Lucinda, Jacqueline, Izete, Carolina, Roberta, Leonardo, Felipe, Elizabete, Simone, Regiane, Aubaneide, Rosimar, Rafaela, Iran, Ethienne, Tany, Érica, Larissa, Luana, Sandra, Maria Helena, Ana Cássia, Samara e Írlis, pela agradável convivência, amizade, troca de experiência, conselhos, favores e por serem pessoas com quem se pode contar em qualquer momento. À Stephanie, Isabella e Bárbara também, por diversas vezes comprarem meu almoço enquanto eu estava fazendo os testes de laboratório.

Em especial aos amigos: Lúcio, Jamilla e Priscila por me ajudarem na parte prática deste trabalho sendo sempre muito prestativos. À grande amiga Di Paula por se dispor a me ajudar na parte escrita e estatística, sempre com otimismo e com palavras de incentivo.

À mestrande Joana Favacho, minha companheira de Imunofluorescência, que conquistou minha admiração por ser tão batalhadora, e com uma grande coração não hesitou em me ajudar com sua experiência.

Ao PPG-BAIP pela sua brilhante coordenação e por tudo que me ofereceu em termos de conhecimento e do qual tenho orgulho de ser estudante.

À CAPES pelo apoio financeiro e a todos os indivíduos portadores de HIV que participaram deste projeto.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	11
LISTA DE FIGURAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	15
1 INTRODUÇÃO	16
1.1 <i>VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA 1 (HIV-1)</i>	16
1.1.1 Histórico	16
1.1.2 Biologia do HIV-1	16
1.1.3 Epidemiologia	18
1.2 <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS E CHLAMYDIA PNEUMONIAE</i>	20
1.2.1 Histórico	20
1.2.2 Classificação	22
1.2.3 Aspectos Morfológicos	24
1.2.4 Ciclo de Desenvolvimento	26
1.2.5 Organização Genômica	28
1.2.6 Manifestações Clínicas da infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i>	30
1.2.6.1 Tracoma	30
1.2.6.2 Infecções Neonatais	31
1.2.6.3 Linfogranuloma Venéreo (LGV)	32
1.2.6.4 Outras Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST)	34
1.2.7 Manifestações Clínicas da Infecção por <i>Chlamydia pneumoniae</i>	36
1.2.7.1 Infecções Respiratórias	36
1.2.7.2 Doenças Cardiovasculares	37
1.2.8 Aspectos Epidemiológicos da Infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i>	38
1.2.9 Aspectos Epidemiológicos da Infecção por <i>Chlamydia pneumoniae</i>	43
1.2.10 Epidemiologia da Infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i> em Portadores do HIV	45
1.2.11 Diagnóstico Laboratorial das Infecções por <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i>	47

1.3 <i>TREPONEMA PALLIDUM</i> SUBSPÉCIE <i>PALLIDUM</i>	52
1.3.1 Histórico.....	52
1.3.2 Classificação.....	53
1.3.3 Aspectos Morfológicos.....	53
1.3.4 Organização Genômica.....	55
1.3.5 Patogenia.....	57
1.3.6 Manifestações Clínicas da Sífilis.....	57
1.3.7 Aspectos Epidemiológicos da Sífilis.....	62
1.3.8 Aspectos Epidemiológicos da Co-infecção Sífilis – HIV.....	66
1.3.9 Diagnóstico Laboratorial da Sífilis.....	68
1.3.9.1 Testes não-Treponêmicos.....	68
1.3.9.2 Testes Treponêmicos.....	69
1.3.9.2.1 Testes Diretos.....	70
1.3.9.2.2 Testes Indiretos.....	72
1.5 OBJETIVOS.....	75
1.5.1 Objetivo Geral.....	75
1.5.2 Objetivos Específicos.....	75
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	76
2.1 POPULAÇÃO ESTUDADA.....	76
2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	76
2.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	76
2.4 ASPECTOS ÉTICOS.....	77
2.5 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS.....	77
2.6 SOROLOGIA.....	77
2.6.1 Ensaio Imunoenzimático para <i>Chlamydia</i>	78
2.6.2 Microimunofluorescência para <i>Chlamydia</i>	79
2.6.3 Reaginina Plasmática Rápida (RPR).....	80
2.6.4 Ensaio Imunoenzimático para Sífilis.....	81
2.7 MÉTODOS ESTATÍSTICOS.....	81
3. RESULTADOS.....	82
3.1 CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRAGEM.....	82

3.1.1 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará.....	82
3.1.2 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará.....	84
3.2 SOROLOGIA.....	87
3.2.1 Soroprevalência de <i>Chlamydia</i>.....	87
3.2.1.1 Resultados laboratoriais obtidos pelo ELISA.....	87
3.2.1.2 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram positividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti- <i>Chlamydia</i>	88
3.2.1.3 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti - <i>Chlamydia</i>	90
3.2.2 Soroprevalência de anticorpos IgG e IgM para <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i>.....	93
3.2.3 Soroprevalência do <i>Treponema pallidum</i>.....	98
3.2.4 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram soropositividade para <i>Treponema pallidum</i>.....	99
3.2.5 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para <i>Treponema pallidum</i>.....	101
3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	103
3.3.1 Variáveis associadas à soropositividade para <i>Chlamydia</i>.....	103
3.3.2 Variáveis associadas à soropositividade para <i>Treponema pallidum</i>.....	108
4 DISCUSSÃO.....	114
5 CONCLUSÕES.....	126
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	127
ANEXOS.....	166

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1 - Taxonomia proposta por Everett <i>et al.</i> , 1999 para a ordem <i>Chlamydiales</i>	23
Tabela 2 - Infecções e doenças sexualmente transmitidas ocasionadas por <i>C. trachomatis</i>	35
Tabela 3 - Perfil sócio-demográfico dos portadores do HIV-1 no Estado do Pará entre 2007 e 2008.....	83
Tabela 4 - Distribuição dos fatores de risco entre os portadores de HIV-1 no Estado do Pará entre 2007 e 2008.....	86
Tabela 5 - Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram soropositividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti- <i>Chlamydia</i> entre 2007 e 2008.....	89
Tabela 6 - Fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará soropositivos para anticorpos IgG e/ou IgM anti – <i>Chlamydia</i> entre 2007 e 2008.....	92
Tabela 7 - Prevalência de anticorpos IgG para as espécies <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i> entre 2007 e 2008.....	93
Tabela 8 - Prevalência de anticorpos da classe IgM <i>Chlamydia trachomatis</i> e <i>Chlamydia pneumoniae</i> entre 2007 e 2008.....	96
Tabela 9 - Resultados dos testes laboratoriais de triagem e confirmação de Sífilis (RPR e ELISA).....	98
Tabela 10 - Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram soropositividade para <i>Treponema pallidum</i> entre 2007 e 2008.....	100
Tabela 11 - Descrição dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para <i>Treponema pallidum</i> entre 2007 e 2008.....	102
Tabela 12 - Associação entre o perfil sócio – demográfico e a infecção por	104

<i>Chlamydia</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	
Tabela 13 - Associação entre os fatores de risco e a infecção por <i>Chlamydia</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	106
Tabela 14 - Associação entre os fatores de risco e a infecção por <i>Chlamydia</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	107
Tabela 15 - Associação entre o perfil sócio-demográfico e a soropositividade para <i>Treponema pallidum</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	110
Tabela 16 - Associação entre os fatores de risco e a soropositividade para <i>Treponema pallidum</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	111
Tabela 17 - Associação entre o comportamento sexual e a soropositividade para <i>Treponema pallidum</i> em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.....	113

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1 - Ciclo de desenvolvimento das clamídias.....	27
Figura 2 - Novos casos de infecção por <i>Chlamydia</i> entre adultos, 1999.....	38
Figura 3 - <i>Treponema pallidum</i>	55
Figura 4 - Novos casos de Sífilis entre adultos, 1999.....	63
Figura 5 - Prevalência de anticorpos IgG e IgM para <i>Chlamydia</i> entre portadores de HIV-1 no Estado do Pará entre 2007 e 2008.....	87
Figura 6 - Prevalência de anticorpos IgG para os sorotipos de <i>Chlamydia trachomatis</i> em portadores de HIV do estado do Pará em 2008.....	94
Figura 7 - Amostra soronegativa para <i>Chlamydia trachomatis</i> sorotipo B por MIF (1000x).....	95
Figura 8 - Amostra soropositiva para <i>Chlamydia trachomatis</i> sorotipo J por MIF (1000x).....	95
Figura 9 - Prevalência de anticorpos IgM para os sorotipos de <i>Chlamydia trachomatis</i> e para em portadores de HIV do estado do Pará em 2008.....	97
Figura 10 - Comparação entre população total e soropositiva para <i>Chlamydia</i> de acordo com o gênero.....	103
Figura 11 - Comparação entre população total e soropositiva para <i>Treponema pallidum</i> de acordo com o gênero.....	108

RESUMO

A *Chlamydia trachomatis* e o *Treponema pallidum* compartilham com o HIV uma importante forma de transmissão: a via sexual. Por conta do comprometimento imunológico dos portadores de HIV, a *C. pneumoniae* pode apresentar um papel potencial em infecções respiratórias. Este trabalho objetivou a descrição da soroprevalência destes três agentes em portadores de HIV do Estado do Pará, Brasil. Entre setembro de 2007 a junho de 2008, foram coletadas 430 amostras de portadores de HIV em Belém, Pará. Estas foram submetidas a um ELISA para detecção de anticorpo IgG e IgM anti-*Chlamydia* e, dentre os positivos, uma amostragem aleatória foi escolhida e submetida à microimunofluorescência para sorotipagem. Para a detecção de anticorpos anti-*Treponema pallidum* foi feito um teste não treponêmico (RPR) e um teste treponêmico (ELISA). Os resultados obtidos foram analisados pelo teste do χ^2 . A prevalência geral de anticorpos anti-*Chlamydia* foi 64,2% (51,6% para IgG e 4% para IgM). A sorotipagem mostrou uma alta prevalência de *C. trachomatis* (100% tanto para IgG como IgM), e *C. pneumoniae* (73,5% IgG e 70,5% IgM), sendo que houve uma larga disseminação dos sorotipos que causam infecções genitais da *Chlamydia trachomatis*. A prevalência geral de anticorpos contra o *Treponema pallidum* foi de 34,9%, sendo que 7,3% apresentaram resultado laboratorial indicativo de sífilis. As variáveis que apresentaram associação com a infecção por *Chlamydia* e *Treponema pallidum* foram: o gênero masculino, maior idade, baixa escolaridade, número de parceiros por semana, a prática de sexo anal, homossexualismo/bissexualismo, uso de droga não-endovenosa, histórico de IST. Faz-se necessário tanto a conscientização como o monitoramento da população, para impedir a transmissão destes agentes e para a melhoria da qualidade de vida dos indivíduos portadores de HIV.

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis and *Treponema pallidum* share the sexual route of transmission with HIV-1. In consequence of the compromise of the immune response among HIV-1 carriers, *C. pneumoniae* is a potential harassment in respiratory infections. The present study intended the description of the seroprevalence of those three agents among 430 HIV-1 infected persons residing in the State of Para, Brazil, attended at the State Reference Unit (URE-DIPE), between September 2007 to June 2008. Plasma samples were tested using an enzyme immuno assay for the detection of IgM and IgG antibodies to *Chlamydia* and those which elicited positive results were randomly selected for serotyping through a microimmunofluorescence assay. Antibodies to *T. pallidum* were detected using a flocculation reaction (RPR) and an enzyme immunoassay. Results were compared statistically using the Chi square test (χ^2). The general prevalence to *Chlamydia* was 64.2% (51.6% IgG reactivity and 4% to IgM). Serotyping showed 100% reactivity to *C. trachomatis* (for both IgG and IgM), a high prevalence to *C. pneumoniae* (73.5% IgG and 70.5% to IgM) and a large distribution of reactivity to strains of *C. trachomatis* which cause genital infections. Prevalence of antibodies to *T. pallidum* was 34.9% and 7.3% showed laboratory evidence of syphilis. Infection with both pathogens were associated to several characteristics which included: higher prevalence among males, high age, low number of study years, high number of sexual partners, anal sexual relations, homosexual/bisexual habits, use of non injecting drugs and the history of sti. It is necessary not only the individual attention for prevention, but also the continuous monitoring to block transmission and the improvement of the well being of HIV-1 infected persons.

1 INTRODUÇÃO

1.1 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA 1 (HIV-1)

1.1.1 Histórico

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (SIDA/AIDS) foi inicialmente descrita nos Estados Unidos da América em meados de 1980, em um grupo de jovens homossexuais masculinos que desenvolveram infecções oportunistas e neoplasias comumente associadas a quadros de imunodeficiência, mas sem história patológica prévia (Gottlieb *et al.*, 1985). Em 1983 foi isolado um vírus a partir de células do linfonodo de um paciente com linfadenopatia, e por esse motivo, chamaram o vírus de *Vírus Associado à Linfadenopatia* (LAV) (Barré-Sinoussi *et al.*, 1983).

Um ano depois, o mesmo vírus foi isolado nos Estados Unidos da América (EUA) e designado *Vírus Linfotrópico de Células T Humana do Tipo III* (HTLV-III) (Wong-Staal & Gallo, 1985). Entretanto, à microscopia eletrônica a morfologia desses vírus era semelhante aos membros do grupo lentivírus da família *Retroviridae*. Desde então, a AIDS evoluiu como uma pandemia, tornando-se um problema de saúde pública mundial (Gallo *et al.*, 1991).

1.1.2 Biologia o HIV-1

O *Vírus da imunodeficiência humana* (HIV-1), morfologicamente, é uma partícula esférica com, aproximadamente, 100 nm de diâmetro. Assim como todos os retrovírus, apresenta externamente um envelope composto por uma membrana lipoprotéica oriunda da célula hospedeira acrescida de glicoproteínas virais. Internamente, o vírus apresenta um nucleocapsídeo protéico em formato de cone onde

se encontram o genoma viral, a transcriptase reversa, a protease e a integrase e ainda, as proteínas necessárias à replicação viral (Wong-Staal & Gallo, 1985).

O genoma do HIV-1 é constituído por duas cópias de uma molécula de Ácido Ribonucléico (RNA) de fita simples (ssRNA) de, aproximadamente, 10 Kb. Existem três regiões gênicas principais: os genes *gag*, *pol* e *env*. Estes genes codificam um total de 16 proteínas que são componentes necessários para a viabilidade do HIV dentro do hospedeiro (Wong-Staal & Gallo, 1985).

O gene *gag* (*group-specific antigen*) codifica um polipeptídeo de 55 kDa, o qual é clivado, originando as proteínas estruturais internas (p17, p24, p7, p6). O gene *pol* (*polimerase*) é responsável por codificar a protease, a transcriptase reversa e a integrase, as quais estão relacionadas à síntese e integração do genoma viral ao genoma da célula hospedeira. A região *env* (envelope) produz as glicoproteínas de envelope gp120 (superfície) e a gp 41 (transmembrana) (Greene, 1991).

Existem ainda, duas proteínas reguladoras, o transativador transcricional (Tat) codificada pelo gene *tat* e o regulador da transcrição do gene viral (Rev) produto da expressão do gene *rev*. Além desses genes que codificam proteínas reguladoras, o vírus possui quatro genes que codificam as proteínas denominadas de acessórias, sendo estas a Nef, a Vif; e as proteínas Vpr e Vpu (Zhou & Aiken, 2001).

O HIV tem como uma de suas principais características a intensa variabilidade genética, causada principalmente pela transcrição reversa do seu genoma pela ação da transcriptase reversa viral. A diversidade do HIV-1 é mostrada na classificação do vírus em três grupos genéticos: M (*major*), N (*new*) e O (*out-group*). (Gurtler *et al.*, 1994; Simon *et al.*, 1998). O grupo M e seus subtipos são os mais prevalentes no mundo e estão subdivididos em nove linhagens genéticas, também

referidas como subtipos, representadas pelas letras do alfabeto inglês (A-D, F-H, J e K). Porém outros dois grupos, N e O, foram descritos na África e na Europa Oriental. Cada subtipo é distinto em sua epidemiologia (Morgado *et al.*, 1998).

1.1.3 Epidemiologia do HIV-1

Segundo o Programa Conjunto das Nações Unidas em HIV/AIDS (UNAIDS) o número estimado de pessoas vivendo com o HIV, em 2007, foi de 33,2 milhões de pessoas no mundo, sendo observada uma redução de 16% comparada com o número estimado no ano de 2006 (39,5 milhões) (UNAIDS/WHO, 2007). Todos os dias, mais de 6.800 pessoas se infectam com o HIV e mais de 5.700 pessoas morrem devido às complicações da AIDS, principalmente devido à falta de prevenção e acesso inadequado aos serviços de tratamento (UNAIDS/WHO, 2007).

A África Subsaariana continua sendo a região mais afetada pela AIDS, onde 68% dos adultos e 90% das crianças que vivem na região convivem com o HIV (Gregson *et al.*, 2006). Nos países da Europa Oriental, foi registrada em 2007 uma média de 150.000 casos (AIDS Foundation East – West, 2007). A Oceania apresentou uma taxa de novas infecções estimada em 14.000 no mesmo ano (UNAIDS/WHO, 2007). No Leste da Ásia, a estimativa foi de 92.000 casos entre adultos e crianças (Kumar *et al.*, 2006).

Nas ilhas do Caribe, a prevalência de adultos infectados pelo HIV foi, em média, de 1% em 2007. As regiões com uma maior prevalência foram a República Dominicana e o Haiti, cujos números somam aproximadamente três quartos das 230.000 pessoas infectadas no Caribe (UNAIDS/WHO, 2007).

Nos países da América Latina o HIV permanece sendo transmitido entre populações de alto risco como prostitutas e homossexuais. O número estimado de novas infecções em 2007 foi de 100.000, totalizando 1,6 milhões de pessoas infectadas nesta região (UNAIDS/WHO, 2007).

Cerca de um terço das pessoas infectadas com o HIV na América Latina, correspondem a brasileiros. A população mais atingida é de homossexuais, seguida de usuários de drogas endovenosas e, eventualmente, na população geral, dentro da qual vem aumentando o número de mulheres infectadas (Boletim Epidemiológico, 2007). Ainda no Brasil, de 1980 a junho de 2007, foram notificados 474.273 casos de AIDS no Sistema Nacional de Agravos e Notificações (SINAN) (Boletim Epidemiológico, 2007).

Particularmente no Estado do Pará, a incidência de casos de AIDS em jovens de 13 a 24 anos em 2005 foi de 0,11%. Entre o ano de 1980 e 2007, o número de casos notificados no SINAM foi de 7.194 casos (Boletim Epidemiológico, 2007).

As três vias principais de transmissão do HIV são: contato sexual com parceiro infectado, exposição a fluidos ou tecidos corporais contaminados, e de mãe infectada para o filho durante o período a gestação, no momento do parto ou por aleitamento materno (Seabra, 2002). É possível encontrar o HIV na saliva, lágrima e urina de pessoas infectadas, porém devido à baixa concentração do vírus nesses líquidos o risco é insignificante (Steinbrook, 2004). Também há relatos descritos na literatura de transmissão ocupacional, observada em profissionais da área de saúde que se contaminam devido acidentes de trabalho (Steinbrook, 2004).

Existem diferentes padrões de transmissão da infecção pelo HIV, por isso têm-se descrito vários fatores que oferecem risco para a aquisição e desenvolvimento da doença, tais como: comportamento sexual, as condições clínicas e

imunológicas do parceiro infectado, as rotas da infecção e outros fatores associados com a transmissão sexual, como o número de parceiros nos últimos anos e a presença de doenças sexualmente transmissíveis (DST) (Reiche *et al.*, 2005).

1.2 *CHLAMYDIA TRACHOMATIS* E *CHLAMYDIA PNEUMONIAE*

1.2.1 Histórico

Existem relatos de infecções oculares causadas por *Chlamydia trachomatis* desde o antigo Egito. Papiros datados de 1500 a.C descreviam uma doença nos olhos com características exudativas e cicatrizantes. O termo tracoma foi criado por Pedanius Dioscorides em 60 d.C e significa rugoso, áspero ou edemaciado descrevendo a aparência da conjuntiva acometida. Com as guerras e as grandes migrações, o tracoma foi levado para o restante da Europa, onde se tornou endêmico. A partir da Europa, veio com a colonização para o continente Americano. Na segunda metade do século XIX e início do século XX, o tracoma achava-se amplamente disseminado em todo o mundo (Wilfert & Gutman, 1986).

Em 1883, Koch descreveu a recuperação de pacientes com *Haemophilus aegyptius* e *Neisseria gonorrhoeae* que apresentavam oftalmia egípcia (na época sinônimo de tracoma) e este foi o primeiro estudo da etiologia do tracoma (Koch apud Vasic, 2004). A causa dos quadros de oftalmia só foi revelada quando Halberstaedter e von Prowazek (1907) publicaram seu trabalho, onde eram descritas inclusões intracelulares em raspados de células de conjuntiva de orangotangos infectados experimentalmente com material de tracoma (Halberstaedter e von Prowazek apud Thygeson, 1971). Dois anos depois eles descreveram as mesmas inclusões em raspados de conjuntiva de neonatos com oftalmia não gonocócica.

O isolamento do agente etiológico do tracoma só ocorreu em 1957, por T'ang e colaboradores por inoculação em ovos embrionados (T'ang apud Schachter e Caldwell, 1980). O primeiro isolamento de *Chlamydia trachomatis* a partir de material genital foi realizado por Jones *et al.*, 1959 que recuperaram a bactéria de material cervical da mãe de uma criança com inclusões citoplasmáticas em células da conjuntiva.

Até o final da década de 60, *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia psittaci* já tinham sido identificadas. Outra espécie do gênero *Chlamydia*, a *Chlamydia pneumoniae* foi isolada pela primeira vez em 1965 da conjuntiva de uma criança de Taiwan que participava de uma triagem para vacina contra o tracoma (Kuo, *et al.*, 1986). Em 1971, o microrganismo foi observado e analisando a morfologia das inclusões percebeu-se maior semelhança com a *Chlamydia psittaci* do que com a *Chlamydia trachomatis*. O papel deste microrganismo como um patógeno humano não havia sido definido até 1983 quando o primeiro isolado respiratório foi obtido em Seattle, Washington, de um estudante universitário que apresentava um quadro de faringite (Grayston *et al.*, 1986). Esta cepa de *C. psittaci*, até então denominada TWAR, recebeu esta designação no laboratório de onde foram obtidos os primeiros isolados de conjuntiva e respiratórios. Em 1989, a cepa TWAR foi então estabelecida como uma terceira espécie, a *Chlamydia pneumoniae* (Grayston *et al.*, 1989).

1.2.2 Classificação

Historicamente, as clamídias foram classificadas em uma única ordem: a *Chlamydiales*, que contém a família Chlamydiaceae no qual está inserido um único gênero *Chlamydia* com quatro espécies conhecidas: *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia psittaci* e *Chlamydia pecorum* (Storz & Page, 1971; Moulder *et al.*, 1984). Todas as espécies, exceto a *Chlamydia pecorum*, estão associadas com doenças em humanos (Fukushi & Hirai, 1993).

As duas primeiras espécies descritas foram *Chlamydia psittaci* e *Chlamydia trachomatis*. No decorrer dos anos, o advento das técnicas moleculares (hibridização e padrões de RFLP-Restriction Fragment Length Polymorfisms) tornou possível a caracterização detalhada e conseqüente diferenciação de outras espécies como a *Chlamydia pneumoniae* (Grayston *et al.* 1989) e *Chlamydia pecorum* (Fukushi & Hirai, 1993). Com base em diferenças ecológicas e fenotípicas, bem como diferenças nas seqüências de rRNA, houve uma proposta de mudança na classificação das clamídias que se apresentaria da seguinte maneira: a ordem *Chlamydiales* possuiria as famílias: *Simkaniaceae*, *Parachlamydiaceae*, *Waddliacea* e *Chlamydiaceae*. A família *Chlamydiaceae* possuiria dois gêneros: *Chlamydia* e *Chlamydophila*. (Everett *et al.*, 1999) (Tabela 1). A proposta de nova classificação causou controvérsias entre os pesquisadores e ainda não foi aceita (Schachter *et al.*, 2001).

Tabela 1 - Taxonomia proposta por Everett *et al.*, 1999 para a ordem *Chlamydiales*.

Família	Gênero	Espécies	Biovar
<i>Chlamydiaceae</i>	<i>Chlamydia</i>	<i>C. muridarum</i>	
		<i>C. suis</i>	
		<i>C. trachomatis</i>	Tracoma LGV
	<i>Chlamydophila</i>	<i>C. abortus</i>	
		<i>C. caviae</i>	
		<i>C. felis</i>	
		<i>C. pecorum</i>	
	<i>C. pneumoniae</i>	TWAR Coala Equino	
<i>Simkaniaceae</i>	<i>Simkania</i>	<i>C. psittaci</i> <i>S. negevensis</i>	
<i>Parachlamydiaceae</i>	<i>Parachlamydia</i>	<i>P. acanthamoebae</i>	
<i>Waddliaceae</i>	<i>Waddlia</i>	<i>W. chondrophila</i>	

Fonte: Everett *et al.*, 1999

O aperfeiçoamento das técnicas de diagnóstico permitiu verificar a participação das espécies *C. trachomatis*, *C. psittaci* e *C. pneumoniae* em um número muito extenso de doenças, com manifestações clínicas diversas (Grayston *et al.*, 1993; Elder & Brown, 1999; Schachter & Caldwell, 1980).

A *C. psittaci* possui inúmeros sorotipos, que podem ser isolados de diferentes espécies de pássaros, animais domésticos e, ocasionalmente, do homem, onde podem causar infecções respiratórias. No gado podem causar abortos, artrite e infecções sistêmicas (Elder & Brown, 1999).

A *Chlamydia pneumoniae* foi reconhecida primeiramente como agente etiológico de infecção respiratória em humanos (Saikku *et al.* 1985, Grayston *et al.*, 1986). Posteriormente, a presença da *C. pneumoniae* foi associada a quadros de artrite aguda com alguns pacientes evoluindo para quadro crônico (Schumacher, 2000). Além disso, muitos pesquisadores, através de diversos tipos de estudo, têm descrito a

associação entre *C. pneumoniae* e doenças cardiovasculares como infarto do miocárdio e aterosclerose (Saikku *et al.*, 1988, Grayston *et al.*, 2000).

A *C. trachomatis* é um dos agentes mais comuns causadores de Infecções Sexualmente Transmissíveis (IST). As cepas possuem variantes antigênicas e podem ser divididas em 15 sorotipos: A, B, B_a, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L₁, L₂ e L₃. Os sorotipos A, B, B_a e C têm sido regularmente associados ao tracoma, doença que leva à cegueira cerca de 500 milhões de pessoas no mundo (WHO, 2004). Os sorotipos de D a K causam, aproximadamente, quatro milhões de novos casos de Infecções Sexualmente Transmissíveis nos Estados Unidos e 90 milhões de casos no mundo. Os sorotipos L₁, L₂ e L₃ são responsáveis pela ocorrência do Linfogranuloma Venéreo (LGV) (Schachter & Caldwell, 1980, Wilfert & Gutman, 1986).

1.2.3 Aspectos Morfológicos

A *Chlamydia* é uma bactéria intracelular obrigatória, paratrófica, que possui DNA e RNA. Durante longo tempo estas bactérias foram classificadas como vírus, devido à sua condição de parasitas intracelulares obrigatórios e a seu pequeno tamanho. Mas a complexidade estrutural que elas apresentavam mostrou que elas se aproximavam das bactérias: são imóveis, Gram-negativo, possuem membrana trilaminar contendo lipossacarídeos e diversas proteínas de membrana com estrutura e função semelhantes às de *Escherichia coli* (Moulder, 1966). Além disso, possuem ribossomos procarióticos, sintetizam suas próprias proteínas, ácidos nucléicos e lipídios; são susceptíveis a certos antibióticos além de apresentarem um ciclo celular característico que as diferenciam de todos os outros microrganismos (Moulder, 1966).

As clamídias apresentam duas formas distintas que ocorrem dentro do seu ciclo de desenvolvimento: os corpos elementares (CE), que são estruturas pequenas medindo cerca de 300 nm e representam a forma extracelular altamente infecciosa, e os corpos reticulados (CR), que são maiores do que os CE, medindo de 800 a 1.200 nm e possuem DNA fibrilar difuso e alta concentração de ribossomos, e são as formas reprodutivas intracelulares com baixa infectividade (Matsumoto, 1982). Através da microscopia eletrônica é possível a visualização dos CE com citoplasma granular (refletindo a presença de ribossomo 70S) e nucleóide excêntrico contendo DNA condensado (Matsumoto, 1982).

As clamídias possuem uma estrutura única consistente com a necessidade do seu ciclo celular. A rigidez da superfície da parede celular ocorre devido à presença de estruturas que conferem uma antigenicidade complexa a esta bactéria. Apesar desta complexidade, são dois os antígenos mais relacionados ao diagnóstico e à patogênese da infecção: (1) O antígeno lipopolissacarídeo (LPS), mais encontrado nos CR, constituído principalmente por ácido cetodeoxietanóico; (2) e o antígeno MOMP (*Major Outer Membrane Protein*), que representa 60% do peso da membrana externa. A MOMP é um importante sítio antigênico e é a proteína responsável pela diferença entre os sorotipos de clamídia, pois é espécie e sorotipo-específica; por isso são utilizadas na sorotipagem (caracterização realizada através de painel de anticorpos monoclonais) (Caldwell, *et al.*, 1981; Hatch *et al.*, 1986; Stephens *et al.*, 1987).

1.2.4 Ciclo de desenvolvimento

O ciclo de desenvolvimento das clamídias tem duas fases e esta bactéria infecta comumente células colunares não ciliadas e macrófagos. Na primeira, os CE extracelulares, metabolicamente inativos e infecciosos, são internalizados por uma célula hospedeira apropriada através de receptores de superfície. Foi sugerido que a bactéria utiliza sulfato de heparina como ponte entre os receptores presentes na sua superfície e na superfície da célula-alvo (Stephens *et al.*, 2001).

Aproximadamente oito horas após a entrada da bactéria, os CE se reorganizam em CR que por sua vez são metabolicamente ativos e iniciam a replicação por divisão binária que caracteriza a segunda fase do ciclo. Em 24 a 72 horas, os CR retornam à forma de CE. Este ciclo bifásico não possui um sincronismo e é caracterizado por divisões que ocorrem no interior de um vacúolo da célula parasitada, formando inclusões citoplasmáticas perinucleares (Figura 1). No final do ciclo, os vacúolos contêm de 100 a 1.000 CE e na medida em que estes vacúolos ocupam quase todo o citoplasma da célula hospedeira, ocorre a lise da mesma e lançamento dos CE no meio extracelular, podendo dar um início a um novo ciclo (Moulder, 1991) (Figura 1).

Os CE contidos na vesícula fagocítica são denominados corpo de inclusão. A *C. pneumoniae* e a *C. trachomatis* apresentam acúmulo de glicogênio no interior do vacúolo que se coram pelo iodo. A transformação da clamídia durante o ciclo vital parece ser feita através de alteração da membrana externa. Há um aumento das pontes de enxofre do envoltório bacteriano no estágio reticulado, alterando a elasticidade e a resistência ao meio circundante (Everett, 2000).

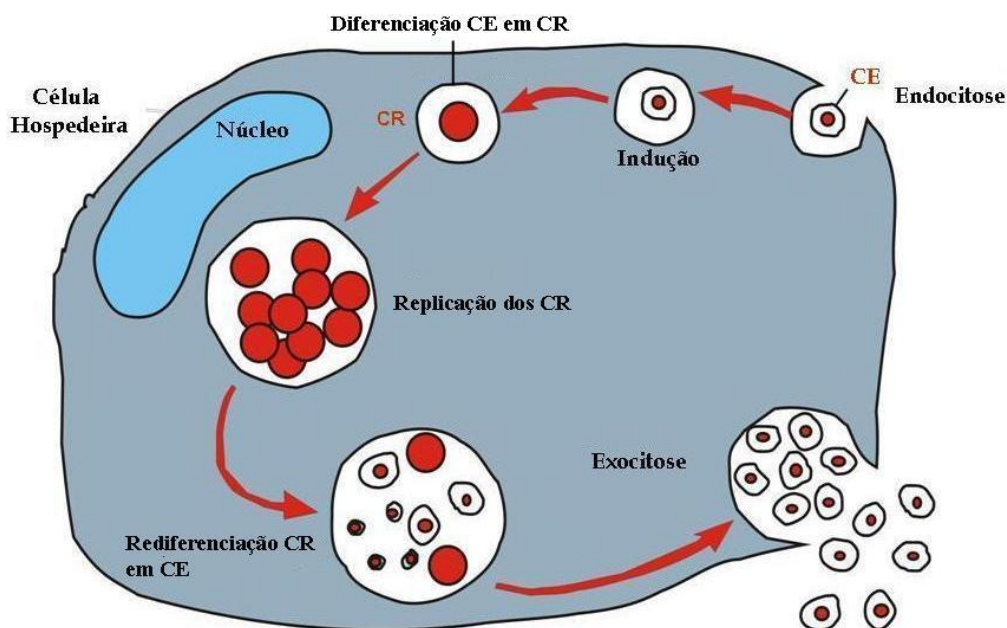


Figura 1 - Ciclo de desenvolvimento das clamídias (Adaptado de Morrison, 2003).

As clamídias possuem diversos mecanismos de sobrevivência dentro da célula do hospedeiro e um deles é o impedimento da fusão do lisossomo com o vacúolo onde elas se encontram. Se este processo acontecesse, as enzimas iriam lisar o conteúdo do vacúolo e a partir desta lise, fragmentos de proteínas (determinantes antigênicos) seriam transportados e exibidos pelas proteínas do Complexo Principal de Histocompatibilidade (MHC) presentes na superfície das células. Os antígenos seriam então apresentados aos linfócitos $TCD4^+$ e $TCD8^+$ que responderiam diretamente contra as células infectadas. Ao impedir este processo estas bactérias proliferam livremente enquanto estão separadas fisicamente da célula, levando à persistência da infecção (Zhong *et al.*, 1999). Devido à clamídia ser um microrganismo intracelular, as doenças causadas por esta bactéria tendem a ser crônicas por natureza (Wyrick, 2002).

1.2.5 Organização Genômica

A clamídia possui um genoma constituído por um cromossomo circular que contém 1.042.519 pares de bases das quais 58,7% correspondem a A+T (adenina e timina). Existe também um elemento genético extracromossômico (plasmídeo pCT) de 7.493 pares de bases (7.5 Kb). Os resultados da análise do genoma da clamídia mostraram que existem 894 genes codificadores de proteínas, e destas, são conhecidas as funções de 604 (68%) (Stephens *et al.*, 1998).

A clamídia possui um aparato enzimático responsável pelos processos básicos de replicação de DNA, transcrição, tradução e reparo que se encontra presente em outras bactérias. Os sistemas de recombinação e reparo estão extensamente representados no genoma da clamídia, o que indica que esta bactéria possui uma capacidade considerável de recombinação. Existem também duas helicases pertencentes à família Sw2/Snf2. A conservação de no mínimo um membro desta família em todas as bactérias indica a importância dessas proteínas na estrutura do nucleóide, regulação da transcrição e no reparo (Stephens *et al.*, 1998).

O primeiro gene a ser analisado foi o gene codificador da Proteína de Membrana Externa Principal – MOMP que foi designado *omp1*. Em 1986, Stephens e colaboradores seqüenciaram o gene a partir de uma cepa de *Chlamydia trachomatis* sorotipo L₂, e em seguida clonaram e inseriram o gene em um bacteriófago λ de *Escherichia coli* (Stephens, *et al.*, 1986). A comparação feita entre o gene seqüenciado do sorotipo L₂ e outros sorotipos subsequentemente analisados mostrou que existe uma extensa variação no gene *omp1*. O gene consiste em cinco regiões com seqüências conservadas que se alternam com quatro regiões variáveis denominadas VD1, VD2,

VD3, e VD4. Devido à extensa variação genética estes domínios podem ser utilizados na genotipagem de isolados clínicos (Yuan *et al.* 1989).

As sequências genômicas de *C. trachomatis* isoladas de diferentes tecidos (ocular e genital) foram comparadas tendo sido possível observar uma heterogeneidade nos domínios constantes do gene *omp1*; desta forma a seqüência de nucleotídeos alterada produz mudanças na seqüência de aminoácidos da MOMP, o que é importante na determinação do tropismo dos diferentes sorotipos por certos tecidos (variação do quadro clínico) e também na virulência do microrganismo (Frost, *et al.*, 1995; Caldwell *et al.*, 2003).

Setenta genes representados no genoma da *Chlamydia trachomatis* não são representados no genoma da *C. pneumoniae*. Estes genes estão agrupados em blocos que contém de 2 a 17 genes, além de 19 genes não organizados em blocos. Destes 70 genes não homólogos entre as duas espécies, 60 são classificados como codificadores de proteínas hipotéticas (Stephens *et al.*, 1998). Os outros genes são referentes ao operon do triptofano (*trpA*, *trpB*, *trpR*, *trpC*), dois genes protease thiol e quatro genes pertencentes a superfamília da fosfolipase-D (Stephens *et al.*, 1998; Kalman *et al.*, 1999).

Alguns sorotipos de *C. trachomatis* envolvidos na manifestação do tracoma foram identificados como portadores de uma mutação do tipo “frameshift” (mudança de matriz de leitura) no locus codificador das enzimas envolvidas na síntese do triptofano. Estas cepas mutantes são incapazes de sintetizar o triptofano a partir do indol exógeno. Este achado deu início a uma seqüência de diferenças nas habilidades de biossíntese entre os sorotipos de *C. trachomatis* (Caldwell *et al.*, 2003).

O plasmídio pCT foi isolado a partir de cepas de *C. trachomatis* sorotipo L₂ e o seu DNA foi detectado em todos os outros sorotipos da espécie. Este plasmídio é altamente conservado e possui menos de 1% de variação na sequência nucleotídica (Thomas *et al.*, 1997, Palmer & Falkow, 1986). Devido a esse alto grau de conservação, sugeriu-se que o plasmídio poderia ter uma importante função no crescimento ou replicação das clamídias (Palmer & Falkow, 1986). Apesar de raros, alguns sorotipos de *C. trachomatis* têm sido isolados sem o plasmídio, como por exemplo, um sorotipo L₂ obtido de um paciente apresentando proctocolite (Peterson *et al.*, 1990), e sorotipos B (Farencena, *et al.*, 1997) e E (Stothard, *et al.*, 1998) isolados de swab retal de um paciente do sexo masculino.

1.2.6 Manifestações clínicas da infecção por *Chlamydia trachomatis*

1.2.6.1 Tracoma

O tracoma é uma doença crônica, contagiosa, caracterizada por uma ceratoconjuntivite e é considerada a maior causa de cegueira em países em desenvolvimento. Em 2004, a Organização Mundial da Saúde estimou que havia 84 milhões de pessoas com tracoma inflamatório e 1,3 milhões de pessoas ficaram cegas devido às complicações do mesmo. Este número corresponde a 3,6% de 36,9 milhões de casos de cegueira no mundo (WHO, 2004).

A doença ocorre por infecções repetidas da conjuntiva por *Chlamydia trachomatis* e na sua forma aguda apresenta folículos e papilas conjuntivais. O quadro clínico do tracoma se inicia com alterações inflamatórias agudas na conjuntiva e córnea, manifestadas por lacrimejamento, secreção purulenta, hiperemia conjuntival. Conforme a gravidade e duração do processo inflamatório pode evoluir para cura espontânea ou

cicatrizes conjuntivais. Além disso, pode ocasionar alterações das glândulas conjuntivais com conseqüente olho seco. Essas lesões são fatores de risco para o aparecimento de alterações corneanas que podem induzir à cegueira (Jones, 1975; Behrens-Baumann, 2007).

Alguns folículos crescem e sofrem necrose. A necrose da conjuntiva estimula a reação inflamatória e o infiltrado linfocitário, levando à formação de áreas focais de cicatrização e fibrose que podem resultar em deformidade da pálpebra, com sua inversão (entrópico), fazendo com que os cílios toquem a córnea (triquíase), levando à ulceração desta por abrasão, acarretando a formação de cicatrizes na córnea, com pontos de opacificação, deficiência visual e conseqüente cegueira (Jones, 1975).

A suscetibilidade ao tracoma é geral, ocorrendo com maior freqüência onde há falta de água e condições habitacionais e sanitárias inadequadas, sendo que esta doença é um dos indicadores de áreas de pobreza e subdesenvolvimento (Luna *et al.*, 1992).

Os indivíduos acometidos pela doença freqüentemente desenvolvem resposta humoral com produção de anticorpos sorotipo-específicos no soro e secreções oculares, que podem ser detectados por métodos de imunofluorescência indireta, mas que não conferem resistência à reinfecção (West, 2004).

1.2.6.2 Infecções Neonatais

Infecções neonatais são adquiridas durante a passagem do recém-nascido pelo canal de parto e, a partir deste contato, pode haver colonização da conjuntiva ou nasofaringe do recém-nascido e subseqüente conjuntivite neonatal, otite média, rinite ou pneumonia, entre outros sintomas (Schachter *et al.*, 1986; Hammerschlag, 1993).

A oftalmia neonatal é uma das infecções mais comuns em recém-nascidos e, aproximadamente, dois terços das crianças nascidas por parto normal de mulheres com infecção genital por *Chlamydia trachomatis* desenvolvem doença. Após 5 a 12 dias de incubação, as manifestações clínicas começam a surgir: as secreções da conjuntiva tornam-se progressivamente purulentas, surgem cicatrizes, vascularizações da córnea e conjuntivite de inclusão crônica (Schachter *et al.*, 1986; O'hara, 1993).

Pneumonia por *C. trachomatis* ocorre em 11 a 20% das crianças nascidas por parto normal de mães com infecção genital. As crianças se tornam sintomáticas após 4 a 17 semanas de vida com obstrução nasal, taquipnéia, tosse e ausência de febre (Black, 1997; Hammerschlag, 2000).

1.2.6.3 Linfogranuloma Venéreo (LGV)

O LGV é uma IST causada pelos sorotipos L₁, L₂ ou L₃ da *Chlamydia trachomatis*. Possui caráter endêmico em partes da África, Ásia, América do Sul e Caribe, e é rara em países industrializados (Schachter & Osoba, 1983; Collins, 2006).

Após o período de incubação, que dura de 3 a 30 dias, na doença primária aparece uma pápula que pode ulcerar no local da inoculação, geralmente no prepúcio ou glande nos homens e na vulva ou parede vaginal nas mulheres. Entretanto, essa etapa pode não ocorrer ou passar despercebida (Alacoque *et al.*, 1984; Mabey & Peeling, 2002).

A linfadenopatia inguinal é a manifestação clínica mais comum, surgindo semanas após a lesão primária, considerada como a segunda fase da doença. Trata-se de gânglios dolorosos e geralmente unilaterais que podem formar abscessos e perfurar (bubões). A biópsia dos linfonodos revela área de necrose rodeada por

proliferação epitelioide e endotelial. As proctites hemorrágicas ocorrem por inoculação direta, e são mais comuns naqueles que praticam sexo anal. A linfonodomegalia é unilateral em dois terços dos casos e pode ulcerar. Os “bubões” podem sofrer ruptura espontaneamente com desenvolvimento de abscessos e fístulas. A ruptura se faz através de vários pontos de drenagem de secreção purulenta (Schachter & Ososoba, 1983).

No homem, geralmente ocorre cicatrização do processo sem maiores seqüelas, porém, em um quinto dos casos, pode haver recorrência do “bubão”, além da formação de traves e pontes de fibrose com fístulas que drenam a secreção seropurulenta por semanas ou até anos. Na mulher, a ocorrência da adenite inguinal é semelhante à descrita no homem. Sintomas sistêmicos como febre, mialgias, anorexia e artralgia são freqüentes. Casos não tratados podem evoluir com fístulas, artrites e hipertrofia de genitália (Alacoque *et al.*, 1984; Mabey & Peeling, 2002; Vall-Mayans *et al.*, 2006). Uma terceira fase da doença pode ocorrer sendo caracterizada por sintomas provenientes das lesões progressivas, hipertróficas e necróticas (Alacoque *et al.*, 1984).

O envolvimento anorretal no LGV é raro, porém, recentes surtos da doença em países desenvolvidos possuem essa característica (CDC, 2006). O LGV pode se tornar crônico quando não tratado e provocar obstrução linfática por fibrose causando elefantíase genital em ambos os sexos. Além disso, o acometimento retal pode levar a formação de fístulas, abscessos e causar estenose do reto e do canal anal (Collins, 2006).

1.2.6.4 Outras Infecções Sexualmente Transmissíveis

A infecção genital por *C. trachomatis* é a doença bacteriana sexualmente transmissível mais prevalente e de maior morbidade no mundo (Black, 1997). A infecção é assintomática em até 50% dos homens e em 70% das mulheres. No homem, a clamídia é responsável por 30% a 50% dos casos de uretrite não-gonocócica e, quando não-tratada, pode levar à infertilidade e síndrome de Reiter. Uma característica desta síndrome é a recorrência, e inclui uretrite, artrite, uveíte e, frequentemente, lesões de pele e de membranas mucosas (Schachter, 1986).

Na mulher, a infecção genital não tratada pode evoluir para uretrite, cervicite, salpingite, endometrite e doença inflamatória pélvica (DIP), com conseqüente gravidez ectópica e infertilidade (Seadi, 2002; Honey & Templeton, 2002; Manavi, 2006). O sítio inicial da infecção é o endocérvice, entretanto pode ser a uretra ou o reto. Geralmente se observa disúria, corrimento vaginal e sangramento após as relações sexuais, entretanto, em 70% das mulheres a infecção é assintomática (Manavi, 2006).

Múltiplos estudos apontam associação entre infecção sintomática ou e gravidez ectópica (Hills & Wasserhiet, 1997; Paavonen & Eggert-Kruse, 1999; Honey & Templeton, 2002). Esta pode ocasionar morte durante o primeiro trimestre de gravidez (Hills & Wasserhiet, 1997). A salpingite latente e não-tratada é uma importante causa de infertilidade (Darville, 1998; Malik, 2006).

A Doença Inflamatória Pélvica (DIP) consiste em uma infecção do trato genital superior como salpingite, endometrite e inflamação das tubas uterinas e ocorre em 20 a 40% de mulheres com infecção genital não tratada (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999). Os sintomas não são bem definidos e não existe relação entre a severidade dos sintomas e a progressão da doença. A ascensão do microrganismo do trato geniturinário

para o endométrio e para as tubas uterinas pode ser causa de dor no baixo ventre e de anormalidades menstruais (Seadi, 2002). Endometrite e salpingite ocorrem em 8% das infectadas e mais de 50% das mulheres com oclusão tubária têm sorologia positiva para *C. trachomatis* (Seadi, 2002). Infecções na gravidez aumentam o risco de complicações e de DIP pós-parto. Os fatores de risco para aquisição de DIP são: história de novos parceiros, atividade sexual sem prevenção, o uso do contraceptivo DIU, infecções prévias por clamídia ou gonococos ou cirurgias ginecológicas já apresentando sintomatologia (Manavi, 2006). As principais infecções ocasionadas pela *C. trachomatis* estão representadas na Tabela 2.

Tabela 2 - Infecções e doenças sexualmente transmitidas ocasionadas por *C. trachomatis*.

Local da infecção	Síndrome clínica resultante
Homens:	
Uretra	Uretrite não gonocócica/ pós-gonocócica
Epidídimo	Epididimite / Infertilidade
Reto	Proctite / Proctocolite
Conjuntiva	Conjuntivite / tracoma
Sistêmica	Síndrome de Reiter
Mulheres:	
Uretra	Síndrome Uretral Aguda
Glândula de Bartholin	Bartolinite
Colo do útero	Cervicite
Endométrio	Endometrite
Tuba de Falópio	Salpingite/ Infertilidade
Conjuntiva	Conjuntivite/ tracoma
Cápsula hepática	Peri-hepatite
Sistêmica	Síndrome de Reiter

Fonte: Darville, 1998.

1.2.7. Manifestações clínicas da Infecção por *Chlamydia pneumoniae*

1.2.7.1 Infecções Respiratórias

A *Chlamydia pneumoniae* parece ser um patógeno exclusivo de seres humanos. Apesar de já ter sido identificada em espécies não-humanas, reservatórios zoonóticos ainda não foram descritos (Jackson, 1999). A maioria das pneumonias causadas pela *Chlamydia pneumoniae* possui caráter brando, podendo, entretanto, apresentar quadros severos acompanhados de hipóxia. Doenças respiratórias como bronquite aguda, asma e doença pulmonar obstrutiva crônica são associadas à infecção por *C. pneumoniae* (Saikku, 1985; Saikku, 1988; Hammerschlag, 2000; Costa, 2002).

A bronquite é com frequência uma doença subaguda em que os sintomas duram por muitos dias ou semanas. Alguns pacientes com bronquite podem ter pneumonite não-reconhecida logo no curso da doença. Faringite primária com ou sem febre e sinusite com ou sem otite têm sido relatadas como doenças que ocorrem em separado, associadas à infecção por *C. pneumoniae* (Grayston *et al.*, 1993). A faringite e a sinusite, com frequência acompanham infecções do trato respiratório inferior. Elas podem preceder ou seguir uma infecção pulmonar. A infecção crônica ou a reinfecção por *C. pneumoniae* parece estimular um processo imunopatológico nos pulmões, levando a um processo inflamatório crônico das vias aéreas característico da asma (Hahn *et al.*, 1991; Hammerschlag, 2000).

1.2.7.2 Doenças Cardiovasculares

Tanto a *C. trachomatis* como a *C. pneumoniae* podem estar envolvidas na ocorrência de doenças cardiovasculares, tais como endocardite, e mais raramente, miocardite, a qual pode levar a cardiomiopatia crônica (Costa, 2002). A maior parte dos casos de miocardite relacionados à infecção por clamídia é provavelmente subclínica, ou representa parte de síndromes virais não-específicas e outra proporção desses casos é de etiologia desconhecida (Wang *et al.*, 2002).

Alguns estudos sugerem a associação entre a infecção por *C. pneumoniae* e aterosclerose. Esses achados foram obtidos de estudos soropidemiológicos, de detecção direta do DNA da bactéria ou do antígeno em lesões ateroscleróticas e isolamento do organismo de tecidos com ateroma (Grayston, 2000; Kuo & Campbell, 2000).

Alguns autores tentam explicar a participação da clamídia no processo de formação da placa de ateroma. Durante a infecção crônica e persistente, a bactéria produz grande quantidade de uma proteína denominada HSP-60 (*Heat Shock Protein* - proteína de choque térmico), que podem estimular o macrófago a produzir citosinas pró-inflamatórias, consideradas importantes para o desenvolvimento da aterosclerose. Ocorrendo uma superprodução de HSP-60, os macrófagos são levados a responder de forma exacerbada podendo culminar em uma reação auto-imune (Muhlestein *et al.*, 1998; Kol *et al.*, 1998).

Além destas associações, têm sido relatadas doenças do Sistema Nervoso Central (SNC), como a Esclerose Múltipla, apresentando alguma ligação com a infecção por *Chlamydia pneumoniae* devido a esta ter sido detectada no Líquido Cefalorraquidiano (LCR) de alguns pacientes apresentando a doença referida (Ikejima *et*

al., 2001; Sriram *et al.*, 1999). A clamídia infecta e se replica em células epiteliais, monócitos e macrófagos; mas a susceptibilidade e resposta imunológica das células da micróglia (células responsáveis pela resposta imune no Sistema Nervoso Central) à infecção por *C. pneumoniae* ainda não está bem esclarecida (Sriram *et al.*, 1999).

1.2.8 Aspectos Epidemiológicos da Infecção por *Chlamydia trachomatis*

Segundo estimativas da OMS, ocorrem a cada ano 92 milhões de casos em todo o mundo, 4 milhões de novos casos da infecção nos Estados Unidos e 10 milhões na Europa (WHO, 2001) (Figura 2).

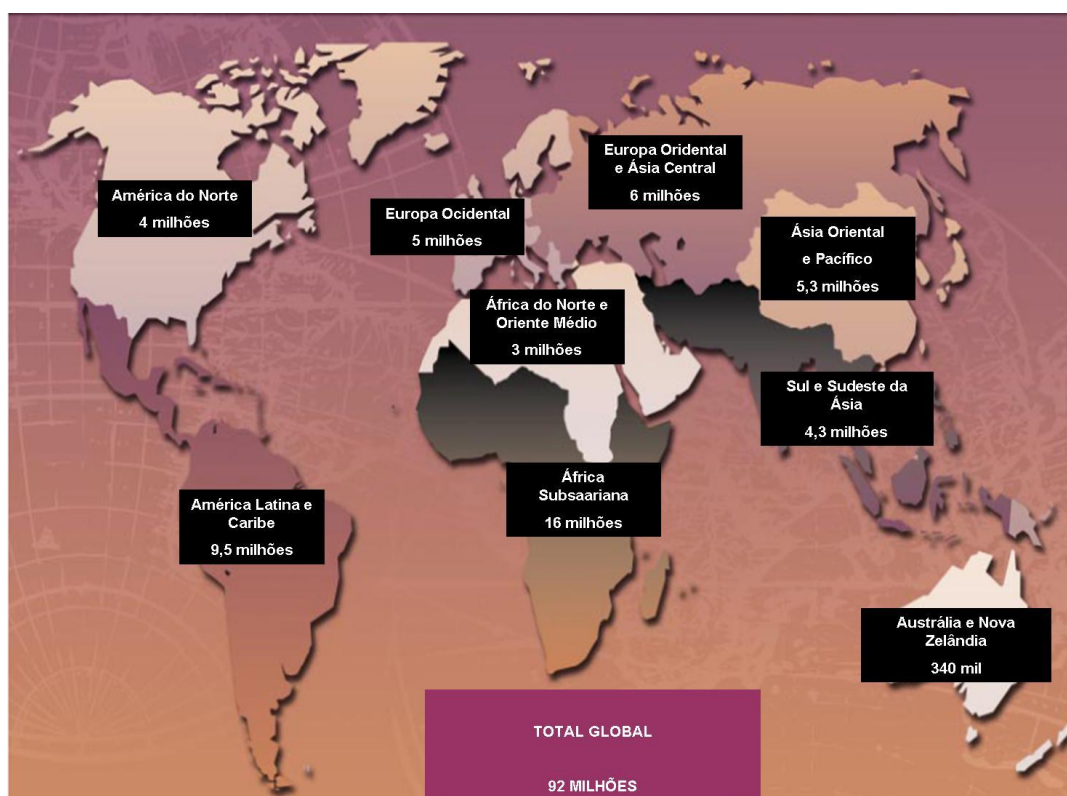


Figura 2 - Novos casos de infecção por *Chlamydia* entre adultos, 1999 (Adaptado de WHO, 2001).

Os sorotipos envolvidos na manifestação do LGV (L₁, L₂ e L₃) são mais comuns em regiões tropicais e subtropicais. Apesar de raros em países desenvolvidos, foram diagnosticados vários casos de LGV em homossexuais masculinos na Holanda a partir de 2004, fato que levou a uma atenção dos países da Europa, América e Austrália (Van de Laar, 2006).

Até dezembro de 2004, 179 casos de LGV foram confirmados na Holanda. Na Bélgica, dois casos foram diagnosticados, ambos ligados ao surto holandês (Vandenbruaene *et al.*, 2005). Na França, 244 doentes com acometimento retal foram identificados até dezembro de 2005 (Van de Laar, 2006). Na Alemanha, outros 61 casos foram identificados até novembro de 2005 (Van de Laar, 2006). Em outubro de 2004, no Reino Unido, iniciou-se campanha para diagnóstico da doença, utilizando questionários e testes de genótipo dos sorotipos L₁, L₂ e L₃. Até fevereiro de 2006, foram confirmados 327 casos (Ward, *et al.*, 2007). Desses, 96% apresentavam proctite associada a diversos sintomas locais e sistêmicos, 76% eram co-infectados pelo HIV, 19% com Hepatite C e 39% apresentavam outras IST (Van de Laar, 2006; Ward, *et al.*, 2007).

Os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* associados ao tracoma são altamente prevalentes em regiões em desenvolvimento (África, Oriente Médio, Índia, Sudoeste da Ásia e América do Sul) (Polak *et al.*, 2005). De acordo com a OMS, o tracoma é considerado a terceira causa de cegueira no mundo, depois da catarata e do glaucoma, e atingiu cerca de 84 milhões de pessoas em 2004, com outras 7,6 milhões apresentando a triquíase (WHO, 2004).

A África apresenta uma estimativa de 2,2 milhões de pessoas afetadas pelo tracoma (Lewallen, 2001). O número de estudos epidemiológicos do tracoma tem

aumentado em países como a Tanzânia, Gâmbia e Mali; e estas investigações têm mostrado que mulheres adultas correspondem a 75% da população cega devido a complicações como a triquíase (Munoz *et al.*, 1997; West *et al.*, 1991). Países como Etiópia e Sudão estão entre os mais prevalentes onde a doença atinge cerca de 50% das crianças e a triquíase é relatada em 5% dos adultos (Berhane *et al.*, 2006).

A prevalência de infecções genitais por *C. trachomatis* varia de acordo com a população estudada. Na Austrália a *Chlamydia trachomatis* é um dos agentes de IST mais freqüentemente notificados, tendo sido diagnosticados 47.030 casos em 2006. Estes números correspondem a uma incidência de 0,23% (*National Centre in HIV epidemiology and clinical research HIV/AIDS, viral hepatitis and sexually transmissible infections in Australia Annual Surveillance report*, 2007).

No Japão, a taxa de prevalência da infecção por *Chlamydia trachomatis* em estudantes foi de 8,3% (Imai *et al.*, 2004). Na Índia, a prevalência entre mulheres assintomáticas varia de 30 a 81% (Patel *et al.*, 2006).

Em países do Reino Unido como Inglaterra, Gales e Irlanda do Norte, a clamídia é comumente diagnosticada, com uma taxa de prevalência variando de 1 a 12% entre mulheres. O número de casos tem aumentado pontualmente, principalmente em Londres e países do noroeste. Nestes lugares, a incidência é mais alta em mulheres de 16 a 19 anos (1,33% em 2003) e em homens de 20 a 24 anos (0,96% em 2003) (Lowndes & Fenton, 2005).

Na Escócia, foram relatados 14.407 casos no ano de 2003, o que corresponde a um aumento de 16% em relação ao ano de 2002 e um aumento de 88% em relação ao ano de 2000 (Wallace *et al.*, 2004).

Em Barcelona, na Espanha, foi detectada uma prevalência surpreendentemente baixa entre mulheres atendidas em clínicas de IST. Os números apontaram 0,98% de prevalência de *Chlamydia trachomatis* detectada por biologia molecular (Domingo *et al.*, 2002).

Nos Estados Unidos, em 2006, foram descritos pelo *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC), 1.030.911 casos de infecções por *Chlamydia trachomatis*, correspondendo a uma taxa de 0,34% de prevalência. A taxa de infecções em mulheres (0,51%) representa quase o triplo da taxa de infecções nos homens (0,173%). No entanto, de 2002 para 2006, o número de casos em homens aumentou de 16% para 36% (CDC, 2006). Mulheres adolescentes de 15 a 19 anos constituem o grupo com a maior taxa de prevalência nos Estado Unidos, seguido do grupo de mulheres com 20 a 24 anos (Braverman & Rosenfeld, 2004; CDC, 2006). A prevalência de infecção por *Chlamydia trachomatis* em mulheres de 15 a 24 anos que foram triadas em clínicas de planejamento familiar variou de 2,8 a 16,9% com uma média de 6,7% (CDC, 2006).

Foi encontrada prevalência por métodos moleculares de 1,9% entre adolescentes no Chile (Gaete *et al.*, 1999). Em Cuba, a prevalência encontrada entre mulheres infectadas pelo HIV foi de 10% e entre as não-infectadas foi de 6,6% (Kouri *et al.*, 2002). Na Argentina, foi detectada uma prevalência de 1,76% de infecção por *C. trachomatis* (métodos moleculares) em adolescentes e adultos (Di Bartolomeu, 2002).

No Brasil, as infecções por *C. trachomatis* não constituem doença de notificação compulsória, além de existirem poucos dados sobre sua prevalência. Um estudo em população de adolescentes e jovens do sexo feminino, sexualmente ativas, em Goiânia demonstrou elevada prevalência (19,6%) de infecção genital por *C.*

trachomatis (Araújo, 2001). Em outro estudo mais recente, realizado em jovens do sexo masculino assintomáticos que se apresentaram para o serviço militar, a prevalência encontrada foi de 4,9% (Fioravante, 2003).

Em Porto Alegre, o grupo de Ramos *et al.*, constatou uma prevalência de 41,9% entre 79 homens atendidos em uma clínica de DST (Ramos *et al.*, 2002). Um ano depois, o mesmo grupo revelou uma prevalência de 0,59% entre mulheres de uma vila popular (Ramos *et al.*, 2003). Na cidade de Vitória (ES), um estudo de base populacional constatou a prevalência de 12,2% em um grupo de adolescentes sexualmente ativas (Miranda *et al.*, 2004). Um estudo em Minas Gerais, em 128 amostras endocervicais de mulheres, encontrou a prevalência de 25,8% (Oliveira *et al.*, 2006).

Em Manaus, a prevalência encontrada entre mulheres foi 20,7% (Santos *et al.*, 2003). Em Alagoas, a prevalência entre mulheres foi de 6,4% (Lima Soares *et al.*, 2003). Em Belém, Ishak *et al.* (1993) detectaram a prevalência 11% para infecção por *C. trachomatis* através de cultura de células McCoy. Outro estudo mostrou a prevalência média de 48,6% de anticorpos para *Chlamydia* entre populações indígenas da Amazônia brasileira (Ishak *et al.*, 2001).

No estado de São Paulo, Caligaris e Morimoto (2006) fizeram um estudo de prevalência do tracoma em crianças da idade escolar e encontraram 4,7%. Em Pernambuco foi relatada uma prevalência de 20,5% entre indivíduos da Chapada do Araripe (Lucena *et al.*, 2004).

1.2.9 Aspectos Epidemiológicos da Infecção por *Chlamydia pneumoniae*

A incidência mundial de infecções por *Chlamydia pneumoniae* é desconhecida. A cada ano, cerca de 2 a 5 milhões de casos de pneumonia são relatados e 500.000 hospitalizações ocorrem nos Estados Unidos. O risco maior encontra-se entre crianças na idade escolar (CDC, 2005). Cerca de 50% dos adultos com cerca de 20 anos possuem sinais de infecção passada por *Chlamydia pneumoniae* e a reinfecção no decorrer da vida é comum (Grayston, 1990).

Estudos soropidemiológicos em diferentes áreas do mundo indicam que a bactéria se distribui amplamente, com uma prevalência variando de 40 a 60% em adultos e de 10 a 20 % em crianças. Atualmente é identificada como um agente de pneumonia atípica, estimando-se que 5 a 15% de todos os casos de pneumonia se associem a infecção por este microrganismo. A bactéria possui uma distribuição mundial e transmite-se de pessoa a pessoa, através das secreções do trato respiratório (Principi *et al.*, 2001; Wazir *et al.*, 2007; Agarwal & Chander, 2008).

Um estudo realizado na Holanda encontrou uma prevalência de 56% na população (Ossewaarde *et al.*, 1995). Em Taiwan, Lin *et al.* (2004) encontraram uma prevalência de 55,8% entre homens e mulheres com idade acima de 20 anos.

Na Índia, foram encontrados altos títulos de anticorpos IgG consistentes com infecção persistente em 40,62% de crianças asmáticas (Wazir, 2007). Na Tailândia, a incidência de pneumonia por *Chlamydia pneumoniae* variou de 0,03% a 0,23% (Phares, *et al.*, 2007). No Japão e em países do Oeste, a infecção por *Chlamydia pneumoniae* é altamente endêmica. Miyashita *et al.* (2000) encontraram 64,3% de prevalência na população japonesa.

Na Itália, uma taxa de prevalência de anticorpos IgG de 29% foi encontrada em crianças na idade escolar (Molin *et al.*, 2005).

No Chile, Wilson *et al.* (2001) encontraram 8,6% de prevalência de anticorpos IgM em pacientes com sintomas de doença respiratória.

No Brasil, no Estado do Pará, foi mostrada uma alta taxa de soropositividade não só de *Chlamydia pneumoniae* (25%) como também de *Chlamydia trachomatis* (30%) em pacientes com doença pulmonar obstrutiva crônica e asma, além de uma relação entre enfisema e a sororreatividade para *C. pneumoniae* (Costa *et al.*, 2003).

Ainda no Pará, Ishak *et al.*, (2001) relataram a prevalência de anticorpos em 29,8% de indivíduos de comunidades urbanas, não-urbanas e indígenas da Amazônia. Em Porto Alegre, foi relatada uma prevalência de 63,8% de infecção por *Chlamydia pneumoniae* em pacientes internados com problemas respiratórios (Chedid, 2007). Em Santa Catarina, houve uma prevalência de 12% de *Chlamydia pneumoniae* em pacientes com aterosclerose mostrando uma forte associação entre a presença da bactéria e a doença (Coutinho, 2000).

1.2.10 Epidemiologia da Infecção por *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae* em portadores do HIV

A *Chlamydia trachomatis*, compartilha com o HIV uma importante e a mais comum forma de transmissão: a transmissão sexual. Diversos estudos mostraram que a presença de IST favorece a infecção pelo HIV, através das lesões que estas infecções podem causar no epitélio do trato genital, abrindo soluções de continuidade na pele, o que permite a entrada e disseminação do HIV no organismo (Fleming & Wasserheit, 1999; Nusbaum *et al.*, 2004). Desta maneira, a detecção e o tratamento das IST são as chaves da estratégia de prevenção do HIV (Cook, *et al.*, 2004).

Estudos epidemiológicos têm mostrado que patógenos transmitidos sexualmente, incluindo agentes como a *Chlamydia trachomatis*, podem servir como cofatores de soroconversão pelo HIV. Entretanto, dados que possam servir de estimativa do impacto dessas IST na infecção e progressão da AIDS são escassos nos países em desenvolvimento (Laga *et al.*, 1993).

Por outro lado, pacientes soropositivos para o HIV tendem a desenvolver de maneira mais severa as manifestações clínicas pertinentes a outras doenças sexualmente transmissíveis. Isso ocorre devido à depleção que o HIV provoca no sistema imune dos pacientes. Por isso em inúmeros estudos a grande maioria dos pacientes soropositivos para HIV que se infectam com os sorotipos L₁, L₂ ou L₃ de *Chlamydia trachomatis* geralmente desenvolvem o LGV clássico (Collins, 2006).

O número de casos de LGV tem aumentado em países como Europa, Austrália e América do Norte e este aumento apresentou características de surto, onde os indivíduos acometidos eram homens, brancos, com menos de 35 anos, homossexuais

e que apresentavam infecções anorretais. Mais de 70% destes pacientes eram soropositivos para o HIV (Collins, 2006).

Em 2003, 78 casos (homens) de LGV foram relatados na Alemanha, e destes, 61 foram confirmados para o sorotipo L₂. Dos 78 pacientes, 74% eram homossexuais e 63% eram soropositivos para o HIV (Bremer *et al.*, 2006). Estes casos de LGV foram ligados ao surto da doença ocorrido na Holanda, Reino Unido e Bélgica, onde grande parcela dos homens eram portadores do HIV (Vandenbruaene *et al.*, 2005, Ward, *et al.*, 2007, Van de Laar, 2006).

Em Cuba, a prevalência encontrada entre mulheres infectadas pelo HIV foi de 10% e entre as não-infectadas foi de 6,6% (Kouri *et al.*, 2002).

Poucos estudos têm mostrado a presença de infecção por *Chlamydia pneumoniae* em pacientes portadores de HIV. Tossitti (2005) encontrou 39,2% de prevalência e associou a infecção com uma baixa contagem de linfócitos T CD4⁺. Em uma avaliação de crianças infectadas verticalmente pelo HIV, Cosentini (1998) encontrou 50% de soroconversão para *Chlamydia pneumoniae* afirmando que a bactéria possui um papel potencial em infecções respiratórias em pacientes portadores do HIV.

1.2.11 Diagnóstico Laboratorial das infecções por *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*

A detecção das infecções provocadas por *Chlamydia* pode ser efetuada pelas seguintes técnicas: a detecção de antígenos bacterianos (isolamento em cultura, técnicas de microscopia, imunofluorescência direta, ensaio imunoenzimático); a detecção de anticorpos no soro dos pacientes (imunofluorescência indireta, microimunofluorescência; ensaio imunoenzimático) e a detecção do ácido nucléico bacteriano por métodos moleculares (Seadi *et al.*, 2002).

(a) Pesquisa de antígenos

Todas as cepas de *Chlamydia* infectam e se propagam em ovos embrionados, porém, problemas de contaminação, tempo de até 15 dias para o isolamento final e o surgimento de novas técnicas puseram esse método em desuso, sendo substituído pelas culturas celulares. As linhagens celulares comumente utilizadas são usadas para o isolamento incluem as células McCoy, HeLa 229, BHK-21, L 929 e células de rim de macaco verde (Kuo *et al.*, 1972; Smith, *et al.*, 1982; Stamm *et al.*, 1983; Seadi *et al.*, 2002).

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. A vantagem da cultura é a baixa probabilidade de contaminação e a preservação do microrganismo para estudos adicionais, como o teste de suscetibilidade à terapia antimicrobiana e genotipagem (Black, 1997). A cultura tem sido considerada padrão ouro para o diagnóstico da clamídia. Porém, a rápida evolução de testes de amplificação de DNA e as limitações como a labilidade de *C. trachomatis*

nas amostras clínicas e variações de performance interlaboratorial do cultivo, levaram a uma reavaliação desse padrão (Chernesky, 2005).

Além da cultura, a pesquisa direta do antígeno da clamídia pode ser realizada através de técnicas como a coloração à base de iodo, Giemsa e Imunofluorescência direta (IFD) (Lebar, 1996; Chernesky, 2005). O método de Giemsa foi, no passado, considerado um procedimento padrão para a detecção de corpúsculos de inclusão causados por *C. trachomatis* (Evans & Woodland, 1983); principalmente em conjuntivites de inclusão em recém-nascidos, onde a sensibilidade do método ultrapassa 90%. A mesma sensibilidade não ocorre na detecção de infecções de conjuntivas de adultos e infecções do trato genital (Chernesky, 2005).

A IFD é o único teste que avalia simultaneamente a adequação da amostra e a presença dos antígenos da MOMP e LPS, utilizando anticorpos monoclonais fluorescentes (Black, 1997). Apresenta uma sensibilidade que varia entre 80,0% a 90,0%, e uma especificidade de 98,0% a 99,0% em relação à cultura quando ambas são realizadas em condições ótimas (Black, 1997; Seadi *et al.*, 2002).

Os ensaios imunoenzimáticos (EIE) são muito utilizados e empregam anticorpos policlonais ou monoclonais para detectar o antígeno LPS da clamídia (Howard *et al.*, 1986). Quando o antígeno está presente, este reage com um anticorpo marcado com enzima, cujo produto final pode ser avaliado por espectrofotometria e correlacionado com a positividade ou não do teste (Seadi, 2002; Michelon *et al.*, 2005).

b) Pesquisa de anticorpos específicos

A imunidade desenvolvida após uma infecção por *Chlamydia* é tipo específica e parcialmente protetora, pois as infecções recorrentes são comuns. Os testes, em geral, detectam anticorpos gêneros-específicos, ou seja, contra o antígeno LPS presentes nos corpos elementares ou reticulares (Black, 1997; Seadi *et al.*, 2002). Os títulos de anticorpos da classe IgG determinados em uma única amostra não especificam infecção prévia ou em vigência, além da possibilidade de reações cruzadas com outras espécies de clamídia, especialmente *C. pneumoniae* (Seadi *et al.*, 2002).

Para a pesquisa de anticorpos podem ser usadas técnicas de imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático indireto e a microimunofluorescência indireta (MIF) (Michelon *et al.*, 2005). A IFI e a MIF detectam anticorpos contra o antígeno LPS dos CE ou CR (Chernesky, 2005). Nessas técnicas, o complexo formado pelo anticorpo do paciente mais os antígenos fixados nas lâminas, é incubado com um conjugado fluorescente (isotiocianato de fluorescência ligado a uma anti-imunoglobulina humana) e se houver reação positiva, são revelados pontos fluorescentes na lâmina, com ajuda com microscópio de fluorescência (Lebar, 1996).

A MIF foi descrita por Wang e Grayston na década de 70 para diferenciar os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* (Wang & Grayston, 1974). É a mais específica das técnicas sorológicas e tem a vantagem de ser espécie e sorotipo-específica, porém, é mais laboriosa e de alto custo (Seadi *et al.*, 2002; Michelon *et al.*, 2005;).

c) Testes de amplificação gênica

Os testes disponíveis comercialmente são: reação em cadeia mediada pela polimerase (PCR), reação em cadeia mediada pela ligase (LCR), amplificação mediada por transcrição (TMA) e *Strand Displacement Amplification* (SDA) (Gaydos, *et al.*, 2004).

Estas técnicas de amplificação detectam com rapidez pequenas quantidades de ácidos nucleicos em amostras clínicas. Essa abordagem oferece um aumento da sensibilidade dos métodos, pois amplifica DNA de amostras com poucos ou até um único microrganismo enquanto que o limite para as técnicas convencionais é de 100 a 1.000 microrganismos (Black, 1997).

A vantagem da PCR está no fato de ela não necessitar de organismos viáveis para resultados positivos, o que aumenta a sua sensibilidade e discordância em relação à cultura. Para amostras urinárias e genitais a PCR tem sensibilidade de 90% a 97% e especificidade de 99% a 100%. Falso-negativos podem ocorrer por substâncias naturalmente presentes em amostras humanas que inibem a PCR, e falso-positivos por contaminação da amostra (Morse, 2001).

A LCR tem essencialmente o mesmo fundamento da PCR, apresentando diferenças quanto à enzima utilizada, quantidades de reagentes utilizados, o tempo de incubação das amostras antes da etapa de amplificação e a forma de leitura. Os índices de sensibilidade e especificidade também se assemelham àqueles encontrados para a PCR (Caliendo, 1998; Gaydos, 2004). As duas técnicas amplificam seqüências nucleotídicas do plasmídeo cCT, que está presente em múltiplas cópias nos CE da *Chlamydia trachomatis* (Claas, *et al.*, 1990).

A TMA se baseia na amplificação do rRNA de *Chlamydia* e uso da transcriptase reversa para a síntese de um cDNA de cadeia dupla o qual é transcrito, e as cópias de RNA sintetizadas são reutilizadas no processo para uma nova etapa de replicação (Guatelli *et al.*, 1990). A Amplificação de Fita Deslocada (SDA) foi desenvolvida como técnica alternativa da PCR e da LCR para amplificação de seqüências alvo, onde se usa uma enzima de restrição que cliva uma única fita da molécula de DNA deixando um espaço na mesma. Em seguida uma DNA polimerase deficiente na sua função de exonuclease polimeriza a região a partir da clivagem da endonuclease de restrição (Walker *et al.*, 1992).

1.3 *TREPONEMA PALLIDUM* SUBSPÉCIE *PALLIDUM*

1.3.1 Histórico

Existem duas teorias aceitas sobre a origem da sífilis. A primeira, a Teoria Colombiana ou Teoria do Novo Mundo, determina que a doença surgiu nas Américas e que a tripulação de Cristóvão Colombo levou-a para Europa no seu retorno. A outra é conhecida como Teoria do Velho Mundo ou Pré-Colombiana, diz que a doença surgiu por mutações e adaptações sofridas por espécies de treponemas endêmicos do continente africano e havia chegado ao Continente Europeu mesmo antes do retorno de Colombo do Novo Mundo (Rothschild, 2005). Tornou-se conhecida na Europa no final do século XV e sua rápida disseminação por todo o continente transformou-a em uma das principais pragas mundiais. O acometimento da pele e das mucosas associou-a fortemente à dermatologia (Rothschild, 2005).

A sífilis possui várias denominações como lues venérea, lues espanhica, mal-americano, mal-canadense, mal-céltico, mal-de-nápoles ou mal-napolitano, mal-dos-cristãos, mal-escocês, mal-francês, mal-germânico, mal-turco ou mal-português, entre outras denominações, pois nenhum país assumia ser o berço da doença (Singh & Romanowski, 1999). Em meados do século XVIII, Philippe Ricord diferencia a sífilis da gonorréia, que até então parecia se tratar da mesma doença. Ricord também estabelece três estágios da doença (Ricord apud Waugh, 2005).

Em 1905, os pesquisadores alemães Fritz Shaudinn e Hoffman, usando uma técnica modificada de coloração Giemsa, demonstraram as espiroquetas no fluído de lesões de sífilis secundária e propuseram a denominação de *Treponema pallidum* (Shaudinn & Hoffman apud Thorburn, 1971).

O arsenal terapêutico para a sífilis inicialmente era constituído por: mercúrio, compostos de arsênico orgânico e bismuto. Apesar da toxicidade estes compostos foram utilizados até o século XIX. Em 1943, Mahoney e colaboradores trataram com sucesso pacientes com sífilis usando pela primeira vez a penicilina e, desde então, este medicamento é usado como droga de escolha no tratamento da doença (Mahoney apud Sartin & Perry, 1995).

1.3.2 Classificação

O *Treponema pallidum* subespécie *pallidum*, agente etiológico da sífilis, é uma bactéria da família *Spirochaetaceae*, ordem *Spirochaetales*, pertencente a um grupo de bactéria filogeneticamente antigo. O gênero *Treponema* possui duas espécies: *Treponema carateum*, agente causador da pinta, e *Treponema pallidum*, constituída de três subespécies: *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, causador da sífilis venérea; *Treponema pallidum* subsp. *pertenue*, causador da boubá e *Treponema pallidum* subsp. *endemicum*, causador da sífilis endêmica ou Bejel (Noordhoek *et al.*, 1989). Estudos indicam que estes quatro agentes são morfologicamente semelhantes, com até 95% de similaridade genômica, mas podem ser diferenciados pelas manifestações clínicas das respectivas enfermidades causadas (Miao & Fieldsteel, 1980).

1.3.3 Aspectos Morfológicos

O *Treponema pallidum* subespécie *pallidum* é uma espiroqueta com aproximadamente 0,2 µm de diâmetro e seu comprimento varia de 6 a 20 µm. Possui de 6 a 14 espirais, enrolados sobre seu próprio eixo (Figura 3). Não possui parede celular e

é protegido por um envelope externo com três camadas ricas em moléculas de ácido N-acetil murâmico e N-acetil glucosamina. Pela microscopia eletrônica, observa-se que possui um corpo envolvido por duas membranas (citoplasmática e externa), entre as quais se enrola um filamento helicoidal de estrutura fibrilar inserido em grânulos citoplasmáticos nas extremidades denominado filamento axial (endoflagelo), responsável por um movimento característico repetitivo e ondulante, em forma de sacorolhas, com rotação rápida em torno de seu eixo longitudinal (Jepsen *et al.*, 1968).

A bactéria que causa a sífilis não é cultivável continuamente *in vitro*, devido a grandes limitações na sua capacidade metabólica e tem baixa resistência ao meio ambiente, podendo ser destruída com facilidade pela ação do calor, falta de umidade, desinfetantes, água clorada, sabão ou simplesmente ficar exposto ao ambiente (fora do seu habitat) por mais de 26 horas (Norris, 1982). Portanto, a maioria das informações obtidas a respeito deste patógeno é derivada de modelos animais, principalmente através da infecção em coelhos (Fitzgerald, 1981).

Estudos têm mostrado que o patógeno necessita de muitos nutrientes do hospedeiro, pois possui uma capacidade limitada para a síntese de aminoácidos e carboidratos, sendo também incapaz de produzir ácidos graxos e enzimas responsáveis por manter a rota biossintética de conversão do fosfoenolpiruvato ou piruvato à aspartato (Norris & Edmondson, 1986; Fraser *et al.*, 1998).



Figura 3 - *Treponema pallidum* (Public health image library: <http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>).

1.3.4 Organização Genômica

O genoma completo do *Treponema pallidum* (cepa Nichols) é constituído por um único cromossoma circular, e foi descrito em 1998, através do sequenciamento randomizado do genoma total. Este apresenta 1.138.006 pares de bases e possui 1041 regiões de matriz de leitura aberta (ORFs – *Open Reading Frames*) com média de 1.023 pares de base cada uma. As ORFs constituem 92,9% do material genômico total do patógeno. Nota-se discreto predomínio de pares de base guanina/citosina, sendo encontradas em 52,8% do cromossoma. (Fraser *et al.*, 1998).

Do total de ORF, 45% mostram homologia com *Borrelia burgdorferi*, uma bactéria da mesma família do *T. pallidum* (Fraser *et al.*, 1998). Sabe-se que 78% destas regiões homólogas possuem função biológica conhecida e comum a outras

bactérias, como transcrição, tradução, replicação do DNA, divisão celular, metabolismo energético, estrutura, função flagelar e secreção de proteínas. Outros 22% restantes de material genético homólogo não tem papel biológico conhecido, sendo que pelo menos a metade deve contribuir para determinar as propriedades estruturais e fisiológicas da bactéria, conferindo a elas a habilidade de infectar e causar doença crônica no homem (Fraser *et al.*, 1998).

Apesar de alta homologia com *Borrelia burgdorferi*, o *T. pallidum* apresenta 55% (577/1.041) de suas ORF como sendo próprias a subespécie. Cerca de 80% destas ORF não tem função biológica conhecida, demonstrando um grande potencial na diversidade genética e a carência de informações sobre seus genes particulares (Weinstock *et al.*, 1998).

Os genes associados à motilidade são altamente conservados tanto em *B. burgdorferi* quanto no *T. pallidum*, demonstrando a importância desta atividade para estes espiroquetas altamente invasivos. As duas bactérias apresentam similaridade para a maioria dos genes que codificam proteínas envolvidas na estrutura e função flagelar (Fraser *et al.*, 1998; Weinstock *et al.*, 1998).

Os genes que codificam proteínas de membrana ainda estão sendo estudados, mas sabe-se que estão divididos em famílias gênicas, como *tprA-L*, que podem funcionar como porinas e adesinas, *tp92* e *tpp47*. Essas proteínas de superfície podem conferir variabilidade antigênica (Fraser *et al.*, 1998).

Genes de virulência associados à toxicidade não são bem conhecidos. Cinco genes foram descritos como sendo codificantes de proteínas similares à hemolisina bacteriana: *hlyA*, *hlyB*, *tlyC*, *hlyC* e *hlyIII* (Fraser *et al.*, 1998; Weinstock *et al.*, 1998).

1.3.5 Patogenia

A penetração do treponema é realizada por pequenas abrasões decorrentes da relação sexual. Logo depois, o treponema deposita-se na camada subendotelial e após um período de incubação, que varia de 10 a 90 dias, prolifera-se no local, produzindo uma pápula eritematosa que posteriormente se torna ulcerada, quando então é denominada de cancro duro. Na circulação, o *T. pallidum* se multiplica, o que favorece a disseminação do agente por todo o organismo hospedeiro, tornando a doença sistêmica (Fitzgerald, 1981; Lukehart *et al.*, 1992).

Durante as fases recentes de infecção existe a produção de imunoglobulinas circulantes. Entretanto, a imunidade humoral não confere proteção contra a doença e a imunidade celular é mais tardia, permitindo a proliferação do *T. pallidum* e sua sobrevivência por longos períodos (Avelleira & Bottino, 2006; Fitzgerald, 1981).

Um exudato contendo fibrina, fragmentos necrosados de tecido e leucócitos polimorfonucleares são encontrados na superfície da úlcera primária e um denso infiltrado inflamatório está presente na região dérmica adjacente, com predominância de linfócitos e células plasmáticas, podendo-se encontrar histiócitos e células polimorfonucleares (Singh & Romanowski, 1999).

1.3.6 Manifestações Clínicas da sífilis

A sífilis pode ser classificada, de acordo com a forma de transmissão, em adquirida (transmitida através de contato de soluções de continuidade entre o sangue do indivíduo doente e o indivíduo sadio, principalmente pelo contato sexual) e congênita

(transmitida de mãe infectada para filho via placentária). A sífilis adquirida pode se apresentar nas formas recente ou tardia (Avelleira & Bottino, 2006).

A sífilis congênita também possui uma classificação, de acordo com a evolução da doença no momento da detecção, em precoce e tardia. Quando é detectada nos dois primeiros anos de vida denomina-se sífilis congênita precoce, enquanto que a detecção em um tempo de vida de mais de dois anos considera-se sífilis congênita tardia (Vaules *et al.*, 2002).

a) Sífilis adquirida

A primeira fase da sífilis adquirida engloba as primeiras manifestações da doença após 1 a 3 semanas da infecção (Goh, 2005). O aparecimento de um cancro indolor é a principal característica da sífilis primária juntamente com linfadenopatia regional (Lafond & Lukehart 2006). O cancro é uma pápula eritematosa pouco dolorosa que surge no local da inoculação e se torna ulcerada, medindo entre 0,3 e 3,0 cm de acordo com a resposta imunológica do paciente e a possível associação com outras doenças. O cancro primário representa a multiplicação local do patógeno, tendo, portanto, abundantes exemplares do *T. pallidum* (Mindel *et al.*, 1989, Vaules *et al.*, 2002;).

Não existe uma delimitação nítida entre as fases primária e secundária da doença, sendo ainda detectado cancros em até um terço dos pacientes com sífilis secundária (Singh & Romanowski, 1999).

Com a resolução espontânea do cancro, fato que gera uma falsa impressão de cura, uma segunda fase da doença se inicia. A fase secundária da sífilis caracteriza-se pela presença do patógeno na via hematogênica, onde ocorre a

treponemia, isto é, a multiplicação da bactéria, evento que leva ao aparecimento de alguns sinais e sintomas como roséolas sífilíticas ou pênfigo palmo-plantar, adenopatia indolor, alopecia, febre superior a 37° C e surdez sensorial (Chapel, 1980, Mindel *et al.*, 1989).

A fase de latência da espiroqueta, compreendida entre a treponemia e a proliferação no interior dos órgãos, não é bem compreendida. Este período é caracterizado pela ausência total de sinais ou sintomas que pode durar de um a trinta anos e após este período os patógenos se reativam e se multiplicam em órgãos específicos, provocando uma hipersensibilidade mediada por célula, a qual lesa os tecidos (Singh & Romanowski, 1999).

O período de latência pode ser subdividido em sífilis latente precoce e sífilis latente tardia. Quando a evolução da doença é inferior a um ano este período classifica-se como latente precoce, enquanto que após um ano de evolução a sífilis latente é classificada como tardia (Singh & Romanowski, 1999).

A última e mais severa fase da sífilis é caracterizada por uma reativação dos treponemas e invasão de órgãos e tecidos específicos, podendo provocar alterações tegumentares (goma sífilítica) e atingir o sistema cardiovascular e o SNC (Aarestrup & Vieira, 1999; Keairns *et al.*, 1993).

O achado principal no Sistema Cardiovascular é a estenose progressiva e lenta das artérias, que quando em co-infecção com a AIDS evolui muito mais rapidamente, causando obstrução de artérias importantes, sendo freqüentes os relatos de angina, raramente associada a infarto do miocárdio (Jackman & Radolf, 1989, Goh, 2005).

Quando a infecção atinge o SNC ela é denominada de neurosífilis e apresenta quadros neurológicos clássicos, como paralisia geral progressiva, *tabes dorsalis* e pupila de Argyll Robertson (Peeling, *et al.*, 2006). Em períodos mais evoluídos da doença lesões chamadas de gomas sífilíticas podem ocorrer em órgãos como a pele, ossos, fígado, coração e cérebro, levando o paciente a óbito por complicações no cérebro e coração (Singh & Romanowski, 1999, Peeling, *et al.*, 2006).

De acordo com a classificação da sífilis adquirida em recente e tardia, a forma adquirida recente apresenta os sinais e sintomas da fase primária e secundária da doença, enquanto que na sífilis adquirida tardia notam-se sinais e sintomas da fase terciária (Avelleira & Bottino, 2006).

b) Sífilis Congênita

O *Treponema pallidum* tem a capacidade de transpor a barreira placentária em qualquer fase de evolução da doença, passando para a circulação fetal com taxa de transmissão de 70-100% na sífilis primária e secundária, 40% na fase latente recente e 10% no período latente tardio. A doença no feto será tão mais grave quanto mais recente for a infecção materna (Vaules *et al.*, 2002).

Durante a gestação a imunidade fica mais debilitada, pois os hormônios, como progesterona e estrógeno, produzidos pelo trofoblasto parecem interferir com a indução da resposta imunológica, inibindo as células T citotóxicas e células NK, que agiriam na destruição das espiroquetas (Sheffield *et al.*, 2002).

A sífilis quando não diagnosticada e tratada de forma adequada durante a gravidez pode causar inúmeros malefícios ao concepto. Na sífilis congênita precoce são evidenciadas características como hepatoesplenomegalia, anormalidades ósseas, lesões cutâneas, pneumonia, hiperbilirrubinemia, icterícia, paralisia dos membros (pseudoparalisia de Parrot), pancreatite, anormalidades do sistema nervoso central e nefrite. Quando a sífilis congênita é tardia pode provocar sinais como bossa frontal de Parrot (fronte olímpica), mandíbula curva, arco palatino elevado, tríade de Hutchinson (nariz em sela, molares em amora e tibia em sabre) (Vaules *et al.*, 2002; Lugo *et al.*, 2006).

O principal fator de risco relacionado à transmissão vertical da sífilis é a não realização de um pré-natal adequado, com a obrigatoriedade da realização de testes para detecção de sífilis nas gestantes pelo menos uma vez em cada trimestre da gestação (Sheffield *et al.*, 2002; Vaules *et al.*, 2002).

A Sífilis congênita é considerada totalmente prevenível. Sendo que os óbitos pela doença são considerados como eventos “sentinela”, pois por si só indicam má qualidade da assistência, tendo ainda alta prevalência principalmente em países em desenvolvimento (Lugo *et al.*, 2006).

1.3.7 Aspectos Epidemiológicos da Sífilis

Apesar do tratamento eficaz e de baixo custo, a sífilis até hoje constitui um problema de saúde pública e acomete principalmente países em desenvolvimento tendo a característica de doença social (Avelleira & Bottino, 2006). Dados de prevalência nos trópicos têm mostrado que a sífilis é a segunda ou terceira causa de ulcera genital, atrás somente do cancro mole (causado pelo *Haemophilus ducrey*) e/ou herpes genital, sendo possível este dado subestimar os casos desta doença, pois o cancro sífilítico é indolor, não causando incômodo e, conseqüentemente, não é detectado (Avelleira & Bottino, 2006).

Em 2001, a OMS estimou uma incidência de mais de 12 milhões de casos, com mais de 90% destes ocorrendo em países em desenvolvimento. Quase dois terços estão distribuídos na África Subsaariana (Quênia, Malawi, África do Sul, Zâmbia, Zimbábue, Moçambique), sul e sudoeste da Ásia. Cerca de 3 milhões na América do Sul e Central (WHO, 2001) (Figura 4).

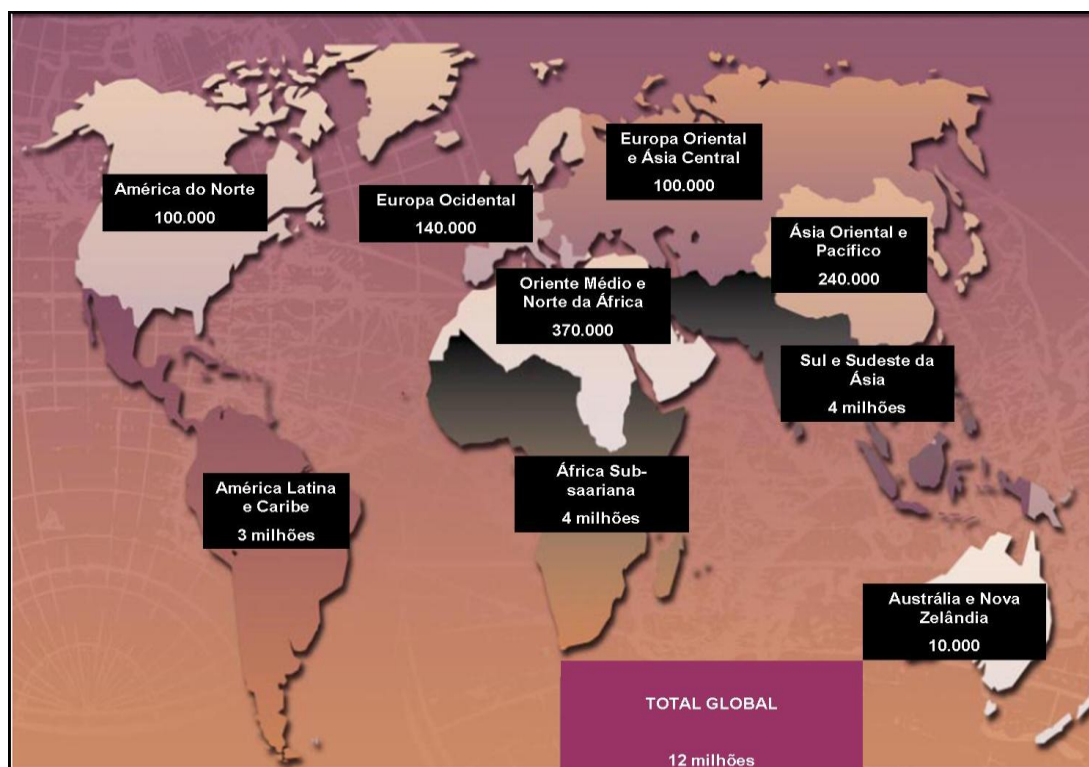


Figura 4 - Novos casos de Sífilis entre adultos, 1999. (Adaptado de WHO, 2001).

Tanto a Rússia como a Europa Oriental apresentaram um aumento no número de casos, desde a separação da antiga União Soviética. Foi observado que nesses países, a incidência de sífilis aumentou de 5 a 15 casos a cada 100.000, em 1990 para 120 a 170 casos a cada 100.000 pessoas em 1996. O aumento do fluxo migratório de trabalhadores sexuais pelas fronteiras desses países pode ser uma razão para esta elevação dos casos de sífilis (WHO, 2001).

No oeste do pacífico, são encontradas taxas relativamente altas de sífilis, como observadas em Camboja (4%), Papua Nova Guiné (3,5%) e no Pacífico Sul (8%) (WHO, 2001). Na Irlanda, foi encontrada uma prevalência de 7,2% em homossexuais masculinos (Hopkins *et al.*, 2004).

No Canadá, as taxas de incidência variam entre 0,9 e 1,8 casos a cada 100.000 pessoas (Jayaraman *et al.*, 2003). Um estudo no México detectou a prevalência de 0,27% de sífilis primária e secundária entre mulheres grávidas (Noyola *et al.*, 2006).

Nos Estados Unidos foi observado um aumento nas taxas de sífilis primária e secundária entre mulheres. Os números indicam uma taxa de 0,8 casos por 100.000 habitantes em 2004 e 1,0 casos por 100.000 habitantes em 2006 (CDC, 2006). Em cidades como São Francisco e Los Angeles, os homossexuais são os grupos mais atingidos pela sífilis com taxas de 47% e 18%, respectivamente (Dilley, *et al.*, 2004).

Um estudo realizado no México encontrou 6,4% de prevalência de infecção em um grupo de mulheres profissionais do sexo (Hernández-Girón *et al.*, 1998).

Um estudo realizado em cinco países da América Central (El Salvador, Guatemala, Honduras, Nicarágua e Panamá) encontrou uma prevalência de 9,6% entre mulheres profissionais do sexo e 8,3% entre homossexuais masculinos (Soto *et al.*, 2007).

Na Venezuela, a prevalência de Sífilis encontrada foi de 2,4%, em 1999 (Camejo *et al.*, 2003). Um estudo realizado na Argentina no ano de 2006 mostrou uma prevalência de 16,9% entre homossexuais masculinos (Pando *et al.*, 2006).

No Brasil, foram notificados 843.300 casos de sífilis em 2003 (Ministério da Saúde, 2005). Não sendo doença de notificação compulsória, os estudos epidemiológicos são realizados em serviços que atendem IST ou grupos selecionados, como gestantes, soldados, prisioneiros, e outros (Codes *et al.*, 2006).

No estado do Paraná, Reiche *et al.* (2000) observaram uma soroprevalência para sífilis de 1,6% em grávidas. Em São Paulo, foi observada uma

prevalência de 5,7% em um grupo de prisioneiras, em 2001 (Lopes *et al.*, 2001). Outro estudo utilizando também amostras de prisioneiras encontrou 15,7% de prevalência em Vitória, Espírito Santo (Miranda *et al.*, 1998).

Em Salvador, foi encontrada uma prevalência de sífilis primária e secundária de 6,7% para homens e 5,1% para as mulheres, em 2006 (Codes *et al.*, 2006). No Rio de Janeiro, foi detectada uma prevalência de 6,5% entre mulheres jovens (Cook *et al.*, 2004); em Fortaleza, um estudo feito na população geral mostrou 7,9% de prevalência, em 2003 (Bello *et al.*, 2003).

No estado do Pará, foi descrita em 1995 uma prevalência de 41,6% na população da cidade de Itaituba (Santos *et al.*, 1995). Um estudo realizado na população de Belém revelou a prevalência de 4,39% para o teste VDRL e 15,79% para o ELISA e analisando os dados epidemiológicos foi observada associação da infecção com relação sexual sem preservativo e múltiplos parceiros (Vallinoto *et al.*, 2003).

Em relação à sífilis congênita, os dados obtidos em programas de pré-natal e maternidades mostraram soroprevalências elevadas, principalmente em países africanos (Temmerman *et al.*, 2000). Depois de 14 anos de declínio, a taxa de sífilis congênita aumentou 3,7% de 2005 para 2006 nos EUA (0,082% em 2005 para 0,085% em 2006) (CDC, 2006). A partir de 2005 sífilis em gestantes passou a ser de notificação compulsória no Brasil. De 2005 até 2007 foi detectado um total de 387 casos no Estado do Pará (Boletim Epidemiológico, 2007). Ainda no Pará, os casos de sífilis congênita notificados desde 1998 a 2007 atingiram o número 1.314 (Boletim Epidemiológico, 2007).

1.3.8 Aspectos Epidemiológicos da Co-infecção Sífilis-HIV

Com as profundas modificações ocorridas no comportamento sexual das pessoas, e a possibilidade de transmissão sexual de diversos microrganismos, a co-infecção Sífilis - HIV não é um fato tão incomum (Gir *et al.*, 1994). Estudos epidemiológicos vêm mostrando que a presença de IST está associada com um risco 3 a 5 vezes maior de se contrair o HIV, o qual se deve ao fato de a presença de sífilis provocar úlceras genitais que podem permitir a passagem de outros agentes infecciosos (Lynn & Lightman, 2004; Golden *et al.*, 2003).

A interação sífilis-HIV pode causar a aceleração da história natural de cada infecção. A sífilis em portadores de HIV pode se apresentar com diversas alterações nas manifestações clínicas, exames laboratoriais e um risco maior de complicações, bem como diminuição da resposta à terapia (Lynn & Lightman, 2004). Ao contrário, existem poucos dados sobre o efeito da sífilis na progressão do HIV. Tem sido mostrado que o *Treponema pallidum* pode diminuir transitoriamente a contagem de linfócitos T CD4+ em portadores de HIV por indução da apoptose. De forma similar, a presença de sífilis pode levar a um aumento na carga viral, porém os efeitos deste aumento ainda estão desconhecidos (Sadiq *et al.*, 2005).

A frequência da co-infecção depende diretamente da prevalência de ambas as infecções nas comunidades ou do tipo de população estudada, bem como os fatores de risco individuais (Lynn & Lightman, 2004).

A partir dos anos 90 o diagnóstico de sífilis entre homossexuais masculinos vem aumentando em determinadas regiões. No Reino Unido, a Agência de Proteção à Saúde iniciou uma campanha de vigilância seguindo surtos de sífilis em

Bristol e Manchester. Dados do final de 2005 mostraram que 35% dos homossexuais com sífilis estavam co-infectados com o HIV (Smith & Sherrard, 2007).

No norte da Índia, um trabalho realizado recentemente mostrou uma prevalência de sífilis primária e secundária de 5,4% na população geral e de 0,1% destes infectados estavam co-infectados com o HIV (Hussain *et al.*, 2006).

Na Espanha, Munoz-Peres (1998) encontrou uma prevalência de 13% de sífilis em portadores de HIV. Na Alemanha, um estudo feito também em portadores de HIV observou uma prevalência de 1,33% de sífilis (Schofer *et al.*, 1996).

Nos EUA, Blocker *et al.*(2000) fizeram um estudo de revisão de literatura onde buscaram dados de co-infecção HIV e sífilis nos EUA. A média de soroprevalência entre homens e mulheres foi 15,7%.

Na Argentina um estudo realizado em mulheres profissionais do sexo encontrou uma prevalência de co-infecção de 1,5% (Pando *et al.*, 2006).

No Brasil, a associação da prática sexual de risco na transmissão do HIV tem sugerido a importância da obtenção de dados epidemiológicos em diferentes grupos populacionais a fim de orientar medidas de saúde pública a serem tomadas de forma mais apropriada. Em Pernambuco, a prevalência de sífilis encontrada foi de 8,8% em pacientes infectados pelo HIV (Rodrigues & Abath, 2000). No Rio de Janeiro, um estudo realizado em um Hospital Universitário encontrou 2,7% de co-infecção onde o grupo mais acometido foi o de homossexuais masculinos (Signorini *et al.*, 2007). No estado do Pará, a prevalência foi de 73,6% em portadores de HIV(Costa, 2005).

1.3.9 Diagnóstico Laboratorial da Sífilis

O diagnóstico da doença é dado pela avaliação clínica, detecção do *T. pallidum* ou de anticorpos presentes no plasma/soro do paciente. Os testes laboratoriais para detecção da sífilis são divididos em testes treponêmicos e não-treponêmicos (Ratnam, 2005). Cada fase da doença possui uma técnica mais adequada de detecção (Avelleira & Bottino, 2006).

1.3.9.1 Testes não-Treponêmicos

Os testes não-treponêmicos detectam anticorpos contra produtos sintetizados durante a infecção treponêmica como a cardiolipina ou fosfolípidos. (Wicher *et al.*, 1999; Vaules *et al.*, 2002). Os anticorpos para os fosfolípidos não são produzidos apenas na infecção pelo *T. pallidum*, mas também em baixas concentrações após infecção com outros microrganismos, em doenças associadas à inflamação como as alterações autoimunes e durante a gravidez. São amplamente introduzidos na rotina laboratorial para detecção, mesmo que inespecífica, da sífilis, por serem rápidos, práticos e de baixo custo (Clyne & Jerrard, 2000).

a) *Veneral Disease Research Laboratories* (VDRL)

O VDRL é o teste não-treponêmico clássico. Consiste em uma pesquisa de anticorpos anti-cardiolipina através de uma solução alcoólica contendo cardiolipina, lecitina e colesterol. É o teste de triagem mais utilizado na rotina laboratorial tanto qualitativamente na detecção da sífilis quanto quantitativamente pelo monitoramento da infecção e avaliação do tratamento. Necessita de um processo de inativação do soro por aquecimento em banho-maria e posteriormente é necessário o preparo da solução

antigênica. A visualização da reação de floculação é realizada em microscópio óptico (Wicher *et al.*, 1999).

Entretanto, o VDRL apresenta limitações como pouca sensibilidade (74% a 87%) nas fases recente e latente tardia (Ratnam, 2005). Reações falso-positivas associadas com a gravidez, doenças auto-imunes e pela infecção por outros microorganismos podem ocorrer. Reações falso-negativas também são encontradas devido a erros na técnica e ao efeito de prozona (1% a 2%) (Avelleira & Bottino, 2006; Larsen *et al.*, 1995). Pela carência de especificidade, o VDRL com níveis baixos de anticorpos normalmente é confirmado utilizando testes sorológicos treponêmicos, como o teste de Microaglutinação passiva para anticorpos *T. pallidum* (MHA-TP) (Larsen *et al.*, 1995).

b) Reaginina Plasmática Rápida (RPR)

O RPR é uma variação do VDRL realizada em um cartão de látex contendo círculos de aproximadamente 18 mm onde é feito o teste com a adição da suspensão colesterol/cardiolipina/lecitina e não sendo necessária a utilização de microscópio e inativação do soro (Wicher *et al.*, 1999). Porém, o RPR apresenta os mesmos problemas relacionados à resultados falso-positivos e falso-negativos encontrados no VDRL (Peeling & Ye, 2004).

1.3.9.2 Testes Treponêmicos

A infecção pelo *T. pallidum* pode ser diagnosticada através das provas treponêmicas diretas e indiretas. Os testes diretos são aqueles em que se detectam a presença do patógeno em material biológico, podendo ser raspado de lesões, descargo

nasal de recém-nascido, fluido amniótico e sangue. Enquanto que os indiretos detectam anticorpos específicos (IgG, IgM e IgA) contra o *T. pallidum* ou seus estratos (proteínas de superfície), no soro ou líquido cefalorraquidiano (Singh & Romanowski, 1999).

1.3.9.2.1 Testes Diretos

a) Microscopia de Campo Escuro

Este método permanece como um dos mais confiáveis para a detecção direta do *Treponema pallidum*. O teste consiste no exame direto da linfa da lesão onde a identificação é feita com base nas características morfológicas e motilidade da bactéria (Ratnam, 2005).

A microscopia de campo escuro não é amplamente utilizada na prática laboratorial, pois se trata de um teste que demanda experiência do técnico microscopista e materiais biológicos de biópsia rica em exemplares da bactéria, com sensibilidade variando entre 74 e 86% e especificidade podendo alcançar 97%. A técnica é importante quando os anticorpos ainda não são detectáveis durante a fase primária da sífilis ou em pacientes com imunodeficiência (Singh & Romanowski, 1999; Wicher *et al.*, 1999; Avelleira & Bottino, 2006).

b) Técnica de Coloração de Fontana–Tribondeau

Também requerendo amostras de lesão, o teste de coloração de Fontana–Tribondeau utiliza a ferramenta da microscopia com a adsorção de prata à membrana do patógeno, tornando-o visível ao microscópio óptico, visualizando o treponema sem os movimentos característicos da espécie aumentando as chances de resultados falso-positivos (Wicher *et al.*, 1999; Avelleira & Bottino, 2006).

c) Imunofluorescência Direta

Apesar de boa sensibilidade (cerca de 90%) não é um teste aplicado na rotina. A imunofluorescência direta é uma análise de microscopia com o acessório da fluorescência, onde são usados anticorpos específicos conjugados à fluoresceína (Cummings *et al.*, 1996).

d) Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR)

Os testes atualmente mais utilizados para fins diagnósticos são baseados na reação sorológica para detecção de anticorpos contra o patógeno ou substâncias induzidas por ele. Entretanto, a elevada taxa de resultados falso-positivos e falso-negativos mostra que estes testes ainda são imprecisos para um diagnóstico conclusivo (Wicher *et al.*, 1999).

Com o sequenciamento do genoma completo do patógeno puderam ser determinadas regiões gênicas específicas do *Treponema pallidum*, elegendo determinados genes ou segmentos gênicos chaves para o diagnóstico da presença do DNA da espiroqueta (Fraser *et al.*, 1998; Wicher *et al.*, 1999).

Os estudos para detecção do microrganismo pela técnica de PCR utilizaram preferencialmente amostras de úlceras genitais, onde é encontrada uma concentração maior de microorganismos (Jethwa *et al.*, 1995; Pillay *et al.*, 2002). Porém, o diagnóstico por PCR também pode ser utilizado para amostras de fluido amniótico, soro ou Líquido Céfalo-Raquidiano (LCR) (Grimprel *et al.*, 1991).

A especificidade varia de acordo com o segmento gênico de escolha, sendo o mais utilizado o gene da DNA polimerase I (polA) (Liu *et al.*, 2001). A sensibilidade é alta (cerca de 91%) segundo muitos autores, podendo detectar

consistentemente a partir de dez exemplares do patógeno (Liu *et al.*, 2001). Apesar de boa especificidade e sensibilidade o teste ainda é quase que exclusivo de laboratórios de pesquisa (Wicher *et al.*, 1999).

e) Teste de Infectividade em Coelhos (*Rabbit Infectivity Test*):

O teste realizado em coelhos ainda é o “padrão ouro” para detecção do *Treponema pallidum* subsp. *pallidum*, pois é capaz de detectar um único exemplar da bactéria por inoculação nos testículos dos animais. Entretanto, o RIT não é utilizado amplamente por envolver animais e pela demora no aparecimento dos sinais primários nos coelhos (Sánchez *et al.*, 1993).

1.3.9.2.1 Testes Indiretos:

Os testes indiretos são mais utilizados, pois localizam anticorpos séricos produzidos contra a bactéria. Apesar da praticidade e ampla utilização na confirmação da sífilis, os testes sorológicos treponêmicos podem apresentar um pequeno problema com resultados falso-positivos por ligação cruzada com anticorpos para a doença de Lyme ou pela cicatriz sorológica de infecção treponêmica anterior (Cummings *et al.*, 1996; Ratnam, 2005).

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

O teste sorológico FTA-abs é utilizado como teste confirmatório para a infecção por treponema, pois determina a presença de anticorpos específicos contra a bactéria. A sensibilidade do teste na sífilis recente varia entre 70 a 100% e a especificidade 94 a 100% (Singh & Romanowski, 1999; Whicher *et al.*, 1999).

b) Ensaio Imunoenzimático (ELISA):

O ELISA pode ser usado como teste de triagem ou como teste confirmatório para sífilis, podendo detectar IgG ou IgM no soro do paciente. Tem alta especificidade (97 a 100%) e sensibilidade (92 a 100%), comparável ao FTA – Abs, porém pode ter uma sensibilidade menor na fase primária da Sífilis (Avelleira & Bottino, 2006).

c) Teste de Microaglutinação Passiva para Anticorpos *T. pallidum* (MHA-TP):

O teste apresenta sensibilidade semelhante ao FTA-Abs, exceto na fase primária inicial da doença, onde o teste de fluorescência indireta é mais sensível (Avelleira & Bottino, 2006). Consiste em uma técnica de hemaglutinação no qual são utilizados eritrócitos provenientes de carneiro, ligados a antígenos derivados da cepa Nichols do *T. pallidum*. O soro do paciente que contém anticorpos treponêmicos reage com os eritrócitos resultando em aglutinação (Ratnam, 2005).

O teste de aglutinação é amplamente utilizado para confirmação de resultados positivos ao VDRL ou RPR que, por uma titulação baixa, pode ser considerado duvidoso, além de que os anticorpos produzidos contra o patógeno são detectados nas fases mais recentes da infecção (entre o quinto e o décimo dia do cancro) pelo MHA-TP em relação aos outros métodos sorológicos (Clyne & Jerrard, 2000).

O interesse pelo estudo das infecções sexualmente transmissíveis vem crescendo continuamente devido às mudanças ocorridas nas últimas décadas que alteraram o perfil das ISTs, doenças que sempre foram de difícil controle, não apenas por sua alta incidência e prevalência, mas por suas conseqüências, como as

complicações psicossociais e econômicas, pois acometem uma grande parcela da sociedade em idade produtiva e reprodutiva (Panchaud, 2000).

O conhecimento da situação epidemiológica real dos microrganismos bacterianos encontrados em indivíduos portadores do HIV-1 é de fundamental importância para a tomada de medidas que conduzam ao aproveitamento das informações clínicas e laboratoriais de modo que possa ser efetuada a aplicação imediata do conhecimento gerado. Este conhecimento nos conduz para uma melhor definição de prognóstico e suporte terapêutico e, conseqüentemente com impacto direto na melhoria da qualidade de vida e o aumento da sobrevida dos portadores do vírus.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Descrever a soroprevalência das infecções por *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* e *Treponema pallidum* em portadores de HIV no Estado do Pará.

1.5.2 Objetivos Específicos

- Descrever a soroprevalência das espécies e sorotipos de *Chlamydia* (*C. pneumoniae* e sorotipos de *C. trachomatis*) circulantes na população estudada;
- Descrever os fatores de risco para aquisição de infecção por *Chlamydia* em portadores de HIV no Estado do Pará;
- Descrever a soroprevalência de *Treponema pallidum* em portadores de HIV no Estado do Pará;
- Descrever os fatores de risco para a aquisição de infecção pelo *Treponema pallidum* em portadores de HIV no Estado do Pará.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 POPULAÇÃO ESTUDADA

Este é um estudo de prevalência, de base populacional, do tipo observacional transversal que incluiu os indivíduos atendidos na Unidade de Referência para Doenças Infecciosas e Parasitárias Especiais (URE-DIPE), localizada na cidade de Belém, Pará. Os participantes do projeto foram selecionados aleatoriamente mediante assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (ANEXO 1) do projeto e no ato da coleta, todos os participantes responderam a um questionário epidemiológico padrão (ANEXO 2), no qual estavam contidas informações pessoais de cada paciente.

2.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Os pacientes portadores do HIV, que residem no Estado do Pará;
- Os pacientes que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

2.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Os pacientes não portadores do HIV e que não residem no Estado do Pará,
- Os pacientes que não assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

2.4 ASPECTOS ÉTICOS

O presente projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto, protocolo nº 2092/05, em obediência à resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, a qual trata das diretrizes e normas regulamentares da pesquisa envolvendo seres humanos (ANEXO 3). Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido no momento da coleta .

2.5 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

No período de setembro de 2007 a junho de 2008, foi realizada a coleta das amostras. Foram coletados 10 mL de sangue periférico em sistema de colheita a vácuo, em tubos contendo anticoagulante (EDTA). As amostras foram transportadas ao Laboratório de Virologia, do Instituto de Ciências Biológicas, da Universidade Federal do Pará, 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, juntamente com a massa celular.

2.6 SOROLOGIA

A abordagem soroepidemiológica consistiu em testes de triagem dos pacientes para detecção dos agentes bacterianos. Para pesquisa de anticorpos anti-*Chlamydia* foi realizado Ensaio Imunoenzimático do tipo ELISA e para determinação dos sorotipos de *C. trachomatis* e da espécie *C. pneumoniae* foi realizada a técnica de Microimunofluorescência (MIF). Para a triagem de Sífilis, as amostras foram submetidas à técnica Reaginina Plasmática Rápida (RPR) e para confirmação foi realizado Ensaio Imunoenzimático do tipo ELISA.

2.6.1 Ensaio Imunoenzimático Para *Chlamydia*

Para a detecção de anticorpos anti-*Chlamydia trachomatis* foi utilizado o teste imunoenzimático – *Chlamydia trachomatis* IgG (Diagnostic Automation Inc. - Microwell, Califórnia, EUA) e *Chlamydia trachomatis* IgM (Diagnostic Automation Inc. - Microwell, Califórnia, EUA) que podem detectar anticorpos contra o gênero *Chlamydia*. As microplacas são sensibilizadas com antígenos do sorotipo L₂ de *Chlamydia trachomatis*, comum a todas as espécies do gênero (Schachter & Caldwell, 1980). As amostras de plasma são adicionadas a placas sensibilizadas com os antígenos.

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 biotinizados 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, foi adicionada a solução de parada (HRP, 0.344M de Ácido Sulfúrico), que provoca a interrupção da ação enzimática. A leitura do teste é realizada através de espectrofotômetro que medirá a absorbância de cada amostra.

2.6.2 Microimunofluorescência para *Chlamydia*

As amostras de plasma que apresentarem reação positiva no teste de ELISA foram sorotipadas através da MIF, em diluição inicial de 1:8 em Solução Salina Tamponada. Para realização da técnica de microimunofluorescência, as lâminas foram preparadas no Laboratório de Virologia, utilizando-se como antígenos, corpúsculos elementares dos 15 sorotipos de *Chlamydia trachomatis* (A, B, B_a, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L₁, L₂ e L₃) 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 houvesse modificação da antigenicidade. Cada preparação apresenta cerca de 10⁹ 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 quinze pontos divididos, com um espaçamento mínimo de 5 mm de distância, 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 quinze antígenos foi distribuído sobre a lâmina e após 30 minutos de secagem, a 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 sorotipos; as lâminas, então, foram incubadas a 37 °C, em câmara úmida, durante 30

minutos e após esse período foram lavadas em PBS por quatro vezes por 5 minutos e em seguida lavadas três vezes em água destilada por 1 minuto. Após a lavagem, foi realizada a adição do conjugado (previamente titulado), com atividade específica anti-IgG/IgM humana, acrescido com isotiocianato de fluoresceína (FITC). Em seguida, as lâminas foram incubadas novamente e sequencialmente submetidas a um novo ciclo de lavagens e montagem, utilizando glicerina tamponada (pH 9,0). As lâminas foram visualizadas em microscópio de fluorescência (Olimpus BX41, Brasil) e as amostras que mostraram fluorescência clara, nítida e esverdeada frente a qualquer um dos sorotipos foram consideradas positivas. Foi levando em consideração o número de CE apresentando fluorescência e a intensidade da mesma.

2.6.3 Reaginina Plasmática Rápida (RPR)

O teste de triagem para Sífilis utilizado foi Reaginina Plasmática Rápida (RPR Brás, Laborclin, Paraná, Brasil), sendo realizados o 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 uma gota (aproximadamente 50µL) da solução antigênica (cardiolipina-lecitina-colesterol) presente no *Kit* e 50µL da amostra (diluída ou não). Em seguida a placa foi colocada em um agitador de placas mecânico (Vertex – Ts 2000a VDRL Shaker) e submetida a agitação de 180 ± 2 rpm, durante 4 minutos, sendo em seguida levadas para análise em microscópio óptico convencional (Olimpus BX41, Brasil) utilizando controles positivo e negativo. As amostras foram consideradas reagentes quando apresentavam a formação de grumos.

Nas amostras reativas foi realizada a análise quantitativa, onde foi feita uma diluição dos soros nas proporções de 1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, até a diluição que se verifique reatividade. A cada diluição, a amostra foi colocada em uma escavação diferente da placa e a reação foi feita conforme descrito acima. O resultado da reação foi dado pela maior diluição em que o teste ainda se mostrou reativo.

2.6.4 Ensaio Imunoenzimático Para Sífilis

Para pesquisa de anticorpos IgG anti-*Treponema pallidum* foi utilizado o teste imunoenzimático ELISA – Diagnostic Automation Inc. - Microwell, Califórnia, EUA) - para detecção qualitativa de anticorpos IgG anti-*Treponema pallidum* em amostras de plasma. O teste foi executado segundo a especificação dada pelo fabricante.

As amostras entraram em contato com placas sensibilizadas com antígenos de *Treponema pallidum* (p15, p17 e p47), formando complexo antígeno-anticorpo específicos, e então, foi adicionado um conjugado que corresponde a anticorpos monoclonais anti-IgG humana biotinilados unidos com estreptavidina e *horse radish peroxidase* (HRP) para sinalizar a soropositividade. O conjugado se liga somente aos anticorpos específicos. A leitura do teste foi realizada através de espectrofotômetro o qual mediu a absorbância de cada amostra.

2.7 MÉTODOS ESTATÍSTICOS

As informações obtidas através do inquérito epidemiológico foram armazenadas em um banco de dados. Por meio do Programa Bioestat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007), foram empregados testes não paramétricos, teste Binomial, teste do Qui-quadrado (χ^2) e Teste-G para amostras não pareadas, com nível de significância de 95% ($p < 0,05$).

3 RESULTADOS

3.1 CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO ESTUDADA

3.1.1 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará

O presente estudo teve um total de 430 participantes que responderam o questionário epidemiológico e assinaram o termo de consentimento. Algumas perguntas dos questionários deixaram de ser respondidas por alguns indivíduos e não foram consideradas para o cálculo estatístico. A análise dos questionários mostrou que 61% (263/430) dos indivíduos pertenciam ao sexo masculino e 39% (167/430) ao sexo feminino. A Tabela 3 mostra a distribuição das variáveis sócio-demográficas.

A faixa etária variou de 15 a 82 anos, com média de 38,7 anos. A maioria dos participantes (71,9%) pertencia à faixa de 26 a 47 anos. De acordo com o estado civil, 3,4% (14/430) não responderam esta informação, 54,1% (225/416) se declararam solteiros, 31,7% (132/416) disseram ser casados, 7,7% (32/416) relataram ser divorciados e 6,5% (27/416) se declararam viúvos.

A escolaridade dos indivíduos variou de não-alfabetizado até 3º grau incompleto, sendo que 0,9% (4/430) de pessoas que não responderam a informação. Além disso, 28,9% (123/426) relataram ter 2º grau completo.

A renda familiar variou de menos de um salário mínimo até mais de sete salários mínimos sendo que 7,9% (34/430) dos participantes não informaram sua renda e 68,7% (272/396) informaram ganhar de um a três salários mínimos por mês.

Em relação à naturalidade, 6,3% (27/430) não a declararam, enquanto 81,6% (329/403) se declararam paraenses e outros 18,4% (74/403) são residentes no estado do Pará, porém são naturais de outros estados (Tabela 3).

Tabela 3 - Perfil sócio-demográfico dos portadores do HIV-1 no Estado do Pará entre 2007 e 2008.

Perfil sócio-demográfico		N	Percentual (%)
Faixa etária	15 a 25 anos	34	7,9
	26 a 36 anos	160	37,2
	37 a 47 anos	149	34,6
	48 a 58 anos	70	16,3
	>59 anos	17	4
	Sem informação*	0	-
Estado civil	Casado	132	31,7
	Solteiro	225	54,1
	Separado/Divorciado	32	7,7
	Viúvo	27	6,5
	Sem informação*	14	3,4
Escolaridade	Analfabeto	10	2,3
	Alfabetizado	13	3
	1º grau incompleto	117	27,5
	1º grau completo	66	15,5
	2º grau incompleto	56	13,1
	2º grau completo	123	28,9
	3º grau incompleto	19	4,5
	3º grau completo	22	5,2
Sem informação*	4	0,9	
Renda familiar	<1 salário mínimo	59	14,9
	1-3 salários mínimos	272	68,7
	4-6 salários mínimos	43	10,9
	>7 salários mínimos	22	5,5
	Sem informação*	34	7,9
Naturalidade	Estado do Pará	329	81,6
	Outros estados **	74	18,4
	Sem informação*	27	6,3

* Não considerado para cálculo estatístico

** Residentes no estado do Pará

3.1.2 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará.

Perguntas sobre os fatores de risco listados no questionário epidemiológico foram analisadas e respondidas pelos indivíduos: uso de drogas endovenosas, uso de drogas não-endovenosas, a realização de transfusão de sangue, comportamento sexual, número de parceiros por semana, prática de sexo anal, o não uso de preservativo nas relações e histórico de infecções sexualmente transmissíveis (IST) (Tabela 4).

Em relação ao comportamento sexual, apenas 0,5% (2/430) não responderam esta informação. A maioria dos participantes (68% - 291/428) declarou ser heterossexual, 20,3% (87/428) se referiram homossexuais e 11,7% (50/428) disseram ser bissexuais.

Entre os usuários de drogas, apenas 2,6% (11/430) se declararam usuários de drogas endovenosas (UDE) e 40,5% (174/430) relataram ser usuários de drogas não-endovenosas (UDNE). A transfusão de sangue e/ou hemoderivados foi relatada por 16,5% (71/430) dos indivíduos.

Também foram obtidas, nos questionários, informações sobre o tipo de parceiro dos participantes do estudo, sendo que 0,7% (3/430) não preencheram este item. Foi observado que 80% (344/427) dos indivíduos tinham relações com parceiros heterossexuais, 13,9% (60/427) tiveram contato sexual com parceiros bissexuais, 14,6% (63/427) afirmaram ter tido relação com parceiros homossexuais. A ocorrência de relações com usuários de drogas foi de 32,3% (138/427) sendo que 13,8% (59/427) declararam ter relações com usuários de drogas endovenosas e 18,5% (79/427) declararam ter relações com usuários de drogas não-endovenosas. Relações com

múltiplos parceiros foram referidas por 16,6% (71/427) dos participantes e 33,9% (145/427) relataram relação com portador de HIV.

Quanto ao número de parceiros por semana, 34% (146/430) deixaram este item sem informação, 75,4 % (214/284) disseram possuir parceiro único, 8,9 % (25/284) disseram possuir de dois a dezenove parceiros por semana, 1,4 % (4/284) relataram possuir 20 ou mais parceiros por semana e 14,4% (41/284) relataram não ter parceiros. A prática de sexo anal deixou de ser respondida por 15,8% (68/430) dos indivíduos, 31,5% (114/362) declararam praticar às vezes, 50% (181/362) relataram nunca ter realizado a prática e 18,5% (67/362) relataram realizar sempre.

Em relação ao uso de preservativo, 7,4% (32/430) não responderam este item, 46,8% (186/398) relataram o uso constante de preservativo, 24,1% (96/398) afirmaram não usar preservativo nas relações e 29,2% (116/398) declararam usar às vezes. Em relação ao histórico de IST, obtivemos 41,2% (177/430) de indivíduos que tiveram alguma IST e 58,8% (253/430) relataram nunca ter tido alguma IST. No grupo que afirmou história prévia de IST, a mais citada foi gonorréia (57%), seguida de sífilis (13%) e depois HPV (10%).

Tabela 4 - Distribuição dos fatores de risco entre os portadores de HIV-1 no Estado do Pará entre 2007 e 2008.

Fatores de risco		N	Percentual (%)
Uso de Drogas	UDE	11	2,6
	UDNE	174	40,5
Transfusão de Sangue	Sim	71	16,5
	Não	359	83,5
Comportamento Sexual	Parceiro heterossexual	344	80
	Parceiro bissexual	60	13,9
	Parceiro homossexual	63	14,6
	Parceiro UDE	59	13,7
	Parceiro UDNE	79	18,4
	Múltiplos parceiros	71	16,5
	Parceiro portador de HIV	145	33,7
	Sem informação*	3	0,7
Parceiros por semana	Nenhum	41	14,4
	1	214	75,3
	2 – 19	25	8,9
	20 ou mais	4	1,4
	Sem informação*	146	33,9
Sexo Anal	Nunca	181	50
	Às vezes	114	31,5
	Sempre	67	18,5
	Sem informação*	68	15,8
Uso de Preservativo	Não	96	24,1
	Às vezes	116	29,1
	Sim	186	46,8
	Sem informação*	32	7,4
Histórico de IST	Não	253	58,8
	Sim	177	41,2

* Não considerado para cálculo estatístico

3.2 SOROLOGIA

3.2.1 Soroprevalência de *Chlamydia*.

3.2.1.1 Resultados laboratoriais obtidos pelo ELISA.

As amostras de portadores de HIV-1 do estado do Pará foram submetidas a ensaios imunoenzimáticos do tipo ELISA para a detecção de anticorpos anti-*Chlamydia* das classes IgG e IgM. Das 430 amostras testadas, observou-se que 276 (64,2%) foram positivas sendo 222 (51,6%) soropositivas apenas para anticorpos IgG, 17 (4%) amostras foram soropositivas apenas para anticorpos IgM e 37(8,6%) amostras apresentaram resultado soropositivo tanto para IgG quanto para IgM (Figura 5).

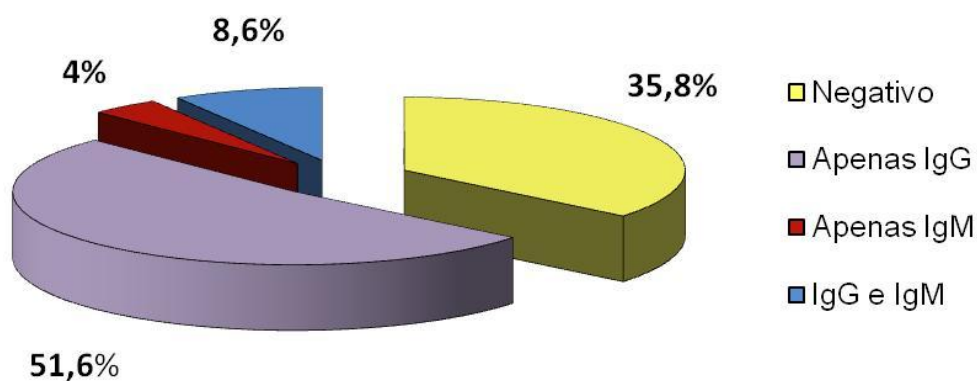


Figura 5 - Prevalência de anticorpos IgG e IgM para *Chlamydia* entre portadores de HIV-1 no estado do Pará entre 2007 e 2008.

3.2.1.2 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram positividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti-*Chlamydia*.

Dos 276 pacientes que apresentaram positividade no ELISA, foi observado que 56,9 % (157/276) pertenciam ao gênero masculino e 43,1% (119/276) ao gênero feminino. A idade mínima da população foi 16 anos e a máxima 82 anos com média de 39,4 anos. Foi observado que 37,3% (103/276) dos indivíduos se encontraram entre a faixa de 26 a 36 anos. O estado civil não foi respondido por 4%(11/276) e o mais relatado pelos pacientes foi solteiro com 57,7% (153/265) (Tabela 5).

A escolaridade variou de não alfabetizado até o 3º grau completo onde 29,4% (81/276) relataram possuir o 2º grau completo. A renda familiar variou de menos de um salário mínimo até mais de sete salários mínimos. Um total de 6,5% (18/276) não respondeu a informação e o grupo predominante foi o que relatou ganhar de um a três salários mínimos com 69% (178/258). De acordo com a naturalidade, 81,6%, (213/261) eram paraenses, 18,4% (48/261) nasceram em outros estados, mas moram no Pará e 5,4% (15/276) não responderam a informação.

Tabela 5 - Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do estado do Pará que apresentaram soropositividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti-*Chlamydia* entre 2007 e 2008.

Perfil sócio-demográfico		N	Percentual (%)
Faixa etária	15 a 25 anos	20	7,2
	26 a 36 anos	103	37,3
	37 a 47 anos	87	31,5
	48 a 58 anos	53	19,3
	> 59 anos	13	4,7
Estado civil	Casado	69	26,1
	Solteiro	153	57,7
	Separado/Divorciado	23	8,7
	Viúvo	20	7,5
	Sem informação*	11	4
Escolaridade	Não alfabetizado	9	3,3
	Alfabetizado	9	3,3
	1º grau incompleto	75	27,2
	1º grau completo	42	15,2
	2º grau incompleto	35	12,7
	2º grau completo	81	29,3
	3º grau incompleto	12	4,3
	3º grau completo	13	4,7
Sem informação*	0	0	
Renda familiar	<1 salário mínimo	41	16
	1-3 salários mínimos	178	69
	4-6 salários mínimos	26	10
	>7 salários mínimos	13	5
	Sem informação*	18	6,5
Naturalidade	Estado do Pará	213	81,6
	Outros estados **	48	18,4
	Sem informação*	15	5,4

* Não considerado para cálculos estatístico

** Residentes no estado do Pará

3.2.1.3 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para anticorpos IgG e/ou IgM anti - *Chlamydia*.

Os fatores de risco utilizados na descrição da população total foram analisados para o grupo de portadores de HIV-1 soropositivos para *Chlamydia* e estão distribuídos na Tabela 6. Quanto à preferência sexual, 65,6 % (181/276) se declararam heterossexuais, 22,5% (62/276) se declararam homossexuais e 12% (33/276) se declararam bissexuais. O uso de drogas endovenosas foi afirmado por 2,9% (8/276) dos indivíduos, enquanto o uso de drogas não-endovenosas foi afirmado por 39,5% (109/276) dos indivíduos. A transfusão de sangue foi relatada por 18,5% (51/276) dos pacientes.

Em relação ao comportamento sexual, 0,4% (1/276) deixaram de responder a informação, 79,3% (218/275) afirmaram ter relacionamento com parceiros heterossexuais e 35,6% (98/275) relataram relações com portador de HIV (Tabela 6). O número de parceiros por semana deixou de ser respondido por 38,8% (107/276), 15,4% (26/169) relataram não possuir parceiros, 71% (120/169) relataram possuir parceiro único, 11,8% (20/169) afirmaram ter de 2 a 19 parceiros por semana e 1,8% (3/169) relataram possuir 20 ou mais parceiros por semana.

A prática de sexo anal não foi respondida por 14,8% (41/276) dos participantes, 45,6% (107/235) relataram nunca ter realizado a prática, 32,3% (76/235) relataram praticar às vezes e 22,1% (52/235) relataram praticar sempre. No que diz respeito ao uso de preservativo, 6,5% (18/276) não responderam o item, 24,4% (63/258) afirmaram nunca ter usado, 28,7% (74/258) afirmaram usar às vezes e 22,1% (52/258) afirmaram usar o preservativo sempre. Em relação ao histórico de IST, 42,4% (117/276) afirmaram ter tido alguma vez na vida e 57,6% (159/276) afirmaram nunca ter tido algum

tipo de IST. Cerca de 10% (27/276) não responderam qual o tipo IST pelo qual foram acometidos enquanto as mais citadas foram gonorréia com 5,6% (14/249) e Sífilis com 2,4%(6/249).

Tabela 6 - Fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará soropositivos para anticorpos IgG e/ou IgM anti – *Chlamydia* entre 2007 e 2008.

Fatores de risco		N	Percentual (%)
Uso de Drogas	UDE	8	2,9
	UDNE	109	39,5
Transfusão de Sangue	Sim	51	18,5
	Não	225	81,5
Comportamento Sexual	Parceiro heterossexual	218	79,3
	Parceiro bissexual	43	15,6
	Parceiro homossexual	41	14,9
	Parceiro UDE	41	14,9
	Parceiro UDNE	55	20
	Múltiplos parceiros	47	17
	Parceiro portador de HIV	98	35,6
	Sem informação*	1	0,4
Parceiros por semana	Nenhum	26	15,4
	1	120	71
	2 – 19	20	11,8
	20 ou mais	3	1,8
	Sem informação*	107	38,8
Sexo Anal	Nunca	107	45,6
	Às vezes	76	32,3
	Sempre	52	22,1
	Sem informação*	41	14,8
Uso de Preservativo	Não	63	24,4
	Às vezes	74	28,7
	Sim	121	46,9
	Sem informação*	18	6,5
Histórico de IST	Não	159	57,6
	Sim	117	42,4

* Não considerado para cálculos estatísticos

3.2.2 Soroprevalência de anticorpos IgG e IgM para *Chlamydia trachomatis* e

Chlamydia pneumoniae

A reação de MIF foi utilizada para se verificar a reatividade das amostras (soropositivas no ELISA) frente aos 15 sorotipos da *Chlamydia trachomatis* e à *Chlamydia pneumoniae*. Das 222 amostras que se mostraram soropositivas para anticorpos IgG no ELISA, foi feita uma amostragem aleatória de 15% (34) para serem submetidas à sorotipagem pela MIF. Esta amostragem foi realizada com o auxílio do programa Bioestat 5.0 (Ayres *et al.*, 2007).

Foi observado na MIF que todas as amostras apresentaram sororreatividade para *Chlamydia trachomatis* levando a uma prevalência geral de 100% (34/34). Foram observadas amostras apresentando sororreatividade somente para a *Chlamydia trachomatis*, com uma prevalência de 26,5% (9/34). Nenhuma amostra foi positiva apenas para *Chlamydia pneumoniae*, ou seja, todas as amostras reativas para *Chlamydia pneumoniae* também foram reativas para algum sorotipo da *Chlamydia trachomatis*. Anticorpos para *Chlamydia pneumoniae* foram presentes em 73,5% (25/34) das amostras. (Tabela 7).

Tabela 7 – Prevalência de anticorpos IgG (MIF) para *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae* em portadores de HIV-1 entre 2007 e 2008.

Espécie	N	Positivos	%	Negativos	%
<i>Chlamydia trachomatis</i>	34	34	100	0	0
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	34	25	73,5	9	26,5

Em relação à distribuição dos sorotipos da *Chlamydia trachomatis*, todas as amostras apresentaram sororreatividade para múltiplos sorotipos. O sorotipo L₁ foi o mais freqüente com 88,2% (30/34) de prevalência, seguido do sorotipo E com 82,3% (28/34). O sorotipo menos freqüente foi o Ba com 41,2% (14/34) (Figura 6).

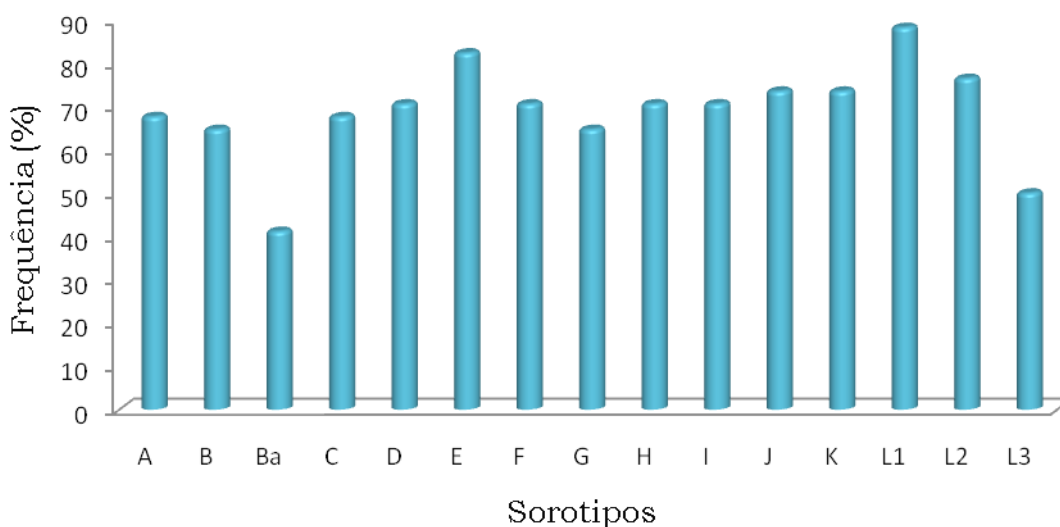


Figura 6 – Prevalência de anticorpos IgG para os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.

Levando em consideração as patologias associadas aos grupos de sorotipos da *Chlamydia trachomatis*, a prevalência média de anticorpos para os sorotipos causadores do tracoma (A, B, Ba e C) foi 60,3%. Já para os sorotipos causadores de infecções sexualmente transmissíveis e conjuntivites neonatais (D, E, F, G, H, I, J, K) a prevalência média foi de 72 %, e para os sorotipos causadores do LGV (L₁, L₂ e L₃) foi de 71,6%.

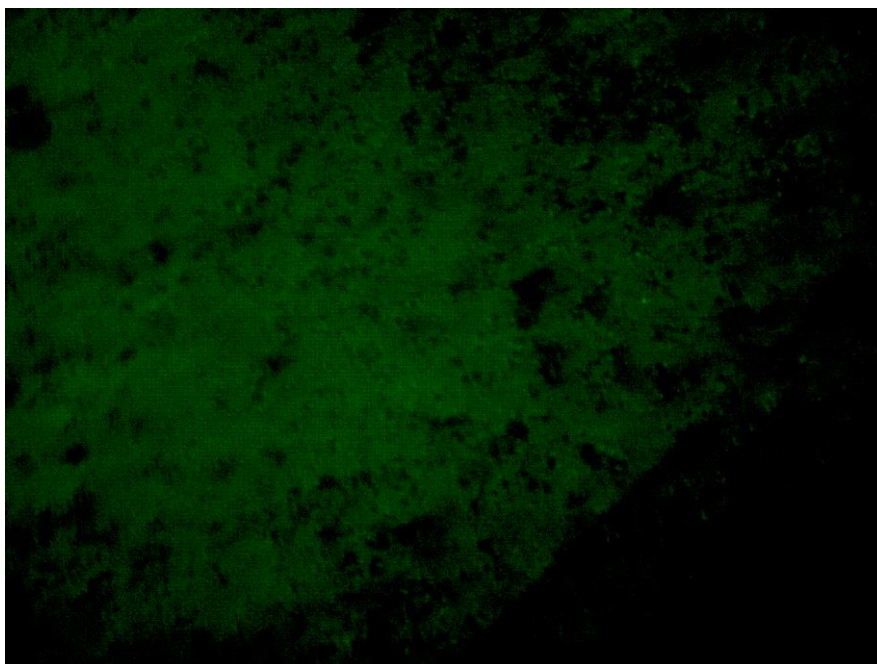


Figura 7 – Amostra soronegativa para *Chlamydia trachomatis* sorotipo B por MIF (1000x)

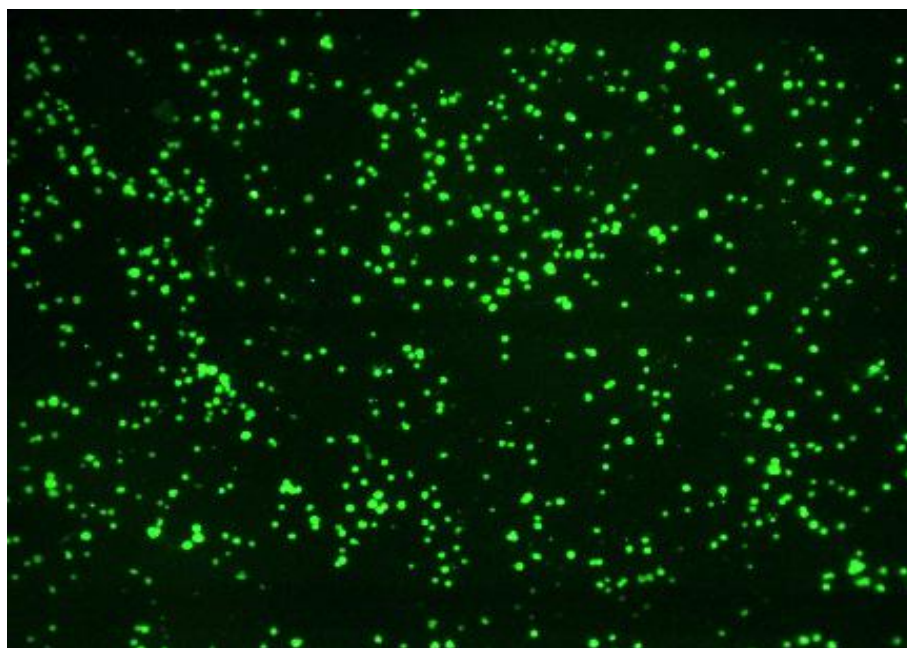


Figura 8 – Amostra soropositiva para *Chlamydia trachomatis* sorotipo J por MIF (1000x).

O procedimento de realização da MIF para detecção de anticorpos IgM ocorreu em todas as 17 amostras positivas. Destas, todas apresentaram reatividade para algum sorotipo de *Chlamydia trachomatis* (100%). Reatividade somente para *Chlamydia trachomatis* ocorreu em 5 amostras (29,4%). Nenhuma amostra foi positiva apenas para *Chlamydia pneumoniae*, ou seja, todas as amostras reativas para *Chlamydia pneumoniae* também foram reativas para algum sorotipo da *Chlamydia trachomatis*. Anticorpos para *Chlamydia pneumoniae* foram presentes em 70,5% (12/17) das amostras (Tabela 8).

Tabela 8 – Prevalência de anticorpos da classe IgM *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae* entre 2007 e 2008.

Espécie	N	Positivos	%	Negativos	%
<i>Chlamydia trachomatis</i>	17	17	100	0	0
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	17	12	70,5	5	29,4

A prevalência de anticorpos IgM para os sorotipos da *Chlamydia trachomatis* está representada na figura 9. O sorotipo G foi o mais freqüente com 59% (10/17) de prevalência e o sorotipo Ba foi o menos freqüente com 23,5% (4/17) de prevalência. Levando em consideração a média de prevalência dos sorotipos agrupados por manifestação clínica associada, o grupo associado ao tracoma (A, B, Ba e C) teve uma média de 39,7%, o grupo associado à infecções sexualmente transmissíveis e conjuntivites neonatais (D, E, F, G, H, I, J, K) apresentou 41,9 % e os sorotipos causadores do LGV foi 37,2%.

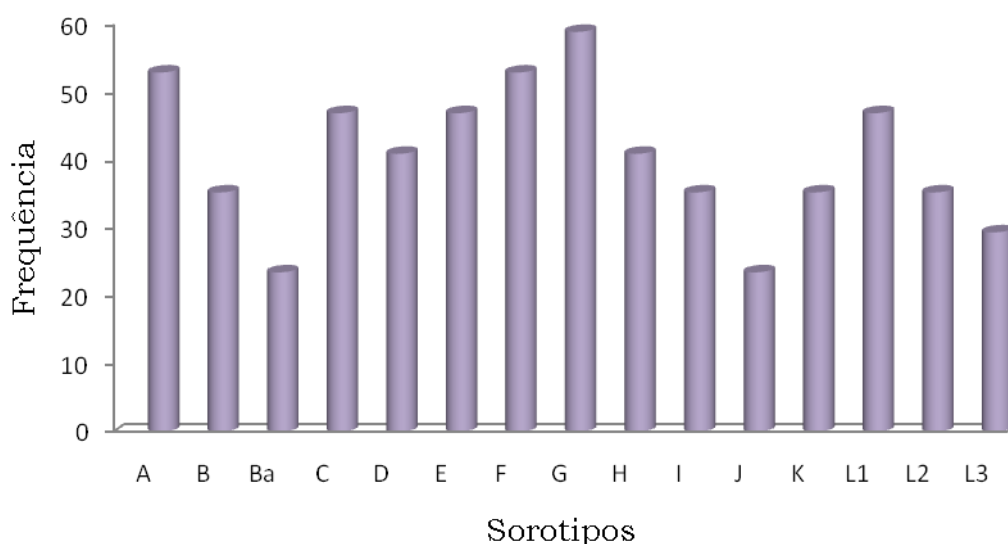


Figura 9 - Prevalência de anticorpos IgM para os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* e para em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.

3.2.3 Soroprevalência do *Treponema pallidum*

Foram testadas tanto pelo RPR como pelo ELISA um total de 430 amostras de portadores de HIV-1 do estado do Pará. Foi observado que 65,1% (280/430) das amostras eram soronegativas para ambos os testes, indicando que este grupo não apresentou anticorpos anti-cardiolipina e anti – treponêmicos, respectivamente. Não houve caso de amostra reagente no RPR e negativa no ELISA, fato que caracterizaria a situação de falso positivo biológico. Resultado de ELISA positivo e RPR não reagente foram observados em 27,2% (117/430) das amostras testadas. Resultados de RPR e ELISA positivos foram encontrados em 7,7% (33/430) dos pacientes. As diluições das amostras com resultado reagente no teste qualitativo (RPR) variaram de 1:2 até 1:128. Este grupo se caracteriza como os que estão com resultado laboratorial indicativo de sífilis (Tabela 9).

No presente estudo, foram consideradas soropositivas as amostras com reatividade em ambos os testes sorológicos e as com reatividade somente no ELISA. Desta forma, a prevalência total de anticorpos para o *Treponema pallidum* foi de 34,88% (150/430).

Tabela 9 – Resultados dos testes laboratoriais de triagem e confirmação para Sífilis (RPR e ELISA).

RPR	ELISA	N	%
Não Reagente	Negativo	280	65,1
Reagente	Negativo	0	0
Não Reagente	Positivo	117	27,2
Reagente	Positivo	33	7,7

3.2.4 Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do Estado do Pará que apresentaram soropositividade para *Treponema pallidum*.

Pela avaliação dos questionários foi observado que 75,33% (113/150) pertenciam ao gênero masculino e 24,67% (37/150) pertenciam ao gênero feminino. A faixa etária variou de 19 a 82 anos, média de 42,9 anos e 42% (63/150) se enquadraram na faixa de 37 a 47 anos. Quanto ao estado civil, 4% (6/150) dos participantes não responderam e 66,7% (96/144) se declararam solteiros (Tabela 10).

A escolaridade variou de não alfabetizado até 3º grau completo, onde houve 0,66% (1/150) de informação não respondida e 34,2% (51/149) referiram ter o 1º grau incompleto. Em relação à renda familiar, 8% (12/150) deixaram de responder. A faixa de 1 a 3 salários mínimos foi a mais relatada pelos indivíduos com 65,9% (91/138). A naturalidade não foi respondida por 4,6% (7/150) dos indivíduos e a maioria (81,1%) relatou ser paraense.

Tabela 10 - Perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV-1 do Estado do Pará que apresentaram soropositividade para *Treponema pallidum* entre 2007 e 2008.

Perfil sócio-demográfico		N	Percentual (%)
Faixa etária	15 a 25	4	2,6
	26 a 36	36	24
	37 a 47	63	42
	48 a 58	37	24,7
	> 59	10	6,7
	Sem informação*	0	0
Estado civil	Casado	26	18,05
	Solteiro	96	66,7
	Separado/Divorciado	13	9,03
	Viúvo	9	6,2
	Sem informação*	6	4
Escolaridade	Não alfabetizado	4	2,7
	Alfabetizado	6	4
	1º grau incompleto	51	34,2
	1º grau completo	20	13,4
	2º grau incompleto	14	9,4
	2º grau completo	34	22,8
	3º grau incompleto	8	5,4
	3º grau completo	12	8,1
	Sem informação*	1	0,66
Renda familiar	<1 salário mínimo	21	15,2
	1-3 salários mínimos	91	66
	4-6 salários mínimos	16	11,6
	>7 salários mínimos	10	7,2
	Sem informação*	12	8
Naturalidade	Estado do Pará	116	81,1
	Outros estados **	27	18,9
	Sem informação*	7	4,6

* Não considerado para cálculo estatístico,

** Residentes no estado do Pará

3.2.5 Caracterização dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para *Treponema pallidum*

A descrição dos fatores de risco relatados pelo grupo soropositivo para Sífilis é demonstrada de forma detalhada na Tabela 11. Quanto à preferência sexual, 0,66% (1/150) não responderam a informação. Foi observado que 31,5% (47/149) dos indivíduos se declararam homossexuais, enquanto 49% (73/149) se declararam heterossexuais e 19,5% (29/149) se declararam bissexuais.

Quanto ao uso de drogas, 3,33% (5/150) relataram o uso de drogas endovenosas, e 48,67% (73/150) relataram o uso de drogas não-endovenosas. A transfusão de sangue foi relatada por 15,33% (23/150) dos participantes. Em relação ao comportamento sexual, 70,9% (105/148) afirmaram ter relações com parceiros heterossexuais, 31 % (46/148) afirmaram ter relações com portador de HIV e 25,7% (38/148) referiram contato sexual com parceiros usuários de droga não-endovenosa.

O número de parceiros por semana não foi respondido por 37,3% (56/150) dos indivíduos, enquanto 71,3% (67/94) afirmaram possuir parceiro único. A prática de sexo anal não foi respondida por 13,33% (20/150) dos indivíduos e 63,9% (83/130) relataram praticar às vezes ou sempre.

Em relação ao uso de preservativo, 7,33% (11/150) deixaram a opção sem resposta e 50,4% (70/139) relataram o uso constante do mesmo. Quanto à história prévia de IST, 58% (87/150) afirmaram apresentado sinal característico alguma vez. As IST mais citadas foram gonorréia com 50,5% (44/87), sífilis com 40,22% (35/87).

Tabela 11 – Descrição dos fatores de risco dos portadores de HIV-1 no Estado do Pará que apresentaram soropositividade para *Treponema pallidum* entre 2007 e 2008

Fatores de risco		N	Percentual (%)
Uso de Drogas	UDE	5	3,33
	UDNE	73	48,67
Transfusão de Sangue	Sim	23	15,33
	Não	127	84,67
Comportamento Sexual	Parceiro Heterossexual	105	70,9
	Parceiro Bissexual	37	25
	Parceiro homossexual	30	20,3
	Parceiro UDE	29	19,6
	Parceiro UDNE	38	25,7
	Múltiplos parceiros	33	22,3
	Parceiro portador de HIV	46	31
Parceiros por semana	Sem informação*	2	1,33
	Nenhum	11	11,7
	1	67	71,3
	2 – 19	14	14,9
	20 ou mais	2	2,1
Sexo Anal	Sem informação*	56	37,3
	Nunca	47	36,1
	Às vezes	41	31,6
	Sempre	42	32,3
Uso de Preservativo	Sem informação*	20	13,33
	Não	30	21,6
	Às vezes	39	28
	Sim	70	50,4
Histórico de IST	Sem informação*	11	7,33
	Não	63	42
	Sim	87	58

* Não considerado para cálculos estatístico

3.3 ANÁLISE ESTATÍSTICA

3.3.1 Variáveis associadas à soropositividade para *Chlamydia*

A análise estatística teve como objetivo verificar uma associação entre a soropositividade para *Chlamydia* e alguma das variáveis listadas no questionário epidemiológico padrão. Quanto ao gênero, foi observado que 56,9% eram homens e 43,1% mulheres. Na população total a distribuição foi de 61% de homens para 49% de mulheres. Ao realizar o teste binomial para se verificar associação entre a positividade e o gênero, foi encontrado um valor de $p= 0,007$, indicando que a prevalência de anticorpos para *Chlamydia* é maior em homens (Figura 10).

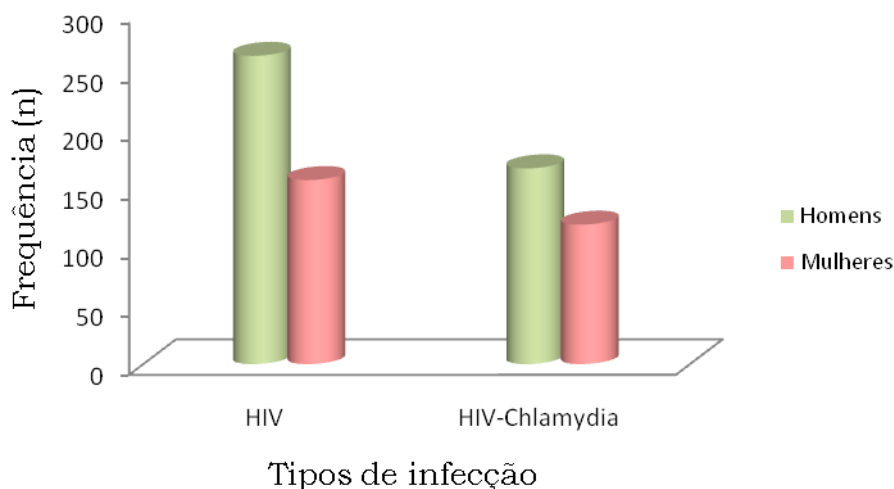


Figura 10 - Comparação entre população total e soropositiva para *Chlamydia* de acordo com o gênero.

Dentre os 276 participantes soropositivos, foi observado que 53 (19,2%) se encontravam entre 48 e 58 anos. Dos 154 soronegativos, apenas 17 (6,15%) se encontravam dentro da mesma faixa etária. O resultado do qui-quadrado mostrou uma diferença estatisticamente significativa com valor de p igual a 0,03, de maneira que pode-se inferir que a faixa de 48 a 58 anos apresentou uma taxa de positividade significativa (Tabela 12).

Tabela 12 – Associação entre o perfil sócio – demográfico e a infecção por *Chlamydia* em portadores de HIV do Estado do Pará entre 2007 e 2008.

Variáveis sócio-demográficas		Positivos	Negativos	p
Faixa etária	15 a 25 anos	20	14	0,621
	26 a 36 anos	103	57	0,967
	37 a 47 anos	87	62	0,085
	48 a 58 anos	53	17	0,039
	> 59 anos	13	4	0,412
Escolaridade	Analfabeto	9	1	0,147
	Alfabetizado	9	4	0,963
	1º grau incompleto	75	42	0,945
	1º grau completo	42	24	0,941
	2º grau incompleto	35	21	0,814
	2º grau completo	81	42	0,856
	3º grau incompleto	12	7	0,555
	3º grau completo	13	9	0,729
	Sem informação*	0	4	-
Renda Familiar	<1 salário mínimo	41	18	0,541
	1-3 salários mínimos	178	94	0,947
	4-6 salários mínimos	26	17	0,521
	>7 salários mínimos	13	9	0,701
	Sem informação*	18	16	-

* Não considerado para cálculos estatístico

A análise dos fatores de risco demonstrou resultados estatisticamente significantes em relação ao número de parceiros por semana e a prática de sexo anal (Tabela 13). Foi observado que dentre os 25 participantes que afirmaram ter de dois a dezenove parceiros, 20 apresentavam soropositividade para *Chlamydia*. Esta proporção quando comparada com o grupo de negativos mostrou um resultado estatisticamente significativo com $p= 0,048$. Dentre os 181 indivíduos que relataram a prática de sexo anal (às vezes e sempre), cerca de 70% (128/181) apresentavam resultado positivo para *Chlamydia*. Ao comparar a proporção com o grupo de negativos foi encontrado um resultado estatisticamente significativo com $p= 0,027$. Portanto, fatores como possuir de 2 a 19 parceiros e a prática de sexo anal podem representar um risco para aquisição de infecção por *Chlamydia*.

Tabela 13 – Associação entre os fatores de risco e a infecção por *Chlamydia* em portadores de HIV do Estado do Pará entre 2007 e 2008.

Fatores de risco		Positivos	Negativos	<i>p</i>
UDE	Sim	8	3	0,779
	Não	268	151	
	Sem informação*	0	0	
UDNE	Sim	109	65	0,652
	Não	167	89	
	Sem informação*	0	0	
Transfusão de sangue	Sim	51	20	0,181
	Não	225	134	
	Sem informação*	0	0	
Número de parceiros por semana	1 parceiro	120	94	0,054
	2-19 parceiros	20	5	0,048
	Sem Informação*	107	39	0,901
Sexo anal	Sim	128	53	0,027
	Não	107	74	
	Sem informação*	41	27	
Uso de preservativo	Sim	121	65	0,987
	Não	137	75	
	Sem informação*	18	14	
Histórico de IST	Sim	117	60	0,554
	Não	159	94	
	Sem informação*	0	0	

* Não considerado para cálculo estatístico,

A análise do comportamento sexual dos participantes não demonstrou resultados estatisticamente significantes embora tenha sido observada uma maior frequência de fatores de risco entre os soropositivos do que os negativos (Tabela 14).

Tabela 14 – Associação entre os fatores de risco e a infecção por *Chlamydia* em portadores de HIV do Estado do Pará entre 2007 e 2008.

Comportamento sexual		Positivos	Negativos	<i>p</i>
Parceiro heterossexual	Sim	218	126	0,436
	Não	57	26	
	Sem informação*	1	2	
Parceiro bissexual e homossexual	Sim	84	39	0,338
	Não	191	113	
	Sem informação*	1	2	
Parceiro UDE	Sim	41	18	0,463
	Não	234	134	
	Sem informação*	1	2	
Parceiro UDNE	Sim	55	24	0,345
	Não	220	128	
	Sem informação*	1	2	
Parceiro HIV+	Sim	98	47	0,379
	Não	177	105	
	Sem informação*	1	2	
Heterossexual	Sim	181	110	0,182
	Não	95	42	
	Sem informação*	0	2	
Homossexual	Sim	62	25	0,175
	Não	214	127	
	Sem informação*	0	2	
Bissexual	Sim	33	17	0,935
	Não	243	135	
	Sem informação*	0	2	

* Não considerado para cálculos estatístico

3.3.2 Variáveis associadas à soropositividade para *Treponema pallidum*

Foi observado que dos 150 indivíduos que apresentaram soropositividade para o *Treponema pallidum*, 75,33% (113/150) pertenciam ao gênero masculino e 24,67% (37/150) pertenciam ao gênero feminino. A população total de portadores de HIV foi constituída 61% (263/430) de homens e 49% (167/430) de mulheres. Ao verificar se houve diferença entre as proporções de homens e mulheres (Teste Binomial), foi encontrado um resultado estatisticamente significativo com $p < 0,0001$. O resultado indica que existe uma prevalência maior de soropositividade para o *Treponema pallidum* em indivíduos do gênero masculino (Figura 11).

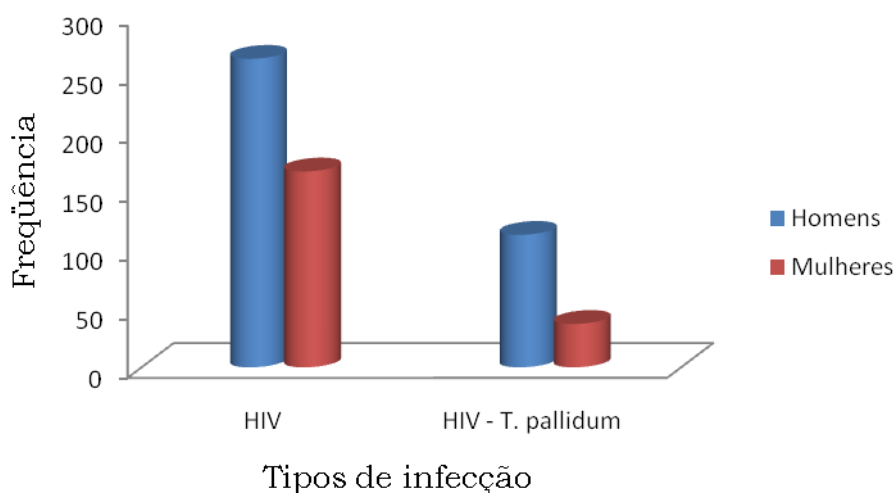


Figura 11 – Comparação entre população total e soropositiva para *Treponema pallidum* de acordo com o gênero.

Foi encontrada associação estatisticamente significante entre faixas etárias distintas com interpretações distintas. Dentro das faixas de 15 a 25, e 26 à 36 anos foi observado uma proporção menor e estatisticamente significante de indivíduos soropositivos. De forma que as faixas etárias referidas não se constituíram como fator de risco para a infecção por *Treponema pallidum* no presente estudo.

Nas faixas de 37 à 47 e 48 à 58 anos foi encontrada uma proporção maior de indivíduos soropositivos do que soronegativos e esta diferença revelou um $p= 0,025$ e $p= 0,0009$ respectivamente. Portanto, pode-se sugerir que as faixas referidas se constituíram como fator de risco no presente estudo. Ao se associar a soropositividade com a variável escolaridade, observou-se que havia um número alto de soropositivos com 1º grau incompleto e quando comparados com os soronegativos mostrou um resultado estatisticamente significante ($p= 0,029$) (Tabela 15).

A tabela 16 mostra de forma detalhada a comparação dos fatores de risco entre os positivos e negativos para *Treponema pallidum*. É possível observar um número significante de soropositivos dentro de grupos de usuários de droga não-endovenosa ($p=0,015$), indivíduos que possuem de dois a dezenove parceiros por semana ($p=0,019$), que praticam de sexo anal ($p=0,0001$) e que relataram histórico de IST ($p<0,0001$). Todas estas variáveis a se comportaram como fatores de risco para infecção por *Treponema pallidum*.

Tabela 15 – Associação entre o perfil sócio-demográfico e a soropositividade para *Treponema pallidum* em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.

Variáveis sócio-demográficas		Positivos	Negativos	P
Faixa etária	15 a 25 anos	4	30	0,005
	26 a 36 anos	36	124	<0,0001
	37 a 47 anos	63	86	0,025
	48 a 58 anos	37	33	0,0009
	> 59 anos	10	7	0,063
Escolaridade	Não alfabetizado	4	6	0,998
	Alfabetizado	6	7	0,578
	1º grau incompleto	51	66	0,029
	1º grau completo	20	46	0,468
	2º grau incompleto	14	42	0,126
	2º grau completo	34	89	0,056
	3º grau incompleto	8	11	0,674
	3º grau completo	12	10	0,08
	Sem informação*	1	3	-
Renda Familiar	<1 salário mínimo	21	38	0,985
	1-3 salários mínimos	91	181	0,454
	4-6 salários mínimos	16	27	0,861
	>7 salários mínimos	10	12	0,398
	Sem informação*	12	22	-

* Não considerado para cálculos estatístico

Tabela 16 – Associação entre os fatores de risco e a soropositividade para *Treponema pallidum* em portadores de HIV do estado do Pará entre 2007 e 2008.

Fatores de risco		Positivos	Negativos	p
UDE	Sim	5	6	0,674
	Não	145	274	
	Sem informação*	0	0	
UDNE	Sim	73	101	0,015
	Não	77	179	
	Sem informação*	0	0	
Transfusão de sangue	Sim	23	48	0,729
	Não	127	232	
	Sem informação*	0	0	
Número de parceiros por semana	1 parceiro	67	147	0,369
	2-19 parceiros	14	11	0,019
	Sem Informação*	56	89	-
Sexo anal	Sim	83	98	0,0001
	Não	47	134	
	Sem informação*	20	48	
Uso de preservativo	Sim	70	116	0,338
	Não	69	143	
	Sem informação*	11	21	
Histórico de IST	Sim	87	90	<0,0001
	Não	63	190	
	Sem informação*	0	0	

* Não considerado para cálculos estatístico

Analisando o comportamento sexual, observou-se uma frequência estatisticamente significativa de soropositividade em indivíduos que tinham parceiros bissexuais e homossexuais ($p=0,0004$), parceiros usuários de droga endovenosa ($p=0,014$) e não-endovenosa ($p=0,008$). Além disso, foi encontrada associação estatisticamente significativa em relação ao comportamento homossexual e bissexual do próprio indivíduo ($p < 0,0001$). Portanto pode-se inferir que estes comportamentos se apresentaram como fatores de risco para infecção por *Treponema pallidum* no presente estudo (Tabela 17).

Tabela 17 – Associação entre o comportamento sexual e a soropositividade para *Treponema pallidum* em portadores de HIV do Estado do Pará entre 2007 e 2008

Comportamento sexual		Positivos	Negativos	<i>p</i>
Parceiro bissexual ou homossexual	Sim	43	40	0,0004
	Não	105	239	
	Sem informação*	2	1	
Parceiro UDE	Sim	29	30	0,014
	Não	119	249	
	Sem informação*	2	1	
Parceiro UDNE	Sim	38	41	0,008
	Não	110	238	
	Sem informação*	2	1	
Parceiro HIV+	Sim	46	99	0,419
	Não	102	180	
	Sem informação*	2	1	
Homossexual ou bissexual	Sim	76	61	<0,0001
	Não	73	218	
	Sem informação*	1	1	

* Não considerado para cálculos estatístico

4 DISCUSSÃO

O presente estudo objetivou o esclarecimento da ocorrência de marcadores sorológicos para as infecções por *Chlamydia* e *Treponema pallidum*, uma vez que estes dados são escassos na região norte do país.

A população de portadores de HIV-1 examinada neste estudo foi constituída de indivíduos, na maioria, adultos maduros, solteiros, de escolaridade média (2º grau completo), baixa renda (1 a 3 salários mínimos) e na maioria oriundos da cidade de Belém (70%).

Dos 430 participantes, 263 (61%) eram homens e 167(39%) mulheres, correspondendo a uma razão de 1,5: 1, respectivamente. Estes dados se mostram diferentes dos encontrados no Estado de Pernambuco, onde a razão entre homens e mulheres foi de 3,7: 1 (Rodrigues e Abath, 2000). Na cidade de Santos em São Paulo um estudo com 50 pacientes portadores de HIV encontrou uma razão de 1,9: 1 (Fragoso *et al.*, 1998). No Rio de Janeiro a razão foi de 1,7:1 (Eyer-Silva *et al.*,2007). No Estado do Piauí, um estudo com 828 indivíduos descreveu a razão 2,48: 1(Soares *et al.*, 2008). No Estado do Paraná, Reiche *et al.*, em 2005 descreveram uma razão de 1,7:1 no grupo estudado.

Segundo o Ministério da Saúde, dos 2.811 casos notificados em 2008, a razão entre homens e mulheres foi 1,8: 1 (Boletim Epidemiológico, 2008). Nos EUA, dos 62.573 casos notificados em 2007, 77% (48.181) dos indivíduos eram do sexo masculino correspondendo a uma razão de 3,3:1(CDC, 2007). Estes dados mostram que os portadores de HIV-1 do Pará estão acompanhando a diminuição da razão entre os gêneros e apresentam uma distribuição da infecção mais homogênea entre homens e mulheres do que em outras regiões. No início da epidemia da AIDS no Brasil (1985)

havia 26,5 casos da doença em homens para cada mulher. Em 1990 a razão estava em 5,4:1. De 1998 até hoje a razão se manteve estável (Boletim epidemiológico, 2008). Estes números são resultado de um crescimento substancial de casos nas mulheres devido ao aumento da transmissão heterossexual.

A média de idade dos indivíduos deste estudo foi 38,7 anos, dado que se mantém semelhante em diversos estudos como no Piauí, onde a média de idade foi 35,4 anos (Soares *et al.*, 2008); em Santos, onde Fragoso *et al.*,(1998) encontraram uma média de 35 anos; São Paulo, com média de 39 anos (Mendes-Corrêa *et al.*, 2000); e no Rio de Janeiro, com média de 34,6 anos (Eyer-Silva *et al.*, 2007).

A faixa etária predominante nos portadores de HIV-1 do Pará foi 26 e 47 anos (71,9%). Estes números se comparam de maneira semelhante aos números notificados pelo SINAN (Sistema de Informação de Agravos e Notificação) no ano de 2007, onde 77% dos portadores de HIV no Brasil se concentraram entre 25 a 49 anos (Boletim Epidemiológico, 2008).

A escolaridade predominante dos participantes foi 2º grau completo (28,9%). A população de portadores de HIV-1 do Pará apresentou um discreto aumento no nível de escolaridade, esta informação é discordante de alguns estudos que mostram um aumento na proporção de casos de HIV-1 em indivíduos de baixa escolaridade. Um estudo realizado no interior do Rio de Janeiro mostrou que 59,1% dos portadores de HIV não completaram o 1º grau (Eyer-Silva *et al.*,2007). No Paraná 62,4% dos portadores de HIV possuíam apenas até 1º grau (Reiche *et al.*, 2005). Em Ribeirão Preto, Souza *et al.*, (2004) descreveram que 65,1% dos indivíduos tinham concluído o 1º grau. Em contrapartida a escolaridade predominante neste estudo (2º grau completo)

está de acordo com o nível de escolaridade dos portadores de HIV notificados em 2007 (29%) e 2008 (31%), no Brasil (Boletim Epidemiológico, 2008).

Quanto ao comportamento sexual, a maioria (68%) dos participantes se declarou heterossexual, seguidos dos homossexuais (20,3%) e depois bissexuais (11,7%). Estes dados se mostram correspondentes aos dos portadores de HIV do Brasil no ano de 2007 onde a distribuição foi de 44,5% de heterossexuais, 18,8% de homossexuais e 9% de bissexuais (Boletim Epidemiológico, 2008). Ao contrário do que ocorre no Brasil e no estudo presente, no Reino Unido 50% dos portadores de HIV são homossexuais (Parrat & Pay, 2003). Nos EUA, das 39.400 pessoas diagnosticadas com a infecção 53% eram homossexuais (Hall *et al.*, 2008).

A prevalência geral de anticorpos para o gênero *Chlamydia* foi de 64,2%. Esta prevalência foi maior do que a encontrada na Grécia (27%) em homossexuais em diferentes estágios da infecção pelo HIV (Sarov *et al.*, 1994), no Japão onde foi descrita uma prevalência de 50% (Umenai, 1996), nos EUA em doadores de sangue (47,7%) (Cirino *et al.*, 2006), e foi menor do que um estudo realizado em Johannesburgo (África do Sul) em mulheres portadoras de HIV grávidas que apresentaram 95% de prevalência (Klugman, *et al.*, 1991). O presente estudo teve uma prevalência semelhante a outro estudo feito na cidade de Belém/PA onde foi encontrada 50% de prevalência para o gênero *Chlamydia* em indivíduo com bronquite crônica (Costa, 2002). A prevalência encontrada em populações urbanas e não urbanas da Amazônia brasileira em 2001 foi menor do que neste estudo (48,5%), porém no mesmo estudo foi feita pesquisa de anticorpos dentro de um grupo infectado pelo HIV onde a prevalência foi de 96,4% (Ishak *et al.*, 2001).

O perfil dos indivíduos positivos para *Chlamydia* (IgG e ou IgM) foi a maioria de homens (56,9%) com média de idade de 39,4 anos, solteiros, com 2º grau completo e renda entre um e três salários. A presença de anticorpos se mostrou maior em homens (56,9%) do que em mulheres (43,1%) ($p= 0,007$). Isto pode ocorrer devido à uma diferença de comportamento dos homens e relação à mulheres caracterizado por um número maior de parceiros sexuais (Evans *et al.*, 1997; Miranda *et al.*, 2002). Foi encontrada uma associação da infecção com uma faixa etária mais avançada (48 a 58 anos) contrariando alguns estudos que apontam a população jovem a mais susceptível à essas infecções (Jolly *et al.*, 1995; Manavi, 2006; Rieg, *et al.*, 2007; Bébéar & Barbeyrac, 2009). Ao verificar os tipo de anticorpo predominante nesta faixa de indivíduos, verificou-se que 73,5% eram IgG positivo com IgM negativo. Portanto, pode-se justificar que os indivíduos com uma idade maior têm também um tempo maior de exposição durante a vida e o grupo carrega anticorpos de longa duração indicando um contato com a bactéria no passado.

Quando comparamos os fatores de risco do grupo positivo para *Chlamydia* com os negativos encontramos uma frequência de comportamento de risco maior nos positivos (UDNE, números de parceiros, prática de sexo anal, não uso de preservativos e história prévia de IST). Na análise univariada foi encontrada uma associação entre a infecção e a prática de sexo anal ($p= 0,027$), e também com relações com dois e dezenove parceiros ($p= 0,048$). Estes resultados são de extrema relevância, pois mostra que a promiscuidade é um indicador de risco para infecção *Chlamydia*, em concordância com dados da literatura: na Austrália, em 2009, o contato sexual com mais de um parceiro se apresentou como fator de risco para a infecção por *Chlamydia* em mulheres grávidas (Chen *et al.*, 2009). No Reino Unido, em 2009, foi encontrada a

mesma associação em uma população de homens e mulheres com infecções recorrentes (Evans *et al.*, 2009). Outro estudo encontrou uma associação significativa entre a prática de sexo anal, e ter vários parceiros com a infecção por *Chlamydia trachomatis* em homens heterossexuais na cidade de Londres (Evans *et al.*, 1997). No Brasil, Estado do Espírito Santo, a variável mais de um parceiro no último ano teve associação com a infecção em mulheres atendidas na unidade básica de saúde (Miranda *et al.*, 2008).

A MIF foi utilizada com o objetivo de se conhecer a prevalência de anticorpos IgG e IgM para as espécies *Chlamydia trachomatis* e *Chlamydia pneumoniae*. Das amostras selecionadas, todas reagiram para pelo menos dois sorotipos de *Chlamydia trachomatis* mostrando uma prevalência de 100% da amostragem. Myashita e colaboradores no Japão em 2000, encontraram 26% de portadores de HIV que apresentaram anticorpos IgG para *Chlamydia trachomatis*; na Turquia houve 52,2% de prevalência de anticorpos IgG em mulheres acima de 15 anos (Maral, 2009). Um estudo realizado na Índia avaliou a presença de anticorpos IgG em mulheres apresentando DIP e infertilidade e encontrou 82,7% de prevalência (Vidhani *et al.*, 2005). Estas altas prevalências podem se justificar pela larga disseminação que a espécie possui dentro de casos de IST (Ishak *et al.*, 1993; Kouri, *et al.*, 2002; Joyee *et al.*, 2005). Comparando os dados deste estudo com os de outras populações pode-se perceber que o grupo de portadores de HIV do Pará está entre os mais afetados por estas infecções inclusive pelo comportamento promíscuo do grupo que facilita a disseminação de outros agentes além do HIV.

Em relação à prevalência de anticorpos para os sorotipos A, B, Ba e C (IgG e IgM), foi observado que os sorotipos A e C foram os mais frequentes. Outros dois trabalhos na cidade de Belém já apresentaram resultados semelhantes, porém em

populações diferentes (Ishak *et al.*, 2001; Costa *et al.*, 2002). Este achado se torna importante na medida em que o sorotipo A possuía uma distribuição restrita ao Oriente Médio e África (Grayston & Wang, 1975). Além disso, o presente estudo confirma a endemicidade dos sorotipos em certas regiões da América do Sul como o Brasil (Polak, 2005).

A prevalência média de anticorpos (tanto IgG quanto IgM) para os sorotipos genitais da *Chlamydia trachomatis* foi maior do que para os sorotipos associados ao tracoma. Podemos perceber, desta maneira, que a disseminação da *Chlamydia trachomatis* dentro do grupo estudado está ocorrendo principalmente através de práticas sexuais de risco. Isto pode ser percebido através da alta taxa de prevalência da espécie, os sorotipos mais encontrados (L1, E, D, J e K) e também pela associação estatisticamente significativa com alguns fatores de risco pesquisados no trabalho como: relações com dois a dezenove parceiros e a prática de sexo anal.

A prevalência de anticorpos IgG e IgM para *Chlamydia pneumoniae* neste estudo foi de 73,5% (25/34) e 70,5% (12/17) respectivamente. Estes dados são elevados quando comparados com a população em geral, como na Holanda onde Ossewaarde e colaboradores encontraram 56% de prevalência; em Taiwan com 55,8% em mulheres e homens com idade acima de 20 anos (Lin, *et al.*, 2004); no México com 66,3% em indivíduos com doença coronariana (Meza-Junco, 2004). No Brasil, em Porto Alegre, pacientes com problemas respiratórios apresentaram 68,3% de prevalência (Chedid, 2007); em Belém, Costa e colaboradores descreveram 25% em indivíduos com Doença Pulmonar Obstrutiva Crônica. Ainda em Belém, Ishak *et al.* (2001) apresentaram 29,8% de prevalência e grupos urbanos, não urbanos e indígenas, e 75% em portadores de HIV.

Estudos recentes sobre a prevalência de anticorpos para *Chlamydia pneumoniae* em portadores de HIV são escassos. Alguns trabalhos na Itália possuem resultados que mostram a importância desta infecção, como Blasi *et al.* (1993) que encontraram 60% de prevalência em imunodeprimidos contra 33% em imunocompetentes. Em 1994 o mesmo grupo mostrou que 61,5% dos portadores de HIV com soropositividade para *Chlamydia pneumoniae* desenvolveram pneumonia (Blasi *et al.*, 1994).

O presente estudo apresenta relevância por mostrar que tanto a *Chlamydia trachomatis* como a *Chlamydia pneumoniae* estão distribuídas de forma ampla nos portadores de HIV-1 do Pará, podendo comprometer a qualidade de vida do grupo devido ao grande impacto causado no sistema reprodutivo de homens e mulheres, na progressão mais rápida para quadros graves como pneumonias, tracoma, uretrites, DIP e LGV.

Em relação à prevalência de *Treponema pallidum*, é importante esclarecer as diferentes interpretações de diagnósticos que podemos obter a partir da associação de testes não-treponêmicos e treponêmicos (Wicher *et al.*, 1999; Nadal & Framil, 2007). O RPR se torna reagente a partir da 5ª semana após a infecção, podendo estar negativo na presença do cancro duro de curta duração. Apresenta alta sensibilidade na sífilis secundária (100%) e que nas formas tardias se reduz a 70%. Ao contrário dos anticorpos anti-cardiolipina que são transitórios, os anticorpos treponêmicos são de longa duração permanecendo na corrente sanguínea mesmo após o tratamento (Singh & Romanowski, 1999). Portanto, a soroprevalência do *Treponema pallidum* não deve ser avaliada somente pela detecção de um dos tipos de anticorpo (Rotta, 2005).

Neste estudo não houve casos de resultados reagentes no RPR e negativos no ELISA, fato que caracterizaria um falso positivo biológico. Esta situação costuma gerar confusão para o diagnóstico, uma vez que pode ser encontrada em inúmeras apresentações clínicas e patológicas como gravidez, colagenoses, hanseníase, pessoas sadias com fator reumatóide, malária, mononucleose, hepatites, lúpus, sarampo, catapora, tripanossomíase entre outros (Rotta, 2005).

Resultado de RPR reagente e ELISA positivo foram encontrados em 7,3% dos participantes, indicando que estes podem estar com sífilis (ativa ou latente). Estes resultados se mostram superiores ao do Rio de Janeiro com 2,7% de sífilis em portadores de HIV (Signorini *et al.*, 2007). Em Belém, Vallinoto *et al.*, encontraram 4,4% de prevalência em pacientes que freqüentavam o Laboratório de Análises Clínicas da UFPA (LAC-UFPA), em 2003. Na Grécia o resultado mostrou-se semelhante ao encontrado no presente estudo (7,8%) (Kyriakis *et al.*, 2000) assim como em Pernambuco (8,8%) (Rodrigues & Abath, 2000). No Rio de Janeiro a prevalência foi de 26,7% (Brandão *et al.*, 2002) e de 15,5%, 21%, 40% e 62%, em Madagascar, Peru, Alemanha e nos EUA, respectivamente (Rasamindrakotroka, 1996; Lima *et al.*, 2008; Schofer *et al.*, 1996; Gourevitch *et al.*, 1996). Em Ribeirão Preto foi encontrada uma prevalência de 30% em portadores de HIV (Gir *et al.*, 1994). Na Espanha foram encontrados 13% de prevalência contrastando com 1,33% na Alemanha (Lynn & Lightman, 2004). Estas diferenças de prevalência em portadores de HIV podem ser decorrentes não só da origem de cada população como também, dos conhecimentos, atitudes e práticas de prevenção à outras IST que ele adquirem no decorrer do tratamento para o HIV.

A situação de RPR não reagente e ELISA reagente foi encontrada em 27,2% dos indivíduos. Estes participantes podem estar inseridos nas seguintes condições: início de infecção sem o RPR ter se tornado reagente; uma cicatriz sorológica em resposta a uma infecção passada que pode não ter sido tratada e com resolução espontânea ou pode ter sido uma infecção passada tratada (Ratnam, 2005).

A soroprevalência de *Treponema pallidum* neste estudo foi de 34,9%, que consiste em números muito maiores do que os descritos em outras populações como grávidas (8,3%) no Rio de Janeiro (Brandão *et al.*, 2002), pacientes do LAC – UFPA, em Belém (15,9%) (Vallinoto *et al.*, 2002); em portadores de HIV no Paraná (25,6%) (Reiche *et al.*, 2005). Isto mostra que grande parte dos portadores de HIV-1 do Pará entrou em contato com a bactéria (independente de terem desenvolvido a doença ou não), o que se torna preocupante, já que a sífilis pode ter uma evolução mais rápida e agressiva neste grupo, dificultando a resposta terapêutica (Lynn & Lightman, 2004; Koga *et al.*, 2006).

Com relação ao perfil sócio-demográfico dos portadores de HIV com soropositividade para *Treponema pallidum*, a grande maioria pertencia ao sexo masculino (75,3%), apresentaram uma média de 42,9 anos, solteiros, com baixa escolaridade (1º grau incompleto) e baixa renda (1 a 3 salários mínimos). Este perfil é semelhante ao do grupo positivo para *Chlamydia*, com exceção da escolaridade onde pudemos observar que os positivos para *Chlamydia* têm um nível de escolaridade maior (2º grau completo).

Quanto ao gênero, a frequência de positividade para *Treponema pallidum* foi muito maior em homens (75,3%) do que em mulheres (24,7%) ($p < 0,001$). Este resultado também foi obtido com a positividade para *Chlamydia* ($p = 0,007$) neste

estudo e em alguns outros locais como na Nigéria onde foi encontrado 68% homens infectados por HIV e *Treponema pallidum* (Nnoruka & Ezeoke, 2005), na Alemanha com 93% (Schofer *et al.*, 1996), na Argentina com 67,7% (Griemberg *et al.*, 2006); em Pernambuco com 75% de homens com sífilis-HIV (Rodrigues & Abath, 2000); no Rio de Janeiro com 81,1% (Signorini, *et al.*, 2007). A razão para a prevalência de *Treponema pallidum* ser muito maior em homens do que em mulheres pode ser maior promiscuidade (assim como ocorreu no caso das infecções por *Chlamydia*) relatada no grupo (Schofer *et al.*, 1996; Miranda *et al.*, 2004; Griemberg *et al.*, 2006).

As faixas etárias de 37 à 47 e 48 à 58 anos apresentaram uma proporção maior de positividade para *Treponema pallidum* quando comparada com as outras. A média de idade dos portadores de HIV-1 deste estudo (38,7 anos) foi mais alta do que em outros estudos, e a média dos positivos para *Treponema pallidum* foi mais alta ainda (42,9 anos), podendo ser a justificativa para a associação da infecção com as faixas maiores. Estes resultados contrariam alguns estudos onde a sífilis atinge na maioria pessoas jovens (Miranda *et al.*, 1999; Todd *et al.*, 2001; Brandão *et al.*, 2002; Nnoruka & Ezeoke, 2005; Seña *et al.*, 2008). Verificou-se que dentre os com 37 à 48 anos, 81% tinham apenas resultado de ELISA positivo (RPR negativo), portanto pode perceber que os indivíduos apresentam na maioria cicatriz sorológica de uma infecção ocorrida no passado.

A escolaridade dos portadores de HIV-1 e positivos para sífilis foi 1º grau incompleto ($p=0,029$), concordando com estudos onde a baixa escolaridade está associada a um maior risco de infecção (Todd *et al.*, 2001; Brandão *et al.*, 2002; Signorini, *et al.*, 2007; Pando *et al.*, 2006; Ruan *et al.*, 2008; Mejia *et al.*, 2009).

Como pode ser observado na Tabela 16, foi encontrada associação estatisticamente significativa entre a soropositividade para o *Treponema pallidum* e fatores como o uso de droga não-endovenosa, relação sexual com dois a dezenove parceiros por semana, a prática de sexo anal, e relato de IST prévia.

A associação entre sífilis e relatos de IST prévia tem sido freqüente em diversos trabalhos como no Estado do Espírito Santo (Brasil), Colômbia, França e Argentina (Miranda *et al.*, 2002; Mejia *et al.*, 2009; Janier *et al.*, 1999; Pando *et al.*, 2006), assim como a associação de IST com a prática sexual com muitos parceiros também vem sendo relatada (Todd *et al.*, 2001; Nnoruka & Ezeoke, 2005; Reiche *et al.*, 2005; Feng *et al.*, 2008; Mejia *et al.*, 2009). O mesmo ocorre com o sexo anal que se apresenta relacionado a um maior risco de infecções principalmente em homossexuais masculinos (Feng *et al.*, 2008; Clark *et al.*, 2008).

Além dos fatores de risco já mencionados, também foi possível observar uma associação estatisticamente significativa entre a positividade para *Treponema pallidum* e indivíduos que tinham parceiros bissexuais e homossexuais ($p=0,004$); e parceiros UDE e UDNE ($p= 0,014$ e $p= 0,008$, respectivamente), mostrando que o comportamento de risco está além das suas próprias práticas de risco o que é preocupante pois as práticas de sexo seguro devem aplicadas não só pelo indivíduo portador de HIV como também pelos seus parceiros.

A soropositividade para *Treponema pallidum* foi estatisticamente associada ao comportamento homossexual/bissexual, fato muito freqüentemente relatado na literatura devido ao fato de os homossexuais apresentarem comportamento de alto risco como a prática de sexo anal sem preservativo e relações com múltiplos

parceiros (Brandão *et al.*, 2002; Signorini *et al.*, 2005; Clark *et al.*, 2008; Seña *et al.*, 2008; Branger *et al.*, 2009).

Ao buscar o conhecimento sobre o perfil soroepidemiológico das infecções por *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia pneumoniae* e *Treponema pallidum*, o presente estudo encontrou prevalências altas em um grupo que, por já estar infectado com o HIV-1, deveria apresentar um perfil de indivíduos que adotam as medidas básicas de segurança no sentido de impedir a transmissão do vírus. Entretanto, a população aqui estudada apresentou diversos comportamentos de risco e uma alta disseminação das bactérias pesquisadas nos mostrando que estas infecções estão ocorrendo principalmente pela via sexual.

As infecções por *Chlamydia* e *Treponema pallidum* apresentam um grande impacto no hospedeiro já infectado pelo HIV, o que torna a relevância da infecção ainda maior (Panchaud, 2000). Por isso é importante o monitoramento constante destes indivíduos, pois o diagnóstico precoce reduz a chance de uma evolução rápida das doenças relacionadas. Tão importante como monitorar, é conscientizar a população de portadores de HIV no sentido de adotar práticas sexuais seguras para impedir não só a transmissão do vírus para pessoas susceptíveis, e evitar outras infecções que possam debilitá-los ainda mais.

5 CONCLUSÕES

- (i) Os portadores de HIV-1 do Estado do Pará apresentaram uma alta prevalência (64,2%) de anticorpos totais para o gênero *Chlamydia*;
- (ii) A prevalência de anticorpos IgG foi de 51,6% e a de anticorpos IgM foi 4%;
- (iii) Dentre as características sócio-demográficas analisadas, foi encontrada associação; significativa entre a infecção por *Chlamydia* e o gênero masculino, idade entre 48 a 58 anos;
- (iv) Foi encontrada associação significativa entre a infecção por *Chlamydia* e número de parceiros por semana e a prática de sexo anal;
- (v) A prevalência de anticorpos contra *Chlamydia trachomatis* foi de 100% tanto para IgG como para IgM;
- (vi) A prevalência de anticorpos contra *Chlamydia pneumoniae* foi de 73,5% de IgG e 70,5% de IgM;
- (vii) Os sorotipos de *Chlamydia trachomatis* mais prevalentes na população de portadores de HIV-1 do estado do Pará são os de transmissão sexual (L₁, E, G, F);
- (viii) A prevalência geral de anticorpos contra o *Treponema pallidum* foi de 34,9%, sendo que 7,3% apresentaram resultado laboratorial indicativo de sífilis;
- (ix) Foi encontrada associação significativa entre a infecção por *Treponema pallidum* e o gênero masculino, idade entre 37 à 58 anos e baixa escolaridade;
- (x) Foi encontrada associação significativa entre a infecção por *Treponema pallidum* e o homossexualismo/bissexualismo, o uso de droga não-endovenosa, o número de parceiros por semana, a prática de sexo anal e o histórico de IST.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AARESTRUP, F.M., VIEIRA, B.J. Oral manifestation of tertiary syphilis: case report. **Brazilian Dental Journal**, **10**:117-21, 1999.
- AGARWAL, A., CHANDER, Y. Chronic *Chlamydia pneumoniae* Infection And Bronchial Asthma: Is There A Link? **Indian Journal of Medical Microbiology**, **26(4)**: 338-341, 2008.
- AIDS Foundation East-West (2007). **Officially registered HIV cases by region of the Russian Federation–1 January 1987 through 30 June, 2007**. Disponível em: <http://www.afew.org/english/statistics/HIVinRFregions.htm>. Acesso em: 25/02/08.
- and interpretation of tests for syphilis. **Clinical Microbiology Reviews**, **8**:1–21, 1995.
- ALACOQUE, B., CLOPPET, H., DUMONTEL, C., MOOLIN, G. Histological, immunofluorescent and ultrastructural features of Lymphogranuloma Venereum. Case report. **British Journal of Venereal Diseases**, **60**: 390-395, 1984.
- ARAÚJO, R.S.C. **Estudo da infecção genital por *Chlamydia trachomatis* em adolescentes e jovens do sexo feminino no distrito sanitário leste do município de Goiânia: prevalência e fatores de risco**. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Goiânia, Universidade Federal de Goiás, 2001, p. 49.
- AVELLEIRA, J.C.R., BOTTINO, G. Syphilis: diagnosis, treatment and control. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, **81(2)**: 111-126, 2006.
- 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.

- BARCELOS, M.R.B, VARGAS, P.R.M., BARONI, C., MIRANDA, A.E. Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, **30(7)**: 349-354, 2008.
- BARRÉ-SINOUSI, F.; CHERMANN, J. C.; REY, F.; NUGEYRE, M. T.; CHAMARET, S.; GRUEST, J.; DAUGUET, C.; AXLER-BLIN, C.; VEÂZINET-BRUN, F.; ROUZIOUX, C.; ROZENBAUM, W.; MONTAGNIER, L. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). **Science**, **220**: 868-871, 1983.
- BÉBÉAR, C., BARBEYRAC, B. Genital Chlamydia trachomatis infections. **Clinical Microbiological and Infection**, **15**: 4-10, 2009.
- BEHRENS-BAUMANN, W. Chlamydial diseases of the eye. A short overview. **Ophthalmologie**, **104(1)**: 28-34, 2007.
- BELLO, P. Y., QUEIROZ, T., MARTINS, T., BROUTET, N., GREPIDS-CE. Characteristics of the patients seen in 1999 by referral centres for sexually transmitted diseases in Ceará (Northeast Brazil). **Sante**, **13(3)**: 159-64, 2003.
- BERHANE, Y., WORKU, A., BEJIGA, A. National Survey on Blindness, Low Vision and Trachoma in Ethiopia. **Federal Ministry of Health of Ethiopia**, 2006.
- BLACK, M.C. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. **Clinical Microbiology Reviews**, **10 (1)**: 160-84, 1997.
- BLASI, F., BOSCHINI, A., COSENTINI, R., LEGNARI, D., SMACCHIA, C., GHIRA, C., ALLEGRA, L. Outbreak of Chlamydia pneumoniae infection in former injection drug-users. **Chest**, **105(3)**: 812-815, 1994.

- BLASI, F., COSENTINI, R., SCHOELLER, M.C., LUPO, A., ALLEGRA, L. *Chlamydia pneumoniae* seroprevalence in immunocompetent and immunocompromised populations in Milan. **Thorax**, **48(12)**: 1261-1263, 1993.
- BLOCKER, M.E., LEVINE, W.C., ST LOUIS, M.E. HIV prevalence in patients with syphilis, United States. **Sexually Transmitted Disease**, **27**: 53–59, 2000.
- BRANDÃO, J.E., SÁ, C.A.M., ASENSI, M.D. Contribuição ao estudo soropidemiológico da Sífilis em infectados pelo HIV, em Hospital Universitário da cidade do Rio de Janeiro, RJ. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, **14(5)**: 15-19, 2002.
- BRANDÃO, J. E. C; NINA, M. P. S. N; CERVELLI, I. K; OBRAR, A. M; TERRA, A. S; SION, F; RIBEIRO, L. C. P; VASCONCELLOS, M; MELCA, L. A; MORAIS E SÁ, C. A; ASENSI, M. D; SILVA, L. G. PESSOA. Soroprevalência da sífilis em gestantes HIV-negativas, obtida de três testes diagnósticos: VDRL, ELISA, TPHA / Syphilis. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis** 14(4): 28-31, 2002.
- BRANGER, J., VAN DER MEER, J.T., VAN KETEL, R.J., JURRIAANS, S., PRINS, J.M. High Incidence of Asymptomatic Syphilis in HIV-Infected MSM Justifies Routine Screening. **Sexually Transmitted Diseases**, **36(2)**: 84-85, 2009.
- BRAVERMAN, P.K., ROSENFELD, W.D. Sexually transmitted infections. **Adolescent Medical Clinical**, **15**:201-421, 2004.
- BREMER, V., MEYER, T., MARCUS, U., HAMOUDA, O. Lymphogranuloma Venereum emerging in men who have sex with men in Germany. **Eurosurveillance**, **11(7)**: 152-154, 2006.

CALDWELL, H. D., WOOD, H., CRANE, D., BAILEY, R., JONES, R. B., MABEY, D., MACLEAN, I., MOHAMMED, Z., PEELING, R., ROSHICK, C., SCHACHTER, J., SOLOMON, A. W., STAMM, W. E., SUCHLAND, R. J., TAYLOR, L., WEST, S. K., QUINN, T. C., BELLAND, R. J., MCCLARTY, G. Polymorphisms in *Chlamydia trachomatis* tryptophan synthase genes differentiate between genital and ocular isolates. **European Journal of Clinical Investigation**, **111**:1757–1769, 2003.

CALDWELL, H.D., KROMHOUT, J., SCHACHTER, J. Purification and partial characterization of the major outer membrane protein of *Chlamydia trachomatis*. **Infection and Immunity**, **31**: 1161, 1981.

CALIENDO, A. M. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* Infection Using Amplification Methods: Can We Afford It? **Clinical Microbiology Newsletter**, **20(9)**: 75-78 1998.

CALIGARIS, L., S., A., MORIMOTO, W., T., M. Trachoma Prevalence and Risk Factors Among Preschool Children in a Central Area of the City of São Paulo, Brazil. **Ophthalmic Epidemiology**, **13**: 365–370, 2006.

CAMEJO, M. I, MATA, G., DIAZ, M. Prevalence of Hepatitis B, Hepatitis C y Syphilis in female sex workers in Venezuela. **Revista de Saúde Pública**, **37(3)**: 339-44, 2003.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2006. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, November 2007.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Workowski KA, Berman SM. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. **MMWR Recommendations and Reports**, **55**:1-94, 2006.


CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. AIDS Surveillance

Report. Cases of HIV infection and AIDS in the United States and Dependent Areas, 2007. Vol. 19. Atlanta: U.S.

CENTERS OF DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Sexually Transmitted Disease Surveillance. Department of Health and Human Service, Atlanta, GA: US. P 190, CDC, 2002.

CHAPEL, T. A. The signs and symptoms of secondary syphilis. **Sexually Transmitted Disease**, **7**:161–164, 1980.

CHEDID, M.B., CHEDID, M.F., ILHA, D.O., BOZZETTI, M.C., CHAVES, L., GRIZA, D., DALCIN, P.R. Community-acquired pneumonia by *Chlamydomphila pneumoniae*: a clinical and incidence study in Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Disease**, **11(1)**: 75-82, 2007.

CHEN, M.Y., FAIRLEY, C.K., DE GUINGAND, D., HOCKING, J., TABRIZI, S., WALLACE, E.M., GROVER, S., GURRIN, L., CARTER, R., PIROTTA, M., GARLAND, S. Screening pregnant women for chlamydia: what are the predictors of infection? **Sexually Transmitted Infectious**, **85(1)**: 31-35, 2009 .

CHERNESKY, M. A. The laboratory diagnosis of Chlamydia trachomatis infections. **Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, **16(1)**: 39-44, 2005.

Chlamydia pneumoniae. Disponível em <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/diseaseinfo/chlamydiapneumonia_t.htm>. Acesso em: 16.02.08.

CIRINO, F., WEBLEY, W.C., WEST, C., CROTEAU, N.L., ANDRZEJEWSKI JR, C., STUART, E.S. Detection of *Chlamydia* in the peripheral blood cells of normal

donors using in vitro culture, immunofluorescence microscopy and flow cytometry techniques. **BMC Infectious Diseases**, **6**: 165, 2006.

CLAAS, H. C., MELCHERS, W. J., DE BRUIJN, I. H., DE GRAAF, M., VAN DIJK, W. C., LINDEMAN, J., QUINT, W.G. Detection of Chlamydia trachomatis in clinical specimens by the polymerase chain reaction. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, **9**: 864–868, 1990.

CLARK, J.L., KONDA, K.A., SEGURA, E.R., SALVATIERRA, H.J., LEON, S.R., HALL, E.R., CACERES, C.F., KLAUSNER, J.D., COATES, T.J. Risk factors for the spread of HIV and other sexually transmitted infections among men who have sex with men infected with HIV in Lima, Peru. **Sexually Transmitted Infection**, **84(6)**: 449-54, 2008.

CLYNE, B. & JERRARD, D.A. Syphilis testing. **The Journal of Emergency Medicine**, **18 (3)**: 361-367, 2000.

COLLINS, L., WHITE, J.A., BRADBEER, C. Lymphogranuloma Venereum. **British Medical Journal**, **332**:66, 2006.

COMANDINI, U.V., MASSETTI, A.P., MARCHESE, R., ZACCARELLI, M., VULLO, V., AND DELIA, S. Chlamydia pneumoniae seroprevalence among HIV-1-infected and uninfected people with known HIV risk factor. **AIDS**, **10**: 1543-1547, 1996.

COOK, R. L., MAY, S., HARRISON, L. H., MOREIRA, R. I., NESS, R. B., BATISTA, S., BASTOS, M. D. A. S., SCHECHTER, M. High prevalence of sexually transmitted diseases in young women seeking HIV testing in Rio de Janeiro, Brazil. **Sexually Transmitted Diseases**, **31(1)**: 67-72, 2004.

- COOK, R.L., MAY, S., HARRISON, L.H., MOREIRA, R.I., NESS, R.B., BSTOS, M.S. High Prevalence of Sexually Transmitted Diseases in Young Women Seeking HIV Testing in Rio de Janeiro, Brazil. **Sexually Transmitted Diseases, January 31(1):67–72, 2004.**
- COSENTINI, R., ESPOSITO, S., BLASI, F., CLERICI, S. M., PINZANI, R., TARSIA, P., FAGETTI, L., AROSIO, C., PRINCIPI, N., ALLEGRA, L. Incidence of *Chlamydia pneumoniae* infection in vertically HIV-1 infected children. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 17(10): 720-723, 1998.**
- COSTA, F. A. M. Estudo Soroepidemiológico e Co-infecção bacteriana por *Treponema pallidum* e *Chlamydia* em pacientes infectados pelo Vírus da *Imunodeficiência humana* do tipo-1, na cidade de Belém, Pará, Brasil. **XV Seminário de Iniciação Científica**, Universidade Federal do Pará, 2005.
- 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.
- COUTINHO, M.S.S.A., NAKAMAE F.J.D., MENEZES M.E. *Chlamydia pneumoniae* and Atherosclerosis: Identification of Bacterial DNA in the Arterial Wall. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia, 74(2): 124-128, 2000.**
- CUMMINGS, M.C., LUKEHART, S.A., MARRA, C., SMITH, B.L., SHAFFER, J., DEMEO, L.R., CASTRO, C., MCCORMACK, W.M. Comparison of methods for the detection of *Treponema pallidum* in lesions of early syphilis. **Sexually Transmitted Disease, 238: 366-369, 1996.**

- DARVILLE, T. Chlamydia. **Pediatric Review**, **19**: 85-91, 1998.
- DI BARTOLOMEU, S., RODRIGUEZ, F., D., B., SAUKA, A., D., H. Prevalencia de microorganismos asociados a secreción genital femenina, Argentina. **Revista de Saúde Pública**, **36(5)**: 545-52, 2002.
- DILLEY, J.W., KLAUSNER, J.D., MCFARLAND, W., KELLOG, T. A., KOHN, R., WONG, W. ET AL. Trends in primary and secondary syphilis and HIV infections in men who have sex with men- San Francisco an Los Angeles, California. **Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR)**, **53**: 575-578, 2004.
- DOMINGO, A.A., SUÑEB, T. P., COLOMOC, B.S., GARCÍA, L. S., MONTOSAD, J.X., ESCURSELLE, O. C., LÓPEZE, M. A. L., GRAUA, G., C. Prevalencia de infección por *Chlamydia trachomatis* determinada mediante métodos de biología molecular. **Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica**, **20(5)**: 205-7, 2002.
- ELDER, J., BROWN, C. Review of techniques for the diagnosis of *Chlamydia psittaci* infection in psittacine birds. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** **11**: 539-541 (1999).
- EVANS, B.A., BOND, R.A., MACRAE, K.D. Sexual relationships, risk behaviour, and condom use in the spread of sexually transmitted infections to heterosexual men. **Genitourinary Medicine**, **73**: 368-372, 1997.
- EVANS, C., DAS, C., KINGHORN, G. A retrospective study of recurrent chlamydia infection in men and women: is there a role for targeted screening for those at risk? **International Journal of STD & AIDS**, **20**: 188-192, 2009.
- EVANS, R.T., WOODLAND, A.R.M. Detection of Chlamydiae by isolation and direct examination. **British Medical Bulletin**, **39**: 181-186, 1983.

- EVERETT, K.D.E. Chlamydia and Chlamydiales: more than meets the eye. **Veterinary Microbiology**, **75**: 109-126, 2000.
- EVERETT, K.D.E., ANDERSEN, A.A., Identification of nine species of the Chlamydiaceae using PCR-RFLP. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **49**: 803-13, 1999.
- EYER-SILVA, W. A., FREIRE, M.A.L., GAYÃO, M.L., BASÍLIO-DE-OLIVEIRA, C.A., MORGADO, M.G. Epidemiologic features Of HIV infection in three municipalities of inner Rio de Janeiro state, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **49(5)**: 303-307, 2007.
- FARENCEA, A., COMANDUCCI, M., DONATI, M., RATTI, G., CEVENINI, R. Characterization of a new isolate of *Chlamydia trachomatis* which lacks the common plasmid and has properties of biovar trachoma. **Infection & Immunity**, **65**: 2965–2969, 1997.
- FENG, L.G., DING, X.B., LU, R.R., PAN, C.B., YI, H.R., LIU, H.H., OU, Y.L., XU, J. HIV prevalence and its associated factors among men who have sex with men in Chongqing. **Chinese journal of preventive medicine**, **42(12)**: 870-4, 2008.
- FIORAVANTE, F.C.R. **Estudo da prevalência e dos fatores de risco associados à infecção por *Chlamydia trachomatis* em conscritos do Exército no Município de Goiânia, Goiás**. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) – Goiânia, Universidade Federal de Goiás, 2003, p. 43.
- FITZGERALD, T. J. Pathogenesis and Immunology of *Treponema pallidum*. **Annual Review of Microbiology**, **35**: 29-34, 1981.

- FLEMING, D.T., WASSERHEIT, J.N. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. **Sexually Transmissible Infections**, **75**: 3–17, 1999.
- FRAGOSO, Y. D., MENDES, V., ADAMO, A.P. M., BOSCO, L.P., TAVARES, C.A.F. Neurologic manifestations of AIDS: a review of fifty cases in Santos. **Revista Paulista de Medicina**, **116(3)**: 1715-20, 1998.
- FRASER C.M., NORRIS S.J., WEINSTOCK J.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.
- FROST, E. H., DESLANDES, S., GENDRON, D., BOURGAUX-RAMOISY, D., BOURGAUX, P. Variation outside variable segments of the major outer membrane protein distinguishes trachoma from urogenital isolates of the same serovar of *Chlamydia trachomatis*. **Genitourinary Medicine**, **71**: 18–23, 1995.
- FUKUSHI, H., HIRAI, K. Proposal of *Chlamydia pecorum* sp. nov. for Chlamydia strains derived from ruminants. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **42**: 306-308, 1993.
- GAETE, M. V., PRADO, V. E., ALTAMIRANO, P. D., MARTINEZ, J. B., URREJOLA, P., PINTO, J. M. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria*

gonorrhoeae in Chilean asymptomatic adolescent males determined by urine sample.

Sexually Transmitted Infections, 75(1): 67-8, 1999.

GALLO, R.C. Human retroviruses: a decade of discovery and link with human disease.

Journal of Infectious Diseases, 164: 235-243, 1991.

GAYDOS, C.A., FOWLER, C.L., GILL, V.J., EIDEN, J.J., AND QUINN, T.C.

Detection of *Chlamydia pneumoniae* by polymerase chain reaction-enzyme immunoassay in an immunocompromised population. **Clinical Infectious Disease, 17: 718-723, 1993.**

GAYDOS, C.A., THEODORE, M., DALESIO, N., WOOD, B.J., QUINN, T.C.

Comparison of Three Nucleic Acid Amplification Tests for Detection of *Chlamydia trachomatis* in Urine Specimens. **Journal of Clinical Microbiology, 42: 3041–3045, 2004.**

GIR, E., DUARTE, G., MARTINEZ, R., MORIYA, T.M., FIGUEIREDO, J.F.C,

COSTA, J.C., MACHADO, A.A. Expressão epidemiológica de outras doenças sexualmente transmissíveis entre portadores de AIDS. **Revista de Saúde Pública, 28 (2): 93-99, 1994.**

GIR, E., DUARTE, G., MARTINEZ, R., MORIYA, T.M., FIGUEIREDO, J.F.C.,

COSTA, J.C., MACHADO, A.A. Expressão epidemiológica de outras doenças sexualmente transmissíveis entre portadores de AIDS. **Revista de Saúde Pública, 28(2): 93-99, 1994.**

GOH, B. T. Syphilis in adults. **Sexually Transmitted Infections, 81: 448-452, 2005.**

GOLDEN, M.R., MARRA, C.M., HOLMES, K.K. Update on syphilis: resurgence of an


old problem. **The Journal of American Medical Association, 290: 1510–14, 2003.**

- GOTTLIEB, M.S., SCHROFF, R., SCHANKER, H.M., WEISMAN, J.D., FAN, P.T., WOLF, R.A. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. **New England Journal of Medicine**, **305**: 1425-1431, 1985.
- GOUREVITCH, M.N., HARTEL, D., SCHOENBAUM, E.E., SELWYN, P.A., DAVENNY, K., FRIEDLAND, G.H., KLEIN, R.S. A prospective study of syphilis and HIV infection among injection drug users receiving methadone in the Bronx, NY. **American Journal Public Health**, **86(8)**: 1112-1116, 1996.
- GRAYSTON, J. T. & WANG, S. P., New knowledge of chlamydiae and the diseases they cause. **Journal of Infectious Diseases**, **132**: 87-105, 1975.
- GRAYSTON, J.T. Background and current knowledge of *Chlamydia pneumoniae* and atherosclerosis. **Journal of Infectious Disease**, **181(3)**: S402–S410, 2000.
- GRAYSTON, J.T., ALDOUS, M.B., EASTON, A., WANG, S.P., KUO, C.C., CAMPBELL, L.A., ALTMAN, J. Evidence that *Chlamydia pneumoniae* causes pneumonia and bronchitis. **Journal of Infectious Disease**, **168**: 1231-1235, 1993.
- GRAYSTON, J.T., CAMPBELL, L.A., KUO, C.C., MORDHORST, C.H., SAIKKU, P., THOM, D.H. A new respiratory tract pathogen: *Chlamydia pneumoniae*, strain TWAR. **Journal of Infectious Disease**, **161(4)**: 618-25, 1990.
- GRAYSTON, J.T., KUO, C.C., CAMPBELL, L.A., WANG, S.P. *Chlamydia pneumoniae* sp. nov. for *Chlamydia* sp. strain TWAR. **International Journal of Systematic Bacteriology**, **39**: 88–90, 1989.
- GRAYSTON, J.T., KUO, C.C., WANG, S.P., ALTMAN, J. A new *Chlamydia psittaci* strain, TWAR, isolated in acute respiratory tract infection. **New England Journal of Medicine**, **315**: 161–168, 1986.

- GREENE, W.C. The molecular biology of human immunodeficiency virus type 1 infection. **New England Journal of Medicine**, **324**: 308-317, 1991.
- GREGSON, S., GARNETT G.P., NYAMUKAPA, C.A. HIV decline associated with behaviour change in eastern Zimbabwe. **Science**, **311(5761)**: 664-6, 2006.
- GRIEMBERG, G., BAUTISTA, C.T., PIZZIMENTI, M.C., ORFUS, G., ALONSO, B., FERNANDEZ, T., CANDO, O., L., PERALTA, M. High prevalence of syphilis-HIV co-infection at four hospitals of the City of Buenos Aires, Argentina. **Revista Argentina de Microbiologia**, **38(3)**: 134-136, 2006.
- GRIMPREL E., SANCHES P., WENDEL G.D., BURSTAIN J.M., McCRACKEN G.H., RADOLF J.D., NORGARD M.V. Use of polymerase chain reaction and rabbit infectivity testing to detect *Treponema palidum* in amniotic fluid, fetal and neonatal sera, and cerebrospinal fluid. **Journal of Clinical Microbiology**, **29(8)**: 1711-1718, 1991.
- GUATELLI, J. C., WHITFIELD, K. M., KWOH, D. Y., BARRINGER K. J., RICHMAN, D. D., GINGERAS, T. R.. Isothermal, in vitro amplification of nucleic acids by a multienzyme reaction modeled after retroviral replication. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **87**:1874–1878, 1990.
- GÜRTLER, L.G, HAUSER, P.H., EBERLE, J., VON BRUNN, A., KNAPP, S., ZEKENG, L., TSAGUE, J.M., KAPTUE, L. A new subtype of human immunodeficiency virus type 1 (MVP-5180) from Cameroon. **The Journal of Virology**, **68**:1581-5,1994.
- HAHN D.L., DODGE R.W., GOLUBJATNIKOV, R. Association of *Chlamydia pneumoniae* (strain TWAR) infection with wheezing, asthmatic bronchitis, and adult-onset asthma. **Journal of American Medical Associations**, **266**: 225-230, 1991.

- HALL, H.I., SONG, R., RHODES, P., PREJEAN, J., AN, Q., LEE, L.M., KARON, J., BROOKMEYER, R., KAPLAN, E.H., MCKENNA, M.T., JANSSEN R.S. Estimation of HIV Incidence in the United States. *The Journal of American Medical Association*, 300(5): 520-529, 2008.
- HAMMERSCHLAG, M.R. Chlamydia pneumoniae and the lung. **European Respiratory Journal**, 16: 1001-1007, 2000.
- Schachter 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.
- HERNANDEZ-GIRON, C. A., CRUZ-VALDEZ, A., FIGUEROA, J.L. Prevalencia y factores de riesgo sociados a sífilis em mujeres. **Revista de Saúde Pública**, 32 (6): 579-586, 1998.
- HILLS, D.S., WASSERHIET, N.J. Screening for Chlamydia trachomatis- a key to the prevention of pelvic inflammatory disease. **New England Journal of Medicine** 334(21): 1399-1401, 1997.
- HONEY, E., TEMPLETON, A. Prevention of pelvic inflammatory disease by the control of *C. trachomatis* infection. **International Journal of Gynecology and Obstetrics**, 78(3): 257–261, 2002.
- HOPKINS, S., LYONS, F., COLEMAN, C., COURTNEY, G., BERGIN, C., MULCAHY, F. Resurgence in infectious syphilis in Ireland: an epidemiological study. **Sexually Transmitted Disease**, 31: 317-21, 2004.
- HOWARD, L. V., COLEMAN, P.F., ENGLAND, B. J., HERRMANN, J. E. Evaluation of chlamydiazyme for the detection of genital infections caused by Chlamydia trachomatis. **Journal of Clinical Microbiology**, 23: 329–332, 1986.

- HUSSAIN, T., KULSHRESHTHA, K. K., SHIKHA SINHÁ, YADAV, V. S., KATOCH, V. M. HIV, HBV, HCV, and syphilis co-infections among patients attending the STD clinics of district hospitals in Northern India. **International Society for Infectious Diseases**, **10**: 358-363, 2006.
- IKEJIMA, H., HARANAGA, S., TAKEMURA, H., KAMO, T., TAKAHASHI, Y., FRIEDMAN, H. YAMAMOTO, Y. PCR-based method for isolation and detection of *Chlamydia pneumoniae* DNA in cerebrospinal fluids. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, **8**: 499–502, 2001.
- IMAI, H., SHINOHARA, H., NAKAO, H., TSUKINO, H., HAMASUNA, R. KATOH, T. Prevalence and risk factors of asymptomatic chlamydial infection among students in Japan. **International Journal of STD and AIDS**, **15(6)**: 408-14, 2004
- ISHAK, M. O. G., ISHAK, R. O impacto da infecção por *Chlamydia* em populações indígenas da Amazônia Brasileira. **Caderno de Saúde Pública**, **17(2)**: 385-396, 2001.
- ISHAK, M. O. G., ISHAK, R., CRUZ, A. C., SANTOS, D. E., SALGADO, U. Chlamydial infections in the Amazon Region of Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, **87**: 60 – 62, 1993.
- JACKMAN, J. D., JR., RADOLF, J.D. Cardiovascular syphilis. **American Journal of Medicine**, **87**: 425–433, 1989.
- JACKSON, M., WHITE, N., GIFFARD, P., TIMMS, P. Epizootiology of chlamydia infections in two free-range koala populations. **Veterinary Microbiology**, **65**: 255-264, 1999.

- JAYARAMAN, G. C., READ, R. R., SINGH, A. Characteristics of individuals with male-to-male and heterosexually acquired infectious syphilis during an outbreak in Calgary, Alberta, Canada. **Sexually Transmitted Diseases**, **30(4)**: 315-9, 2003.
- JEPSEN, O. B., HOUGEN, K. H., BIRCH-ANDERSEN, A. Electron microscopy of *Treponema pallidum* Nichols. **Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica**, **74**: 241-258, 1968.
- JETHWA H.S., SCHMITZ J.L., DALLABETTA G., BEHETS F., HOFFMAN I., HAMILTON H., LULE G., COHEN M., FOLDS J.D. Comparison of molecular and microscopic techniques for detection of *Treponema pallidum* in genital ulcers. **Journal of Clinical Microbiology**, **33(1)**: 180-183, 1995.
- JOLLY,A.M., ORR, P.H., HAMMOND, G., YOUNG, T.K. Risk factors for infection in women undergoing testing for Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoeae in Manitoba, Canada. **Sexually Transmitted Disease**, **22(5)**: 289-95, 1995. 
- JONES, B. R. Prevention of blindness from Trachoma. **Transactions of the Ophthalmological Society**, **95**: 16-33, 1975.
- JONES, B.R., COLLIER, L.H., SMITH, C.H. Isolation of virus of inclusion blennorrhoea. **Lancet (1)**: 902-905,1959.
- JOYEE, A.G., THYAGARAJAN, S.P., REDDY, E. V., VENKATESAN, C., GANAPATHY, M. Chlamydial infection in STD patients: its relation to HIV infection. **Indian Journal of Medical Microbiology**, **23 (1)**: 37-40, 2005.
- KALMAN, S., MITCHELL, W., MARATHE, R., LAMMEL, C., FAN, J., HYMAN, R.W., OLINGER, L., GRIMWOOD, J., DAVIS, R.W., STEPHENS, R. Comparative genomes of *Chlamydia pneumoniae* and *C. trachomatis*. **Nature Genetics**, **21**: 385-389, 1999.

- KEARNS G., POGREL MA., HONDA G. Intraoral tertiary syphilis (Gumma) in a human immunodeficiency virus-positive man: a case report. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, **51**: 85-8, 1993.
- KLUGMAN, K.P., PATEL, J., SISCHY, A., MCINTYRE, J.A.S. Serological markers of sexually transmitted diseases associated with HIV-1 infection in pregnant black women. *South African Medical Journal*, 80(5): 243-244, 1991.
- KOGA, I., ODAWARA, T., MATSUDA, M., SUGIURA, W., GOTO, M., NAKAMURA, T., IWAMOTO, A. Analysis of HIV-1 sequences before and after co-infecting syphilis. **Microbes and Infection**, **8**: 872-2879, 2006.
- KOL, A., SUKHOVA, G.K., LICHTMAN, A.H., LIBBY, P. Chlamydial heat shock protein 60 localizes in human atheroma and regulates macrophage tumor necrosis factor alpha and matrix metalloproteinase expression. **Circulation**, **98**: 300-307, 1998.
- KOURI, V., CARTAYA, J., RODRÍGUEZ, M.E., MUNÉ, M., SOTO, Y., RESIK, S., BRAVO, J., LLOP, A. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in Human immunodeficiency virus infected Women in Cuba. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, **97(8)**: 1073-1077, 2002.
- KUMAR R., JHA, P., ARORA, P., MONY, P., BHATIA, P., MILLSON, P., DHINGRA, N., BHATTACHARYA, M., REMIS, R.S., NAGELKERKE, N. Trends in HIV-1 in young adults in south India from 2000 to 2004: a prevalence study. **Lancet**, **367(9517)**: 1164–72, 2006.
- KUO, C.C., CAMPBELL, L.A. Detection of *Chlamydia pneumoniae* in arterial tissues. **Journal of Infectious Disease**, **181 (3)**: S432–S436, 2000.

- KUO, C.C., CHEN, H.H., WANG, S.P., GRAYSTON, J. T. Identification of a new group of *Chlamydia psittaci* called TWAR. **Journal of Clinical Microbiology**, **24**: 1034-1037, 1986.
- KUO, C.C., WANG, S.P., WENTWORTH, B. B., GRAYSTON, J. T. Primary isolation of TRIC organisms in HeLa 229 cells treated with DEAE-dextran. **Journal of Infectious Disease**, **125**: 665–668, 1972.
- KYRIAKIS, K.P., HADJIVASSILIOU, M. HIV-1 infection-associated risk factors among sexually transmitted diseases patients in Athens, Greece: 1990 to 1996. **Sexually Transmitted Diseases**, **275**: 259-265, 2000.
- LAFOND, R. E. & LUKEHART, S. A. Biological Basis for Syphilis. **Clinical Microbiology Reviews**: **19**: 29-49, 2006.
- LAGA, M., MANOKA, A., KIVUVU, M., MALELE, B., TULIZA, M., NZILA, N., GOEMAN, J., BEHETS, F., BATTER, V., ALARY., M. Non-ulcerative sexually transmitted diseases as risk factors for HIV-1 transmission in women: results from a cohort study. **Aids**, **7**: 95–102. 1993.
- LARSEN, S. A., STEINER, B.M., RUDOLPH, A.H. Laboratory diagnosis and interpretation tests for Syphilis. **Clinical Microbiology Reviews**, **8**: 1-21, 1995.
- LEBAR, D.W. Keeping up with new technology: new approaches to diagnosis of *Chlamydia trachomatis*. **Clinical Chemistry**, **42(5)**: 809-812, 1996.
- LEWALLEN, S., COURTRIGHT, P. Blindness in Africa: present situation and future needs. **British Journal of Ophthalmology**, **85**: 897 - 903, 2001.
- LIMA SOARES, V., MESQUITA, A. M., CAVALCANTI, F. G., SILVA, Z. P. Sexually transmitted infections in a female population in rural north-east Brazil:

- prevalence, morbidity and risk factors. **Tropical Medicine & International Health**, **8(7)**: 595-603, 2003.
- LIN, T.M., KUO, C.C., CHEN, W.J., LIN, F.J.H., ENG, H.L. Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* infection in Taiwan. **Journal of Infection**, **48(1)**: 91–95, 2004.
- LIU H., RODES B., CHEN C.Y., STEINER B. New test for syphilis: rational design of a PCR method for detection of *Treponema pallidum* in clinical specimens using unique regions of the DNA Polymerase I Gene. **Journal of Clinical Microbiology**, **39**: 1941-1946, 2001.
- LOPES, F., LATORRE, M.R.D.O., PIGNATARI, A.C.C., BUCHALLA, C.M. Prevalência de HIV, papilomavírus humano e sífilis na Penitenciária Feminina da Capital, São Paulo, 1997-1998. **Caderno de Saúde Pública**, **17(6)**: 1473-1480, 2001.
- LOWNDES, C.M., FENTON, K.A. Epidemiology of STIs: UK. **Medicine** **33(9)**: 1 - 4, 2005.
- LUCENA, A., R., CRUZ, A., A., V., CAVALCANTI, R. Epidemiologic study of trachoma in a community of "Chapada do Araripe" , Pernambuco State - Brazil **Arquivos Brasileiros de Oftalmologia**, **67(2)**:197-200, 2004.
- LUGO A., SANCHEZ S., SANCHEZ J.L. Congenital Syphilis. **Pediatric Dermatology**, **23(2)**: 121-123, 2006.
- LUKEHART, S. A., SHAFFER, J. M., BAKER-ZANDER, S. A. A subpopulation of *Treponema pallidum* is resistant to phagocytosis: possible mechanism of persistence. **Journal of Infection Disease**, **166**: 1449-1453, 1992.
- LUNA E.J., MEDINA N.H., OLIVEIRA M.B., BARROS O.M., VRANJAC A., MELLES H.H., WEST, S., TAYLOR, H.R. Epidemiology of trachoma in Bebedouro

- state of São Paulo, Brazil: prevalence and risk factors. **International Journal of Epidemiology**, **21(1)**: 169-77, 1992.
- LYNN, W.A., LIGHTMAN, S. Syphilis and HIV: a dangerous combination. **Lancet Infectious Disease**, **4**: 456-466, 2004.
- MABEY, D., PEELING, R.W. Lymphogranuloma Venereum. **Sexual Transmission Infectious**, **78**: 90-92, 2002.
- MALIK, A., JAIN, S., HAKIM, S., SHUKLA, I., RIZVI, M. Chlamydia trachomatis infection & female infertility. **The Indian Journal of Medical Research**, **123**: 770-775, 2006.
- MANAVI, K. A review on infection with *Chlamydia trachomatis*. **Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynecology**, **20(6)**: 941-951, 2006.
- MARAL, I., BIRI, A., KORUCUOĞLU, U., BAKAR, C., CIRAK, M., ALI BUMIN, M. Seroprevalences of herpes simplex virus type 2 and Chlamydia trachomatis in Turkey. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, **26**: 07-11, 2006.
- MARTÍNEZ, M.A., KOGAN, R., SILVA, J.J., PINTO, M.E., VIDAL, C., HUPPO, H. Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* in Chile. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, **31(1)**:103-104, 1999..
- MATSUMOTO, A. Electron microscopic observations of surface projections on *Chlamydia psittaci* reticulate bodies. **Journal of Bacteriology**, **150**: 358-364, 1982.
- MCINTIRE, G. D., WENDEL, JR. Congenital syphilis after maternal treatment for syphilis during pregnancy. **American Journal of Obstetrics and Gynecology**. **186**: 569- 573, 2002.
- MEJIA, A., BAUTISTA, C.T., LEAL, L., AYALA, C., PRIETO, F., DE LA HOZ ,F., ALZATE, M.L., ACOSTA, J., SANCHEZ, J.L. Syphilis infection among female sex

- workers in Colombia. **Journal of Immigrant and Minority Health**, **11(2)**: 92-98, 2009.
- MEZA-JUNCO, J., MONTAÑO-LOZA, A., CASTILLO-MARTÍNEZ, L., OREA-TEJEDA, A., REMES-TROCHE, J.M., VILLALOBOS-ZAPATA, I., LEÓN-GARDUÑO, A.P., CALVA-MERCAD, J. High prevalence of *Chlamydia pneumoniae* seropositivity in mexican patients with ischemic heart disease. **Archives of Medical Research**, **35 (4)**: 318-323, 2004.
- 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.
- MICHELON, J., BOENO, A., CUNHA FILHO, E. V., STEIBEL, G., BERG, C., TORRENS, M. C. T. Diagnóstico da infecção urogenital por *Chlamydia trachomatis*. **Scientia Medica**, **15(2)**: 97 - 102, 2005.
- MILLER, S.T., HAMMERSCHLAG, M.R., CHIRGWIN, K., RAO, S.P., ROBLIN, P., GELLING, M., STILERMAN, T., SCHACHTER, J., CASSELL, G.. Role of *Chlamydia pneumoniae* in acute chest syndrome of sickle cell disease. **The Journal of Pediatrics**, **118**: 30 - 33, 1991.
- MINDEL, A., TOVEY, S. J., TIMMINS, D. J., WILLIAMS, P. Primary and secondary syphilis, 20 years' experience. 2. Clinical features. **Genitourinary Medicine**, **65**:1-3, 1989.
- Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**: Dezembro 2007, Ministério da Saúde, Brasil. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/aids_2007.pdf/. Acesso em: 25/02/08.

Ministério da Saúde. **Boletim Epidemiológico**: Dezembro 2008, Ministério da Saúde, Brasil. Disponível em http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/aids_2008.pdf/.

Acesso em: 24/03/09.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Brasil. Diretrizes de Controle da Sífilis Congênita. Brasília (DF): Ministério da Saúde: p. 7-53, 2005.

MIRANDA, A. E., MONTEIRO R.B., PRADO, B.C., SERAFIM, R.R., SOARES, R.A. Infecção pelo HIV e Sífilis em pessoas que procuram atendimento em uma clínica de DST no Brasil. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, **14(5)**: 25-28, 2002.

MIRANDA, A. E., SZCWAECWALD, C. L., PERES, R. L., PAGE-SHAFER, K. Prevalence and risk behaviors for chlamydial infection in a population-based study of female adolescents in Brazil. **Sexually Transmitted Disease**, **31 (9)**: 542-546, 2004.

MIRANDA, A. E.; VARGAS, P. M., VIANA, M. C., Prevalência de infecção por HIV, HTLV I, HBV, HCV e sífilis na Penitenciária Feminina do Espírito Santo. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, **10**: 63, 1998.

MIRANDA, A.E., ALVES, M.C., NETO, R.L., AREAL, K.R., GERBASE, A.C. Seroprevalence of HIV, hepatitis B virus, and syphilis in women at their first visit to public antenatal clinics in Victoria, Brazil. **Sexually Transmitted Disease**, **28**: 710-3, 2001.


MIYASHITA, N., FUKANO, H., YOSHIDA, K., NIKI, Y., MATSUSHIMA, T. Seroepidemiology of *Chlamydia pneumoniae* in Japan between 1991 and 2000. **Journal of Clinical Pathology**, **55**: 115–117, 2002.

- MOLIN, G., D., LONGO, B., NOT, T., POLI, A., CAMPELLO, C. A population based seroepidemiological survey of *Chlamydia pneumoniae* infections in schoolchildren. **Journal of Clinical Pathology**, **58**:617-620, 2005.
- MORGADO, M.G.; GUIMARÃES, M.L.; NEVES, I.; VELOSO-SANTOS, V.G.; LINHARES-DE-CARVALHO, M.I; CASTELLO-BRANCO, L.R.; CASTILHO, E.A. BATSOS, F.I.; GALVÃO, B.; BONGERTZ, V. Molecular Epidemiology of HIV in Brazil: Polymorphism of the Antigenically Distinct HIV-1 B Subtype Strains. **Memórias Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, **93**: 383-38, 1998.
- MORRISON, R.P. New insights into a persistent problem - chlamydial infections. **European journal of clinical investigation**, **111**:1647-1649, 2003.
- MORSE, AS. New tests for bacterial sexually transmitted diseases. **Current Opinion in Infectious Diseases**, **14**: 45-51, 2001.
- MOULDER, J. W. Looking at *Chlamydiae* without looking at their hosts. **American Society of Microbiology News**, **50**: 353-362, 1984.
- MOULDER, J.W. - Interaction of *Chlamydiae* and host cells *in vitro*. **Microbiological Reviews**, **55**: 143-90, 1991.
- MOULDER, J.W. The relation of the psittacosis group (*chlamydiae*) to bacteria and viruses. **Annual Review of Microbiology**, **20**: 107-130, 1966.
- MUHLESTEIN, J.B., ANDERSON, J.L., HAMMOND, E.H., ZHAO, L., TREHANS, SCHWOBE, E.P., CARLQUIST, J.F. Infection with *Chlamydia pneumoniae* accelerates the development of atherosclerosis and treatment with azitromycin prevents it in a rabbit model. **Circulation**, **97**: 633-636, 1998.

- MUNOZ, B., ARON, J., TURNER, V., WEST, S. Incidence estimates of late stages of trachoma among women in a hyperendemic area of central Tanzania. **Tropical Medicine & International Health**, (2): 1030–8, 1997.
- MUNOZ–PEREZ, M.A., RODRIGUEZ-PICHARDO, A., CAMACHO, M. F. Sexually transmitted diseases in 1161 HIV-positive patients: a 38-month prospective study in southern Spain. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, 11: 221–26, 1998.
- NADAL, S.R., FRAMIL, V.M.S. Interpretação das Reações Sorológicas para Diagnóstico e Seguimento Pós-Terapêutico da Sífilis. **Revista Brasileira de Coloproctologia**, 27(4): 479-482, 2007.
- NATIONAL CENTRE IN HIV EPIDEMIOLOGY AND CLINICAL RESEARCH. HIV/AIDS, VIRAL HEPATITIS AND SEXUALLY TRANSMISSIBLE INFECTIONS IN AUSTRALIA ANNUAL SURVEILLANCE REPORT 2007. National Centre in HIV Epidemiology and Clinical Research, The University of New South Wales, Sydney, NSW; Australian Institute of Health and Welfare, Canberra, ACT. 2007
- NNORUKA, E.N., EZEOKÉ, A.C.J. Evaluation of syphilis in patients with HIV infection in Nigeria. **Tropical Medicine and International Health**, 10(1): 58-64, 2005.
- NOORDHOEK, G. T., P. W. M. HERMANS, A. N. PAUL, L. M. SCHOOLS, J. J. VAN DER SLUIS, VAN EMBDEN, J.D.A. *Treponema pallidum* subspecies *pallidum* (Nichols) and *Treponema pallidum* subspecies *pertenue* (CDC 2575) differ in at least one nucleotide: comparison of two homologous antigens. **Microbial Pathogenesis**, 6: 29–42, 1989.

- NORRIS S.J. In Vitro cultivation of *Treponema pallidum*: independent confirmation. **Infection and Immunity**, **36(1)**: 437-439, 1982.
- NORRIS S.J., EDMONDSON D.G. Factors Affecting the Multiplication and Subculture of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* in a Tissue Culture System. **Infection and Immunity**, **53(3)**: 534-539, 1986.
- NOYOLA, D. E., MALACARA-ALFARO, O., LIMA-ROGEL, V., TORRES-MONTES, A. Seroprevalence of syphilis in pregnant women in San Luis Potosi. **Salud Publica de Mexico**, **48 (2)**: 151-4, 2006.
- NUSBAUM, M.R.H., WALLACE, R.R., SLATT, L.M., KONDRAD, E.C. Sexually Transmitted Infections and Increased Risk of co-Infection with human immunodeficiency Virus. **The Journal of the American Osteopathic Association** **104(12)**: 527-535, 2004.
- O'HARA, M.A. Ophthalmia neonatorum. **Pediatric Clinics of North America** **40**: 715-25, 1993.
- OLIVEIRA, M. B., LIMA, H. E., CHITACUMULA, A., CORRÊA, J. G., OLIVEIRA, I. M. V. & NORONHA, F. S. M. Estudo da Prevalência de *Chlamydia Trachomatis* em Mulheres que Utilizam o Serviço de Ginecologia do Programa de Saúde da Família (PSF) de Bom Sucesso, MG. **Anais do VI Congresso Brasileiro de Prevenção das DST & AIDS**, 2006.
- OSSEWAARDE, J.M., VAN STEENBERGEN, J.E., VAN DER MEIJDEN-KUYPERS, H.L., GORISSEN, W.H.M. Seroepidemiology of *Chlamydia pneumoniae* infections in the city of Utrecht, the Netherlands. **Atherosclerosis**, **115**: 45-129, 1995.
- PAAVONEN, J., EGGERT-KRUSE, W. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. **Human Reproduction Update**, **5**: 433-47, 1999.

- PALMER, L., FALKOW, S. A common plasmid of *Chlamydia trachomatis*. **Plasmid** **16**: 52–62, 1986.
- PANCHAUD, C., SINGH, S., FEIVELSON, D., DARROCH, J.E. Sexually transmitted diseases among adolescents in developed countries. **Family Planning Perspectives**, **32**: 24-32, 2000.
- PANDO, M.A., BAUTISTA, C.T., MAULEN, S., DURANTI, R., MARONE, R., REY, J., VIGNOLES, M., EIRIN, M.E., BIGLIONE, M.M., GRIEMBERG, G., MONTANO, S.M., CARR, J.K., SANCHEZ, J.L., A´ VILA, M.M. Epidemiology of Human Immunodeficiency Virus, Viral Hepatitis (B and C), Treponema pallidum, and Human T-Cell Lymphotropic I/II Virus Among Men Who Have Sex With Men in Buenos Aires, Argentina. **Sexually Transmitted Diseases**, **33(5)**: 307–313, 2006.
- PANDO, M.A., BERINI, C., BIBINI, M., FERNÁNDEZ, M., REINAGA, E., MAULEN, S., MARONE, R., BIGLIONE, M., MONTANO, S.M., BAUTISTA, C.T., WEISSENBACHER, M., SANCHEZ, J.L., AVILA, M.M. Prevalence of HIV and other sexually transmitted infections among female commercial sex workers in Argentina. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, **74(2)**: 233-238, 2006.
- PARRATT, J. R., HAY, D.P. Sexually transmitted infections. **Current Obstetrics & Gynaecology**, **13**: 224-231, 2003.
- PATEL, V., WEISS, H.A., MABEY, D., WEST, B., D'SOUZA, S., PATIL, V., NEVREKAR, P., GUPTE, S., KIRKWOOD, B.R. The burden and determinants of reproductive tract infections in India: a population based study of women in Goa, India. **Sexually Transmissible Infectious**, **82(3)**: 243-9, 2006.

- PEELING, R.W., HOOK, E.W. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. **Journal of Pathology**, **208**: 224–32, 2006.
- PEELING, R.W., YE, H. Diagnostic tools for preventing and managing maternal and congenital syphilis: an overview. **Bulletin of the World Health Organization**, **82(6)**: 439-446, 2004.
- PETERSON, E. M., MARKOFF, B. A., SCHACHTER, J., DE LA MAZA, L.M. The 7.5-kb plasmid present in *Chlamydia trachomatis* is not essential for the growth of this microorganism. **Plasmid**, **23**:144–148, 1990.
- PHARES, C.R., WANGROONGSARB, P., CHANTRA, S., PAVEENKITIPORN, W., TONDELLA, M.L., BENSON, R.F., THACKER, W.L., FIELDS, B.S., MOORE, M.R., FISCHER, J., DOWELL, S.F., OLSEN, S.J. Epidemiology of severe pneumonia caused by *Legionella longbeachae*, *Mycoplasma pneumoniae*, and *Chlamydia pneumoniae*: 1-year, population-based surveillance for severe pneumonia in Thailand. **Clinical Infectious Disease**, **45(12)**: 147-55, 2007. 
- PILLAY A., LIU H., EBRAHIM S., CHEN C.Y., LAI W., FEHLER G., BALLARD R.C., STEINER B., STURM A.W., MORSE S.A. Molecular typing of *Treponema pallidum* in South Africa: cross-sectional studies. **Journal of Clinical Microbiology**, **40(1)**: 256-258, 2002.
- 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.
- PRINCIPI N., ESPOSITO S., BLASI F., ALLEGRA, L. Role of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydia pneumoniae* in children with community-acquired lower respiratory tract infections. **Clinical of Infectious Disease** **32(9)**: 1281-1289, 2001.


Public Health Image Library: Photographs, Illustrations, Multimedia Files.

Diponível em: <<http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>> Acesso em: 03/09/2007.

- RAMOS, M. C., BECKER, D., GERMANY, C. Estudo populacional de prevalência de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* pela reação em cadeia da polimerase em amostras de urina de mulheres residentes em vila popular em Porto Alegre, Brazil. **Jornal Brasileiro de DST**, **15 (2)**: 20 - 25, 2003.
- RAMOS, M. C., BECKER, D., PERIN, M. T. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine samples of men with urethrites in a public STD clinic in Porto Alegre, Brazil. **International Journal of STD & AIDS**, **13(1)**: 7, 2002.
- RASAMINDRAKOTROKA, A. High Syphilis and Low but Rising HIV Seroprevalence Rates in Madagascar. **XI International Conference on AIDS**, **3**: 7-12, 1996.
- RATNAM, S. The laboratory diagnosis of syphilis. **The Canadian Journal of Infectious Diseases & Medical Microbiology**, **16(1)**:45-51, 2005.
- REICHE, E. M. V., MORIMOTO, H. K., FARIAS, G. N., HISATSUGU, K. R. GELLER, L., GOMES, A.C.L.F., INOUE, H.Y., RODRIGUES, G., MATSUO, T. Prevalência de tripanossomíase americana, sífilis, toxoplasmose, rubéola, hepatite B, hepatite C e da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana, avaliada por intermédio de testes sorológicos, em gestantes atendidas no período de 1996 a 1998 no Hospital Universitário Regional Norte do Paraná (Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **33(6)**: 519-527, 2000.

- REICHE, E.M.V.; BONAMETTI, A. M.; WATANABE, A.M.E.; MORIMOTO, H.K.; MORIMOTO, A.A.; WIECHMANN, S.L.; BREGANÓ, J.W.; MATSUO, T.; REICHE, F.V. Socio-demographic and epidemiological characteristics associated with Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV1) infection HIV-1-exposed but uninfected individuals, and HIV-1-infected patients from a southern brazilian population. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **47(5)**: 239-246, 2005.
- RIEG, G., LEWIS, R.J., MILLER, L.G., WITT, M.D., GUERERO, M., DAAR, E.S. Asymptomatic Sexually Transmitted Infections in HIV-Infected Men Who Have Sex with Men: Prevalence, Incidence, Predictors, and Screening Strategies. **Aids Patient Care and STD**, **22(12)**: 947-954, 2008.
- RODRIGUES, E.H.G., ABATH, F.G.C. Doenças sexualmente transmissíveis em pacientes infectados com HIV/AIDS no Estado de Pernambuco, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **33(1)**: 47-52, 2000.
- ROTHSCHILD, B.M. History of syphilis. **Clinical of Infectious Disease**, **40**: 1454-63, 2005.
- ROTTA, O. Diagnóstico Sorológico da Sífilis. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, **80(3)**: 299-302, 2005.
- RUAN, Y., LUO, F., JIA, Y., LI, X., LI, Q., LIANG, H., ZHANG, X., LI, D., SHI, W., FREEMAN, J.M., VERMUND, S.H., SHAO, Y. Risk Factors for Syphilis and Prevalence of HIV, Hepatitis B and C among Men Who Have Sex with Men in Beijing, China: Implications for HIV Prevention. , **AIDS and Behaviour**, **12**: 2008.
- SADIQ, S.T., MCSORLEY, J., COPAS, A.J., BENNETT, J., EDWARDS, S.J., KAYE, S., KIRK, S., FRENCH, P., WELLER' I. V. D. the effects of early syphilis on CD4

- counts and HIV-1 RNA viral loads in blood and semen. **Sexually Transmitted Infections**, **81**:380-385, 2005.
- SAIKKU, P. The epidemiology and significance of *Chlamydia pneumoniae*. **Journal of Infection**, **25**: 27-34, 1992.
- SAIKKU, P., LEINONEN, M., MATTILA, K., EKMAN M.R., NIEMINEN M.S., MÄKELÄ P.H., HUTTUNEN J.K., VALTONEN, V. Serological evidence of an association of a novel Chlamydia, TWAR, with chronic coronary heart disease and acute myocardial infarction. **Lancet (2)**: 983-986, 1988.
- SAIKKU, P., WANG, S.P., KLEEMOLA, M., BRANDER, E., RUSANEN, E., GRAYSTON, J.T. An epidemic of mild pneumonia due to an unusual strain of *Chlamydia psittaci*. **Journal of Infectious Disease**, **151**: 832-9, 1985.
- SÁNCHEZ, P. J., WENDEL, G. D., GRIMPREL, E., GOLDBERG, M., HALL, M., RADOLF, J. D. Evaluation of Molecular Methodologies and Rabbit Infectivity Testing for the Diagnosis of Congenital Syphilis and Neonatal Central Nervous System Invasion by *Treponema pallidum*. **The Journal of Infectious Disease**, **167**: 148-157, 1993.
- SANTOS, C., TEXEIRA, F., VICENTE, A., ASTOLFI-FILHO, S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus – AM, Brazil, by PCR. **Brazilian Journal Infectious Diseases**, **7 (2)**: 91-95, 2003.
- 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, Brazil, 1992. **Caderno de Saúde Pública**, **11 (2)**: 212-225, 1995.

- SAROV, B., SAAH, A.J., LEVY, E., ELSANA, S., SAROV, I., RINALDO, C.R., DETELS, R., PHAIR, J., KASLOW, R., GISNBERG, H. Chlamydia specific IgG and IgA serum antibodies in a study of homosexual men at various clinical stages of HIV related disease. **In Vivo**, **8(4)**: 593-597, 1994. 
- SARTIN, J. S., PERRY, H. O. From mercury to malaria to penicillin: the history of the treatment of syphilis at the Mayo Clinic. **Journal of the American Academy of Dermatology**, **32**: 255–261, 1995.
- SCHACHTER, J., CALDWELL, H. D. Chlamydiae. **Annual Reviews in Microbiology**, **34**: 285 – 309, 1980.
- SCHACHTER, J., GROSSMAN, M., SEET, R. L. Prospective study of perinatal transmission of Chlamydia trachomatis. **Journal of American Medical Associations**, **225**: 3374- 7, 1986.
- SCHACHTER, J., OSOBA, A.O. Lymphogranuloma Venereum. **British Medical Bulletin**, **39**: 151-154, 1983.
- 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., OCJIUS, 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.

SCHOFER, H., IMHOF, M., THOMA-GREBER, E., BROCKMEYER, N.H., HARTMANN, M., GERKEN, G., PEES, H.W., RASOKAT, H., HARTMANN, H, SADRI, I, EMMINGER, C., STELLBRINK, H.J., BAUMGARTEN, R., PLETTENBERG, A. Active syphilis in HIV infection: a multicentre retrospective survey. **Genitourinary Medicine**, **72**: 176–81, 1996.

SEABRA, N.J. A AIDS no Estado de São Paulo. As mudanças no perfil da epidemia e perspectivas da vigilância epidemiológica. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, **5(2)**: 286-310, 2002.

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(2)**: 125-133, 2002.

SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE/ MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Doenças Infeciosas e parasitárias**. Brasília, Ministério da Saúde; 2005. p. 267-272

SEÑA, A.C., TORRONE, E.A., LEONE, P.A., FOUST, E., HIGHTOW-WEIDMAN, L. Endemic Early Syphilis among Young Newly Diagnosed HIV-Positive Men in a Southeastern U.S. **State AIDS Patient Care and STD**, **22(12)**: 955-963, 2008.

SHEFFIELD, J. S., P. J. SANCHEZ, G. MORRIS, M. MABERRY, F. ZERAY, D. D.


SIGNORINI, D.J.H.P., MONTEIRO, M.C.M., SÁ, C. A. M, SION, F.S., NETO, H.G.L., LIMA, D.P., MACHADO, J.D.C. Prevalência da co-infecção HIV-sífilis em um hospital universitário da cidade do Rio de Janeiro no ano de 2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical** **40(3)**: 282-285 2007.

SIMON F., MAUCLÈRE, P., ROQUES, P., LOUSSERT-AJAKA, I., MÜLLER-TRUTWIN, M.C., SARAGOSTI, S., GEORGES-COURBOT, M.C., BARRÉ-SINOUSI, F., BRUN-VÉZINET, F. Identification of a new human

- immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. **Nature Medicine**, **4**:1032-7, 1998.
- SINGH, A.E., ROMANOWSKI, B. Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic, and some biologic features. **Clinical Microbiology Reviews**, **12**: 187-209, 1999.
- SMITH, D.Y., SHERRARD, J. Sexually transmitted infections. **Medicine**, **35(7)**: 410-412, 2007
- SMITH, T. F., BROWN, S. D., WEED, L. A. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections by cell cultures and serology. **Laboratory and Medicine**, **13**: 92–100, 1982.
- SOARES, V. Y. R., FILHO, C. E.P. L., CARVALHO, L.I.M., SILVA, A.M.M., EULÁLIO, K.D. Clinical and epidemiological analysis of patients with HIV/AIDS admitted to a reference hospital in the northeast region of Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, **50(6)**: 327-332, 2008.
- SOTO, R. J., GHEE, A.E., NUNEZ, C.A., MAYORGA, R., TAPIA, K. A., ASTETE, S.G., HUGHES, J.P., BUFFARDI, A.L., HOLTE, S.E., HOLMES, K.K. Sentinel surveillance of sexually transmitted infections/HIV and risk behaviors in vulnerable populations in 5 Central American countries. **Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, **46(1)**:101-11, 2007.
- SOUZA, M.G., PASSOS, A.D.F., MACHADO, A.A., FIGUEIREDO, J.F.C., ESMERALDINO, L.E. Co-infecção HIV e vírus da hepatite B: prevalência e fatores de risco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, **37(5)**: 391-395, 2004.

- SRIRAM, S., STRATTON, C. W., YAO, S., THARP, A., DING, L., BANNAN, J. D., MITCHELL, W. M. Chlamydia pneumoniae infection of the central nervous system in multiple sclerosis. **Annals of Neurology** **46(1)**: 6–14, 1999.
- STAMM, W. E., TAM, M., KOESTER, M., CLES, L. Detection of *Chlamydia trachomatis* inclusions in McCoy cell cultures with fluorescein conjugated monoclonal antibodies. **Journal of Clinical Microbiology**, **17**: 666–668, 1983.
- STEINBROOK, R.M.D. The AIDS epidemic in 2004. **Massachusetts Medical Society**: 115-117, 2004.
- 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 trachomati*. **Science**, **282**: 754-759, 1998.
- STEPHENS, R.S., KOSHIYAMA, K., LEWIS, E., KUBO, A. Heparin-binding outer membrane protein of Chlamydiae. **Molecular Microbiology**, **40**: 691-699, 2001.
- STEPHENS, R.S., MULLENBACH, G., SANCHEZ-PESCADOR, R., AGABIAN, N. Sequence analysis of the major outer membrane protein gene from *Chlamydia trachomatis* serovar L2. **Journal of Bacteriology**, **168**: 1277–1282, 1986.
- STEPHENS, R.S., SANCHEZ-PESCADOR, R., WAGAR, E.A. Diversity of *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. **Journal of Bacteriology**, **169**: 3879-3885, 1987.
- 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.

- STOTHARD, D. R., WILLIAMS, J. A., VAN DER POL, B., JONES, R.B. Identification of a *Chlamydia trachomatis* serovar E urogenital isolate which lacks the cryptic plasmid. **Infection & Immunity**, **66**: 6010–6013, 1998.
- T'ANG, F.F., CHANG, H.L., HUANG, Y.T., WANG, K.C. Studies on the aetiology of trachoma with special reference of isolation of the virus in chick embryo. **Chinese Medical Journal**, **75**: 429-447, 1957.
- TEMMERMAN, M., GICHANGI, P., FONCK, K., APERS, L., CLAEYS, P., VAN RENTERGHEM, L. Effect of a syphilis control programme on pregnancy outcome in Nairobi, Kenya. **Sexually Transmitted Infections**, **76**: 207-11, 2000.
- TERRI, P.P., YIP, W.H., CHAN, K.T., YIP, T.L., QUE, M.M., LEE, N.S., KWONG, C.K. Incidence of neonatal chlamydial conjunctivitis and its association with nasopharyngeal colonization in a Hong Kong hospital, assessed by polymerase chain reaction. **Hong Kong Medical Journal**, **13**: 22-6, 2007.
- THOMAS, N. LUSHER, S., M., STOREY, C. C., CLARKE, I. N. Plasmid diversity in Chlamydia. **Microbiology** **143**:1847–1854, 1997.
- THORBURN, A. L. Fritz Richard Schaudinn, 1871-1906 Protozoologist of syphilis. **The British journal of venereal diseases**, **47**: 459, 1971.
- THYGESON, P. Etiology of inclusion blennorrhoea. **American Journal of Ophthalmology**, **17**: 1019, 1971.
- TODD, J., MUNGUTI, K., GROSSKURTH, H., MNGARA, J., CHANGALUCHA, J., MAYAUD, P., MOSHA, F., GAVYOLE, A., MABEY, D., HAYES, D. Risk factors for active syphilis and TPHA seroconversion in a rural African population. **Sexually Transmitted Infection**, **77**: 37–45, 2001.

- TOSITTI, G., RASSU, M., FABRIS, P., GIORDANI, M., CAZZAVILLAN, S., REATTO, P., ZOPPELLETTI, M., BONOLDI, M., BALDO, V., MANFRIN, V., DE LALLA, F. Chlamydia pneumoniae infection in HIV-positive patients: prevalence and relationship with lipid profile. **HIV Medicine**, **6(1)**: 27-32, 2005. 
- UMENAI, T., BARUA, S., OSAKA, W., ITOH, C., NACAGONI, O., TANAKA, T., SATO, N., SUZUKI, H., HIROI, M., MIZOGUCHI, J., HATAKEYAMA, Y., ENDO, C., HONDA, S., KATAMINE, S. Detection of HIV-1 and HIV-2 antibodies among Chlamydia trachomatis infected pregnant women in Japan. **Tokohu Journal of Experimental Medicine**, **178(4)**: 447- 450, 1996.
- UNAIDS/WHO. **AIDS epidemic update**: December 2007, World Health Organization. Disponível em <http://www.unaids.org/en/HIV_data/epi2007/>. Acesso em: 20/02/08.
- VALLINOTO, A.C.R., SANTOS, D.A., ROSAL, E.C., PONTES, G.S., RODRIGUES, A.M.V., MACHADO, L.F.A. Avaliação Sorológica e Fatores de Risco Associados à Sífilis. **Revista Paraense de Medicina**, **17**: 29-33, 2003.
- VALL-MAYANS, M., NOGUER, I. Brotes de Linfogranuloma Venéreo entre hombres homosexuales em Europa, 2003-2004. **Enfermedades infecciosas y microbiología clínica**, **24**:137-138, 2006.
- VAN DE LAAR, M. The emergence of LGV in Western Europe: what do we know, what can we do? **Eurosurveillance**, **11**: 146-8, 2006.
- VANDENBRUAENE, M., OSTYN, B., CRUCITTI, T., DE SCHRIJVER, K., SASSE, A., SERGEANT, M., VAN DYCK, E., VAN ESBROECK, M., MOERMAN, F. Lymphogranuloma venereum outbreak in men who have sex with men (MSM) in Belgium, January 2004 to July 2005. **Euro Surveillance** **10 (39)**: 2801, 2005.

- VASIC, A., TASIC, N.M., ZDRAVKOVIC D., TASIC, S. Chlamyfast-oia test in the genital chlamydia male infection diagnosis. **Acta Medica Medianae**, **43**: 33-36, 2004.
- VAULES M.B., RAMIN K.D., RAMSEY P.S. Syphilis in pregnancy: a review. **Microbes and Infection**, **4**: 1133-1140, 2002.
- VIDHANI, S., MEHTA, S., BHALLA, P., BHALLA, R., SHARMA, V.K., BATRA, S. Seroprevalence of *Chlamydia trachomatis* infection amongst patients with pelvic inflammatory diseases and infertility. **The Journal of Communicable Diseases**, **37(3)**:233-238, 2005.
- WALKER, G. T., LITTLE, M. C., NADEAU, J. G. SHANK, D. D. Isothermal in vitro amplification of DNA by a restriction enzyme/DNA polymerase system. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, **89**: 392 – 396, 1992.
- WALLACE, L.A., YOUNG, H., CODERE, G., *et al.* Genital herpes simplex, genital chlamydia and gonorrhoea infection in Scotland: laboratory diagnoses 1993–2003. **Scottish Centre for Infection and Environmental Health, Weekly Report**, **38**: 110–15, 2004.
- WANG, G., BURCZYNSKI, F., HASINOFF, B., ZHONG, G. Infection of myocytes with chlamydiae. **Microbiology**, **148**: 3955–3959, 2002.
- WANG, S. P. & GRAYSTON, J. T. Human serology in *Chlamydia trachomatis* infection with microimmunofluorescence. **Journal of Infectious Diseases**, **130**: 388-397, 1974.
- WARD, H., MARTIN, I., MACDONALD, N., ALEXANDER, S., SIMMS, I., FENTON, K., FRENCH, P., DEAN, G., ISON, C. Lymphogranuloma venereum in the United Kingdom. **Clinical of Infectious Disease**, **44 (1)**: 26-32, 2007.

- WATSON, E.J., TEMPLETON, A., RUSSEL, I. The accuracy and efficacy of screening tests for *Chlamydia trachomatis*: a systematic review. **Microbiology**, **43**: 577-84, 2005.
- WAUGH, M. The centenary of *Treponema pallidum*: on the discovery of Spirochaeta pallida. **Skinmed**, **4**: 313-5, 2005.
- WAZIR, S., KUMAR, L., SETHI, S., SHARMA, M. Seroprevalence of *Chlamydia pneumoniae* in Asthmatic Children from Northern India. **Indian Pediatrics**, **44**: 133-136, 2007.
- WEINSTOCK, G.M., HARDHAM, J.M., McLEOD, M.P., SODERGREN, E.J, NORRIS, S.J. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis. **FEMS Microbiology Reviews**, **28**: 323-332, 1998.
- WEST, S. K. Trachoma: new assault on an ancient disease. **Progress in Retinal and Eye Research**, **23**: 381–401, 2004.
- WEST, S.K., CONGDON, N., KATALA, S., MELE, L. Facial cleanliness and risk of trachoma in families. **Archives of Ophthalmology**, **109**: 855–7, 1991.
- WICHER K., HOROWITZ H.W., WICHER V. Laboratory methods of diagnosis of syphilis for the beginning of the third millennium. **Microbes and Infection**, **1**: 1035-1049, 1999.
- WILFERT, C.M., GUTMAN, L.T. *Chlamydia trachomatis* infections of infants and children. **Advances in Pediatrics**, **33**: 49-76, 1986.
- WILSON, M., OTTH, L., FERNÁNDEZ, H., HOFMANN, I., NAVARRETE, M. Antibodies Anti-*Chlamydia pneumoniae* and Anti- *Mycoplasma pneumoniae* in Patients with Negative Serology for Hantavirus. Retrospective Study **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, **96(8)**: 1135-1136, 2001.

WONG-STAAAL, F., GALLO, R.C. Human T-lymphotropic retroviruses. **Nature**, **317**: 395-403, 1985.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates. World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of the Eighth Meeting of the WHO Alliance for the Global Elimination of Trachoma. Geneva: World Health Organization, 29-31, 2004.

WYRICK, P.B. *C. trachomatis*: infection strategies of the ultimate intracellular pathogen. **American Society for Microbiology**, **68**: 70– 76, 2002.

YUAN, Y., ZHANG, Y.X., WATKINS, N.G., CALDWELL, H.D. Nucleotide and deduced amino acid sequences for the four variable domains of the major outer membrane proteins of the 15 *Chlamydia trachomatis* serovars. **Infection & Immunity**, **57**: 1040–1049, 1989.

ZHONG, G., FAN, T., LIU, L. Chlamydia inhibit interferon gamma-inducible major histocompatibility complex class II expression by degradation of upstream stimulatory factor I. **Journal of Experimental Medicine**, **189**: 1931-1938, 1999.

ZHOU, J., AIKEN, C. Nef Enhances Human Immunodeficiency Virus Type 1 infectivity resulting from interviriion fusion: Evidence supporting a role for Nef at the virion envelope. **Journal of Virology**, **75**: 5851-5859, 2001

ANEXO 1

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

Estou sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa sobre “**Avaliação clínico-epidemiológica de fatores de natureza viral e de cunho infeccioso (co-infecções virais e bacterianas) que influenciam o curso da doença em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana do tipo 1**” que está sendo desenvolvida pelo Laboratório de Virologia do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará.

Para que eu decida em participar ou não da pesquisa me foram prestadas as seguintes informações:

- **O título do projeto é:** “Avaliação clínico-epidemiológica de fatores de natureza viral e de cunho infeccioso (co-infecções virais e bacterianas) que influenciam o curso da doença em indivíduos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana do tipo 1”.
- **O pesquisador responsável é o Prof. Dr. Ricardo Ishak, Biomédico, Professor Titular da Universidade Federal do Pará.**
- **O objetivo da pesquisa é aumentar o conhecimento vigente acerca da infecção pelo HIV, monitorando o aparecimento de novas cepas circulantes na região e correlacionando com os quadros clínicos, com as co-infecções por vírus e bactérias e com marcadores genéticos do hospedeiro.**
- **Durante a pesquisa o paciente deverá responder a um questionário, depois será submetido a uma coleta de sangue para exame de laboratório.**
- **Essa pesquisa não oferece riscos, porque as práticas são de uso rotineiro. Uma pequena quantidade de sangue (5mL) será coletada para a detecção de co-infecções, marcadores genéticos do vírus e do hospedeiro.**
- **Serão utilizados materiais esterilizados descartáveis, como agulhas e seringas, não oferecendo risco para a pessoa.**
- **Ninguém é obrigado a participar da pesquisa, assim como qualquer pessoa poderá deixar a pesquisa no momento que quiser, pois não haverá prejuízo pessoal por esta causa.**
- **Esta pesquisa não oferece qualquer possibilidade de ajuda financeira aos voluntários que participaram.**
- **O grande benefício desta pesquisa para todos os que participam, ou não, é possibilitar um melhor entendimento sobre os subtipos do HIV-1 circulantes em nossa região, as possíveis associações com marcadores genéticos de resistência e o impacto das co-infecções na progressão para SIDA/AIDS.**
- **A participação na pesquisa é sigilosa, isto significa que, somente os pesquisadores ficarão sabendo de sua participação. Os dados utilizados na pesquisa terão uso exclusivo neste trabalho, sem a identificação individual do participante.**

Assinatura do Pesquisador responsável

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Declaro que li as informações acima sobre a pesquisa, que me sinto perfeitamente esclarecido (a) acerca do conteúdo da mesma, assim como seus riscos e benefícios. Declaro ainda que, por minha livre vontade, aceito participar da pesquisa cooperando com a coleta de material para exame.

Belém, ____/____/____

Assinatura da participante:

Prontuário: _____

Protocolo: _____

Universidade Federal do Pará, Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Patologia, Laboratório de Virologia, Fone/fax: (91) 32017587/ e-mail: rishak@ufpa.br

ANEXO 2

SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
LABORATÓRIO DE VIROLOGIA

PROJETO: HIV-UREDIPE**QUESTIONÁRIO EPIDEMIOLÓGICO**

1. Prontuário n°: _____ Protocolo n°: _____ Data da coleta de dados: _____
 2. Nome do Paciente: _____
 3. Data da coleta de amostra - 1ª coleta: _____ 2ª coleta: _____ 3ª
 coleta: _____

Dados epidemiológicos

4. Sexo A. Masculino B. Feminino
 5. Data de nascimento: ____/____/____ Idade ____ anos
 6. Estado Civil: A. Casado B. Solteiro C. Separado D. Viúvo
 7. Naturalidade: _____
 8. Bairro: _____
 9. Município: _____ 11. CEP: _____
 10. Município de residência anterior (se reside há menos de 05 anos no endereço atual): _____
 11. Data da última sorologia negativa: ____/____/____ Data da primeira sorologia positiva _____
 12. Idade da 1ª relação sexual: _____
 13. Escolaridade
 A. Não alfabetizado D. 1º grau completo G. 3º grau incompleto
 B. Alfabetizado E. 2º grau incompleto H. 3º grau completo
 C. 1º grau incompleto F. 2º grau completo
 14. Renda familiar (salários): a) < 1 b) 1-3 c) 4-6 d) 7-10 e) > 10
 15. Categoria de exposição
 A. Homossexual E. Usuário de droga não-EV? 1. Álcool 2. Cigarro 3. Maconha
 B. Bissexual F. Hemofílico
 C. Heterossexual G. Transfusão de sangue (após 1980) Local: _____
 D. Usuários de drogas EV H. Outros, quais _____
 16. Uso de droga endovenosa alguma vez
 17. A. Sim, mas não quer comentar B. Sim C. Não D. Não quer comentar
 18. Há quanto tempo faz uso de drogas endovenosas _____ Anos
 19. Parou? Sim Não _____ Ano do último uso.
 20. Como você costumava fazer uso de seringa e agulha (antes do diagnóstico de HIV)
 21. sempre sozinho B. dividia com uma pessoa fixa C. dividia com mais de uma pessoa
 22. Você já fez uso de drogas injetáveis com seringas ou agulhas compartilhadas com:
 A) pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros estados?
 1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais estados:

B) pessoas que são de, ou, normalmente viajam para outros países?

1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, de onde: _____

21. Comportamento sexual

- | | |
|---|--|
| 1. com homens | 6.com múltiplos(a) parceiros(a) |
| 2. com mulheres | 7.com parceiro(a) transfundido |
| 3. com homens e mulheres | 8.com parceiro hemofílico |
| 4. com parceiro(a) usuário
drogas não-injetáveis | 9.com parceiro(a) portador de HIVde |
| 5. com parceiro(a) usuário
de drogas EV | 10.com parceiro(a) portador de SIDA/AIDS |

22. Seleção de Parceiros

- Antes do HIV: Fixo Não Fixo Quantos por semana? _____

- Depois do HIV: Fixo Não Fixo Quantos por semana? _____

23. Parceiro(s) de (ou em) outro(s) estado(s)?

1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais Estados: _____

24. Parceiro(s) de (ou em) outro(s) país(es)?

1. Sim 2. Não 3. Não sabe Se sim, quais países: _____

25. Sexo anal: Ativo Passivo Nunca Não se aplica

26. Sexo com prostituta(o) 1.Sim 2. Não 3. Não sabe

27. Uso de preservativo:

Antes do HIV? 1. Sempre 2. Nunca 3. Às vezes

Depois do HIV? 1. Sempre 2. Nunca 3. Às vezes

29. Preservativo na última relação sexual? 1.Sim 2. Não

30. Preservativo em relação sexual eventual? 1.Sim 2. Não

31. História de DST: Sim Não

Freqüência: 01 01 a 05 Mais de 05

Quais lembra: _____

Diagnóstico Clínico: Sim Não

Diagnóstico Laboratorial: Sim Não

32. Foi vacinado contra hepatite B? 1.Sim 2. Não 3. Não sabe

33. Já teve hepatite? 1.Sim 2. Não Qual? 1.HAV 2.HBV 3.HCV 4. Não sabe

Diagnóstico Clínico: Sim Não

Diagnóstico Laboratorial: Sim Não

34. Uso de antiretroviral: 1. Não 2. Sim

Quais: _____

Data de início da terapia:

Alguma vez abandonou o tratamento? a) Sim Quantas vezes? _____

b) Não

Último uso (medicamento): Hora: _____



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



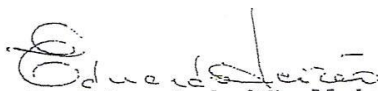
ANEXO 3



TERMO DE APROVAÇÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário João de Barros Barreto da Universidade Federal do Pará analisou o projeto de pesquisa intitulado “Avaliação clínico-epidemiológico de fatores de natureza viral e de cunho infeccioso (co-infecções virais e bacterianas), que influenciam o curso da progressão da doença no indivíduo infectado pelo Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1”, protocolo nº 2092/05, sob a responsabilidade dos pesquisadores, *Luiz Fernando Almeida Machado, Antonio Carlos Rosário Vallinoto, José Alexandre Rodrigues de Lemos, Maria Helena Pessoa Chaves, Rosimar Neris Martins, Vânia Nakauth Azevedo, Isaura Maria Cayres Vallinoto e Marluísa de Oliveira Guimarães Ishak* e Coordenação do *Prof. Dr. Ricardo Ishak*, obtendo **APROVAÇÃO** na reunião do dia 20/02/2006, por estar de acordo com a Resolução nº 196/96 e suas complementares, do Conselho Nacional de Saúde / Ministério da Saúde do Brasil.

Belém, 20 de fevereiro de 2006


Dr. Eduardo Leitão Maia

COORDENADOR DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA / HUJBB/UFPA

Hospital Universitário João de Barros Barreto - Coordenadoria de Atividades Acadêmicas
Rua dos Mundurucus, 4487 - Guamã CEP. 66.073-000 Belém-Pará Fone:3201 6653 / FAX:3201 6652