

IDENTIFICAÇÃO DE *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*, *MYCOPLASMA HOMINIS* E *UREAPLASMA UREALYTICUM*, EM GESTANTES E NÃO GESTANTES

CHLAMYDIA TRACHOMATIS, *MYCOPLASMA HOMINIS* AND *UREAPLASMA UREALYTICUM*
IDENTIFICATION IN PREGNANTS AND NON PREGNANTS WOMEN

Carla A Bastos¹, Renato S Bravo², Helena R Lopes³, Claudio Figueiredo³

RESUMO

Chlamydia trachomatis, o *Mycoplasma hominis* e o *Ureaplasma urealyticum* são agentes causadores de endocervicite em mulheres sexualmente ativas. A ausência de diagnóstico e/ou tratamento representam um grave problema de saúde pública, e podem evoluir para uma série de complicações como: endometrite, doença inflamatória pélvica, esterilidade e infecções neonatais (pulmonares e oftálmicas). **Objetivos:** Determinar a frequência de endocervicite por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*, em mulheres atendidas numa clínica privada de ginecologia e obstetrícia no bairro de Ramos município do Rio de Janeiro, e ainda correlacionar a eficácia do tratamento com 1 g de Azitromicina em dose única. **Pacientes e Métodos:** Foi realizado um estudo prospectivo com mulheres sexualmente ativas com idade entre 15 e 49 anos que procuraram atendimento ginecológico e/ou obstétrico por motivos diversos e que não fizeram uso de medicação até 15 dias antes. O estudo envolveu dados como: anamnese, exame ginecológico para colpocitologia oncotica e coleta de material endocervical com conjunto específico (ELISA-Sistema Automatizado Mini-Vidas para *Chlamydia trachomatis* e *Bio Merieux* para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*) através do Laboratório Roseli. **Resultados:** a amostra constituiu-se de 123 pacientes (58 gestantes e 65 não gestantes). Detectou-se antígenos de *Chlamydia* em 3,2% da população estudada (3,4% nas não gestantes e 3% nas gestantes). Porém, a amostra detectou uma frequência de 17,8% de pacientes positivas para *Ureaplasma* e *Mycoplasma* (16,9% nas não grávidas e 18,9% nas grávidas). **Conclusão:** Os achados clínicos e colpocitológicos não foram suficientemente específicos para o diagnóstico destas infecções genitais femininas, e sendo assim, o rastreamento como rotina destas bactérias em mulheres sexualmente ativas pode oferecer importantes benefícios. **Palavras-chave:** Infecção por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*, DST, Azitromicina

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* are aetiopathological agents of endocervicitis in sexually active women. The lack of diagnose and/or treatment may represent a huge Public Health problem and can turn into a series of complications as: endometritis, inflammatory pelvic disease, sterility, and neonatal infections (pulmonary and ophthalmological). **Objectives:** Our aim was to determine the frequency of endocervicitis caused by *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*, in women which were attended at a private Gynaecology and Obstetrics clinic in Ramos (Rio de Janeiro-Brasil), and also correlates the results of their treatment with 1 gr of azitromicin. **Patients and Methods:** A prospective study was made in sexually active women with age ranging between 15 and 49 years old, which had looked for G&O attendance, for different reasons, and hadn't been taken medication for at least 15 days before medical appointment. This study was data based on: interview, gynaecological exam with pap smear sampling and endocervical scraping specimens analyzed by specific methods (ELISA-SYSTEM for *Chlamydia trachomatis*, and *Bio Merieux* for *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum*). **Results:** The study sample consisted of 123 patients (58 pregnant and 65 non-pregnant). *Chlamydia* antigens were detected in 3,2% of the studied population (3,4% non-pregnant and 3% pregnant). Therefore the study sample detected a frequency of 17,8% positive patients for *Ureaplasma* and *Mycoplasma* (16,9% non-pregnant and 18,9% pregnant). **Conclusion:** The clinical and colpocytological findings weren't specific enough to diagnose those genital infections, this way, routine screening of those bacteria, in sexually active women may improve the diagnostic rate and offer important benefits for the female population.

Keywords: *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, and *Ureaplasma urealyticum* infection, STD, Azitromicin

ISSN: 0103-0465

DST - J bras Doenças Sex Transm 14(1): 31-37, 2002

INTRODUÇÃO

A escassez de trabalhos de levantamentos relacionados a endocervicite por *C. trachomatis*, *U. urealyticum* e *M. hominis* no Brasil, especialmente em nossa região, Rio de Janeiro, nos motivou a tentar buscar dados referentes a tal infecção com a finalidade de estabelecer sua frequência na população feminina de gestantes e não gestantes no nosso meio.

Muito se tem falado no Brasil a respeito de infecções genitais sexualmente transmissíveis com envolvimento da *C. trachomatis*, *U.*

urealyticum e *M. hominis*. Normas do Ministério da Saúde, Manual do Controle das DST da Coordenação Nacional de DST/Aids publicada recentemente em 1999, orienta que, frente a casos de síndromes de corrimento uretral, endocervicite ou salpingite devam ser tratados com medicações específicas visando combater *N. gonorrhoeae* e a *C. trachomatis* simultaneamente. Tais orientações estão apoiadas não em pesquisas nacionais, mais em dados internacionais, que podem ou não ser similares aos existentes aqui.

Outro dado importante prende-se ao fato que grupos de uma população de uma determinada região podem ter etiologias diferentes em uma mesma sintomatologia infecciosa. Por isso, desenvolvemos este trabalho buscando em primeiro momento estudar mulheres em duas situações (gestantes e não gestantes), pacientes de um consultório privado (particular e convênio), localizado no Município do Rio de Janeiro, no bairro de Ramos.

¹ Médica Ginecologista, Especialista em DST

² Prof. Adjunto-Doutor MMI/UFF

³ Prof. Adjunto-Doutor, Depat. Microbiologia e Parasitologia/UFF

³ Prof. Adjunto, Bacteriologia, MIP/CMB/CCM/UFF

OBJETIVOS

Geral

- determinar a frequência de endocervicite por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* em gestantes e não gestantes atendidas em uma clínica privada de ginecologia e obstetrícia no bairro de Ramos no município do Rio de Janeiro.

Específicos

- diagnosticar e tratar as mulheres com endocervicite por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* confirmadas.
- testar a eficácia da Azitromicina em dose única oral de 1g, no tratamento da endocervicite por *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* em gestantes e não gestantes.
- identificar o perfil sócio econômico e os dados da história sexual das mulheres com diagnóstico laboratorial confirmado.

Benefícios esperados

- reduzir a taxa de contaminação vertical, principalmente da pneumonia e infecção ocular no recém-nato das grávidas com as infecções citadas após tratamento.
- diminuir a taxa de rotura prematura das membranas e partos prematuros das grávidas com as infecções citadas.
- diminuir a transmissão de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* para os parceiros sexuais das pacientes pesquisadas e contaminadas.
- diminuir a taxa de infecção no trato genital superior das pacientes pesquisadas e contaminadas.

METODOLOGIA

A pesquisa se propôs a estudar mulheres com idade entre 15 a 49 anos, gestantes e não gestantes, sem o uso de quaisquer medicações vaginais, corticóides ou antibióticos por via sistêmica nos últimos quinze dias que procuraram uma Clínica Privada no bairro de Ramos, município do Rio de Janeiro, durante o ano de 1999.

As pacientes foram consultadas sobre sua inserção na pesquisa, fato que só ocorreu com o seu consentimento informado e/ou de seus responsáveis legais. O estudo envolveu dados de anamnese em ficha de atendimento padrão, exames ginecológicos com coleta de material para colpocitologia oncológica e da endocervicite para pesquisa de antígenos de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*.

Os dados de anamnese visaram identificar o perfil socioeconômico e hábitos sexuais das pacientes.

A colpocitologia foi realizada de acordo com a técnica clássica (coleta tríplice) e coloração por Papanicolaou. Após tal coleta, foram introduzidos dois coletores específicos na endocervicite para pesquisa de *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum*, por 5 a 10 segundos, realizando-se movimentos rotativos para assegurar maior coleta de células epiteliais. Estes foram retirados sem tocar na parede vaginal e colocados corretamente nos tubos para transporte próprio, previamente identificado.

REVISÃO DA LITERATURA

Mycoplasma ureaplasma

Conforme referido por Passos, 1995¹, os *Mycoplasmas* constituem o grupo dos menores microorganismos entre os procariontes, não apresentam parede celular definida (não possuem ácido murâmico), são

gram-negativos, tingem-se pela técnica de *Giemsa*, reproduzem-se por fissão binária e são resistentes à penicilina, fazendo com que os antibióticos do grupo das beta-lactaminas, que alteram eletivamente a parede bacteriana, sejam inativos. A ausência da parede celular lhes permite serem altamente pleomórficos, podendo ser considerados intermediários, entre as bactérias e os vírus. Existem em formas filamentosas longas 1 μ , a formas arredondadas de 90nm de diâmetro. São cultivados em meios artificiais. O material é semeado diretamente em meio líquido ou sólido, contendo penicilina e extrato de tálho, para inibir o crescimento de bactérias contaminantes

Parece que a maioria dos *Mycoplasmas* infecta os homens e animais aderindo firmemente a mucosa epitelial dos tratos respiratórios ou urogenital, fato que os protege de serem eliminados pelas secreções, sendo portanto considerados parasitas de superfície.

A união do *Mycoplasma* com a célula hospedeira ocasiona uma maior concentração de produtos tóxicos excretados pelo parasita, irritando e lesando os tecidos envolvidos. A falta de parede celular facilita um contato direto da membrana plasmática dos *Mycoplasmas* com a da célula hospedeira, facilitando a transferência de antígeno entre os dois

Nas mulheres os *Mycoplasmas* penetram no canal cervical e dali, ascendem à cavidade endometrial provocando endometrite granulomatosa subclínica (Camano, 1988)². Consequentemente, existe um ambiente hostil para a nidação do ovo fecundado, causando esterilidade, gravidez ectópica ou aborto habitual. É provável ainda que eles sejam transportados pelos espermatozoides através de adesividade, não interferindo na motilidade e na sobrevivência dos mesmos. Os *Mycoplasmas* requerem para seu crescimento meios de culturas ricos e complexos. Utilizam os meios líquidos A3, U9 e M42 e o meio sólido A7 para o isolamento, identificação e titulação. (Passos, 1995)¹

O meio A3 (Shepard) serve tanto para o transporte quanto para o enriquecimento, tendo como base a Triptocaseína de soja e a L-Cisteína, e como complemento o soro de cavalo, extrato de levedo, penicilina e fungizone. O meio U9 (Shepard) é utilizado para a identificação do *Ureaplasma urealyticum* e possui, como substrato, a uréia, que é hidrolisada pelo *Ureaplasma urealyticum*, liberando amônia e causando alteração na cor do meio, de amarelo para lilás. Já o meio M42, rico e complexo, é utilizado para a identificação do *M. hominis* e contém como substrato a arginina, que é metabolizada pelo *M. hominis*, liberando amônia e causando alteração na cor do meio, de amarelo para lilás.

Para a titulação dos *Mycoplasmas* deverá ser levado em consideração valores >10.000 colônias/ml. Este número demonstra um desequilíbrio da flora comensal e poderá causar distúrbios importantes no trato genital.

Chlamydia trachomatis

Em virtude do pequeno tamanho e do parasitismo intracelular obrigatório, as *Chlamydia s* foram consideradas vírus, desde sua descrição original até os anos 60. Entretanto, possuem parede celular característica, ribossomos, DNA e RNA, e funções metabólicas que confirmam sua natureza bacteriana (quadro 1).

QUADRO 1 - Características distintas de *Clamídias*

- Parasitas Intracelulares obrigatórios
- Deficiência na produção de ATP endógeno
- Contém DNA, RNA e ribossomos procariontes típicos
- Membrana externa semelhante a de outras bactérias Gram-negativas
- Ciclo de desenvolvimento dimórfico que ocorre na inclusão intracelular citoplasmática
- Genoma pequeno (1/8 da *E. Coli*)
- Extrema diversidade na homologia de DNA

Fonte: Schachter, 1999.³

A primitiva correlação da *Chlamydia* com as Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST), ocorreu em 1910, quando foi descrita a associação de conjuntivite de inclusão em recém-nascidos, a Uretrite Não Gonocócica (UNG) e cervicite maternas. Nos anos 30 foi relacionada ao linfogranuloma venéreo (Schachter, 1999)³.

As *Chlamydia s* têm proteínas antigênicas na membrana que induzem a ativação dos mecanismos imunológicos humorais e celulares, inclusive a produção de imunoglobulinas específicas das classes IgA, IgM e IgG, bem como cromocitinas, interleucinas, interferons e o fator de necrose tumoral. Com ataques antigênicos repetidos ou prolongados, as interações entre os antígenos chlamydiais e a defesa imunológica celular do hospedeiro geram a formação de cicatrizes e o dano funcional observados nas infecções por *Chlamydia*.

O dano aos tecidos talvez seja causado por reações de hipersensibilidade retardadas a proteínas chlamydiais de choque térmico *Heat Shock Proteins (HSP)* sensibilizantes, produzidas pela interação hospedeiro/parasita. As HSP *Chlamydia* e humanas têm uma extensa homologia aminoácida, e as HSP da *Chlamydia* poderiam sensibilizar os linfócitos para responder a HSP humanas de reação cruzada. A expressão desses antígenos nas células do tecido hospedeiro poderiam induzir uma resposta imunológica dirigida contra as células expressoras, resultando na destruição, por exemplo, de células das tubas uterinas. Os níveis de anticorpos das HSP da *Chlamydia* no soro estão correlacionadas ao grau de dano ao tecido tubário. Assim, o parâmetro patológico dos ataques antigênicos da *Chlamydia* sobre o sistema imunológico é a morte celular, a formação de cicatrizes e o prejuízo funcional (Schachter, 1999)³.

As infecções por *Chlamydia s* são as DST mais comuns nos EUA e, provavelmente, na maioria dos países desenvolvidos. Não sendo uniformemente notificada nos EUA, somente são disponíveis estimativas grosseiras das infecções, baseadas na extrapolação de dados de clínicas particulares, e os serviços de Saúde Pública dos Estados Unidos calculam que ocorram 3,5 milhões de casos por ano.

A prevalência de infecções genitais por *C. trachomatis* varia de acordo com a população estudada.

Em Paris, a *C. trachomatis* foi encontrada em 22% das adolescentes do sexo feminino; em 17% das mulheres atendidas em clínicas de DST, e em 2% de mulheres atendidas em clínica de pré-natal (Shafer *et al.*, 1993)³.

Estudo realizado na Itália, demonstrou que dentre 2.071 mulheres portadoras de infecção genital, a *C. trachomatis* esteve presente em 5% (Fedele *et al.*, 1993)⁵.

Na Grécia, Boutis (1994) (*apud* Linhares *et al.*, 1996)⁶ examinando 400 mulheres sexualmente ativas e assintomáticas, verificaram a presença de *C. trachomatis* em 4% dos casos.

No estado da Virgínia (EUA), o grupo de Swinker, em 1988, encontrou a bactéria em 8,1% de 479 universitárias sexualmente ativas que procuraram atendimento ginecológico de rotina. Segundo Schachter, as infecções por *C. trachomatis* acometem 10-20% de adolescentes do sexo feminino sexualmente ativas nos EUA (Schachter *et al.*, 1989)⁷.

Em nosso país, a *C. trachomatis* ocorreu em 9% de mulheres com queixa de corrimento vaginal e em 12% de mulheres assintomáticas atendidas no ambulatório de ginecologia do Hospital Universitário na cidade de São Paulo (Linhares *et al.*, 1996)⁶. Na cidade de Porto Alegre, estudiosos verificaram a presença desta bactéria em 4% de 110 mulheres atendidas em Serviço de Planejamento Familiar (Passos *et al.*, 1994)⁸.

Em estudo retrospectivo de pacientes de um ambulatório de Ginecologia do Rio de Janeiro, Rodrigues e Cols, estudando 113 pacientes encontraram trinta e sete pacientes (33%) da amostra com positividade no teste de imunofluorescência direta para *C. trachomatis*, estando 82% na idade reprodutiva.⁹

Varella & cols. em uma amostra de 108 pacientes das quais, 69 eram da rede pública de atendimento de saúde e, 39 de clínica privada,

tiveram a oportunidade de detectar antígenos clamidiais em 20 mulheres, sendo a positividade de 18,8% (16/69) na rede pública e 18% no serviço privado.¹⁰

Em outro estudo, Frias *et al.*, em uma amostra constituída de 100 pacientes, houve a detecção de antígenos clamidiais em 5 (5%) pacientes. Para *U. urealyticum* a positividade foi de 33% e de 4%, para o *M. hominis*.¹¹

Millan relatou a ocorrência de 1,3% de acometimento faringeano em homens e mulheres com práticas de coito orogenital (Millan *et al.*, 1981).¹² Todavia, conforme Moulder, tal situação pode ter pouca importância epidemiológica (Moulder, 1982).¹³

A infecção por *C. trachomatis* pode ocorrer em várias localizações anatômicas e causar uma grande variedade de síndromes distintas.

Ainda não são bem conhecidas as bases moleculares da patogenicidade das infecções por *C. trachomatis*, embora estudos realizados em culturas de células em tecidos tenham possibilitado a identificação de vários fatores de virulência do microrganismo. Estes incluem a capacidade de reconhecer nas células do hospedeiro, sítios específicos para a ligação, a habilidade para induzir fagocitose e a capacidade de inibir a fusão com lisossomas celulares, dificultando a destruição intracelular do parasita (Washington *et al.*, 1991).¹⁴

Parece que na patogenia desta infecção, a entrada do corpúsculo dá-se por fagocitose. Não há evidências de que exista um sistema de transporte ativo que utilize ATP. De algum modo induzem sua própria fagocitose, o que é uma vantagem óbvia para um parasita intracelular obrigatório. A ingestão do corpúsculo elementar acompanha-se da perda de sua capa, com o correspondente amolecimento da parede celular. A presença da partícula infectante dentro do fagossomo, não se acompanha de fusão com os lisossomos, como acontece no processo normal da fagocitose. Os corpúsculos elementares permanecem em um vacúolo circundado por uma membrana derivada da célula hospedeira, que os protege da ação da lisozima. Sem perder a sua individualidade, os corpúsculos elementares aumentam de tamanho para formar o corpúsculo inicial que é metabolicamente ativa. Durante esta fase há intensa produção de RNA. Este processo leva de 7 a 10 horas, tempo durante o qual o fagossoma se move em direção centrípeta até o núcleo. Ao final deste tempo, forma-se o corpúsculo inicial que em 2 a 3 horas começa a sofrer fissão binária para formar mais corpúsculos. Nesta etapa ocorre o depósito de uma matriz de glicogênio, responsável pela coloração marrom de inclusão quando se aplica o Lugol.

Gradualmente, todos os corpúsculos iniciais são substituídos por corpúsculos elementares infectantes. Dá-se rotura das células hospedeiras e depois da lesão da membrana, completa-se o ciclo.

Nas mulheres a *Chlamydia* é isolada a partir do colo do útero, da uretra, dos ductos de Bartholin, das tubas uterinas, do endométrio e da mucosa retal. Cerca de 70% dos casos de infecção genital em mulheres no entanto, são oligossintomáticos. Os sintomas de cervicite e uretrite associados com infecção provocada no colo do útero são inespecíficos e podem incluir disúria, corrimento vaginal que é na verdade provocado por aumento no fluxo vaginal decorrente de hipersecreção proveniente do canal cervical pela resposta inflamatória ao microrganismo e até prurido vaginal.

A disseminação pode ocorrer não somente para o trato genital superior, mas também para a cavidade abdominal, pode resultar em manifestações clínicas que podem ser confundidas com apendicite e colecistite/pleurite.

Aspectos colposcópicos associados à infecção por *C. trachomatis*, incluem a presença de pus endocervical, aumento da vascularização superficial, hipertrofia do epitélio papilar e metaplasia imatura. A avaliação colposcópica confirma edema, hiperemia e friabilidade características na zona de transformação. O eritema afeta particularmente o epitélio colunar cervical e áreas periglandulares, podendo se estender para áreas marginais do epitélio escamoso, causando congestão vascu-

lar. Não raro pode-se visualizar uma zona de transformação atípica, mas o significado deste achado ainda não está totalmente definido (Harrison et al., 1985¹⁵, Paavonen, 1982¹⁶). Manifestações citológicas incluem a presença de linfócitos, células plasmocitárias, aumento de polimorfonucleares e número aumentado de histiócitos. Atipias epiteliais podem ocorrer tanto em células metaplásicas como endocervicais. Estes achados mostram que o pico de atividade celular ocorre na junção escamo-colunar, onde o maior número de células metaplásicas imaturas estão localizadas. Tais células podem ser mais suscetíveis aos vários agentes oncogênicos que as células escamosas. Acredita-se que a metaplasia atípica induzida por microrganismos específicos como a *C. trachomatis* ou *Herpes Simplex* poderia tornar o epitélio metaplásico mais suscetível à infecções por outros agentes, tais como: o papilomavírus humano (HPV) (Paavonen, 1982).¹⁶

O diagnóstico de infecção genital por *C. trachomatis*, no entanto, depende de identificação laboratorial específica. A infecção é oligosintomática na maioria das mulheres infectadas e em grande parte dos homens infectados. Além disso, os sintomas e sinais de infecção são altamente variáveis e podem ser causados por outros agentes infecciosos e por processos não infecciosos. A história médica e o exame físico, embora necessários em todos os casos, não são suficientemente sensíveis e específicos para a identificação dos pacientes infectados. O desenvolvimento de anticorpos monoclonais contra os microrganismos e o aumento dos conhecimentos relativos aos comportamentos do CE (corpúsculos elementares), resultaram em novos exames capazes de detectar a presença do antígeno da *Chlamydia* em amostras clínicas. Desde 1982 houve um aumento acentuado no uso de exames de detecção de antígenos nos laboratórios clínicos. Os testes de amplificação de DNA, como o PCR e a reação de ligase em cadeia (LCR) parecem ser mais sensíveis e específicos que os outros exames diagnósticos sem utilização de culturas.

No procedimento de colheita de material, vale lembrar que alguns tipos de zaragatoa são altamente tóxicos para a *Chlamydia*, sendo portanto, indicados os *Swabs* alginatados de dracão ou tamponados, sendo altamente contra indicados os de algodão puro, não tamponados. É essencial que o "sistema para transporte" não tenha ações sobre o microrganismo, de forma que este não se multiplique ou diminua. O meio deve garantir a viabilidade dos microrganismos presentes. O meio para transporte das amostras a serem cultivadas deve conter um sistema tampão fosfato, com adição de soro fetal bovino e antibióticos para inibir o crescimento de bactérias. A combinação de anfotericina B, gentamicina, nistatina e vancomicina, têm obtido bons resultados. O sistema tampão pode ser estocado durante meses a 20 °C, ou durante duas a três semanas a 4°C, antes de sua utilização. Os sistemas para transporte de amostras a serem analisadas pelos métodos de imunofluorescência direta, *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), em fase sólida ou em fase líquida e para *Polymerase Chain Reaction* (PCR) ou *Ligase Chain Reaction* (LCR) são muito mais simples, não requerendo transportes especiais, estando atualmente disponíveis no mercado mundial de insumos para laboratórios, porém devem ser específicos para cada método.

O procedimento de cultivo padrão para a *Chlamydia trachomatis* é realizado em três dias de incubação, após as quais a monocamada de células pode ser corada pelo iodo ou pelo *Giemsa*, ou ainda por um conjugado fluorescente policlonal e ou monoclonal, sendo os dois primeiros métodos observados em microscópio óptico comum, visualizando-se desta forma os corpúsculos de inclusão (CI) intracitoplasmáticos. O último método de revelação do cultivo é realizado através de um microscópio de fluorescência e permite a visualização dos corpúsculos de inclusão (CI) corados em verde-maçã fluorescente.

A detecção de infecção por *Chlamydia* por métodos diferentes de cultura (detecção antigênica) se tornou factível com o recente desenvolvimento de reagentes imunológicos específicos para os componentes da membrana externa da clamídia.

A imunofluorescência direta (IFD) usa um ou mais anticorpos monoclonais (*Mabs*) conjugados com moléculas fluorescentes. Para aplicação nesse método foram desenvolvidos anticorpos monoclonais contra antígenos específicos e gêneros (lipopolissacarídes). Até o presente, os dados sugerem que os anticorpos monoclonais contra PCME (principal componente da membrana) clamídica, resultam em melhor coloração e morfologia característica quando comparados com os anticorpos antipolissacarídes. Outros métodos para detecção rápida de componentes clamídicos utilizam um segundo anticorpo específico para *Chlamydia* marcada com uma enzima. Após a incubação da amostra com a preparação de anticorpo, adiciona-se um substrato enzimático para gerar um produto corado, que pode ser detectado visualmente ou fotométricamente.

O *Enzyme linked Immunosorbent Assay* (ELISA), e outro método que permite a demonstração da *C. trachomatis*. Trata-se de uma técnica que detecta o antígeno-anticorpo, a qual é revelada pela formação de cor em substituto cromogênico. Possui a mesma vantagem dos métodos diretos de permitir um diagnóstico rápido, entretanto requer aparelhos específicos para leitura. Esta metodologia já apresenta variáveis, podendo ser encontrada no mercado de insumos para laboratórios na forma de conjunto com reação em fase líquida e em fase sólida. Um teste de ELISA conjugado com leitura de fluorescência (Elfa-Vidas) oferece excelentes resultados e tem sido empregado de maneira muito satisfatória.

Entre outros ensaios para a detecção da *C. trachomatis*, o *Dot-Blot test* vem evidenciando um caminho promissor no diagnóstico laboratorial.

Utilizando antígenos produzidos em ovos embrionados ou em cultura de tecido celular, os anticorpos da *C. trachomatis* em pacientes portadoras de infecção *Chlamydia* na têm sido demonstrado pelo método de microimunofluorescência. Estes anticorpos podem ser pesquisados em suas classes de imunoglobulinas (IgG, IgM e IgA). Trata-se de um método de grande valor no diagnóstico de infecções profundas, tais como: LGV, tracoma, salpingite, periepatite, *Síndrome de Reiter* e pneumonia do recém-nascido, não sendo, entretanto, aconselhado para diagnóstico de infecções superficiais, como uretrites e cervicites.

A detecção direta de ácido nucleico clamídico não amplificado, incluindo as sondas comercialmente disponíveis que detectam o RNA ribossômico é menos sensível que a cultura. A sensibilidade desses testes parece ser a mesma dos ensaios imuno-enzimáticos modernos. Os testes de DNA amplificado (PCR e LCR), em contraste, são mais sensíveis que a cultura para detecção de infecção uretral por *C. trachomatis* em homens e infecções cervicais em mulheres. Em alguns estudos houve problemas com inibidores da Taq-polinase que pode estar presente em amostras cervicais. Esses métodos envolvem a detecção de seqüências específicas de nucleotídeos clamídicos e o uso de tecnologias diferentes amplifica exponencialmente a seqüência detectada. Além disso, as seqüências nucleotídeos procuradas são aquelas presentes no plasmídeo clamídico comum, que é encontrado em 7-10 cópias por corpo elementar. Estes testes são capazes de detectar até uma única partícula plasmídica. Embora ainda não haja ampla experiência com essa técnica, os dados preliminares são convincentes.

Também usando tecnologia de biologia molecular existe no mercado mundial conjunto para detecção de material genômico da *C. trachomatis* por Captura Híbrida. No mercado brasileiro este teste oferece possibilidade de coleta de material simultaneamente para *Chlamydia* e *Gonococo*. A sensibilidade e especificidade são similares ao PCR.

RESULTADOS

A amostra constituiu-se de 123 pacientes, delas, 58 grávidas e 65, não grávidas.

A positividade para *Chlamydia trachomatis* foi de 3,4 % para o grupo das gestantes (2/58), e 3% para as não gestantes (2/65).

Como pode ser observada, não houve diferença estatisticamente significativa quanto a positividade para *Chlamydia trachomatis* no canal cervical das mulheres dos dois grupos. A positividade para *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* foi para o grupo das gestantes 11/58 (18,9%) e o grupo das não gestantes 11/65 (16,9%), e também não houve diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos. As pacientes com resultados positivos para *Chlamydia trachomatis* e/ou *Mycoplasma hominis* e/ou *Ureaplasma urealyticum*, receberam 1g via oral dose única de Azitromicina e foram reexaminadas com coleta de material ginecológico idêntico efetuado na primeira consulta, 15 dias ou mais após o tratamento; as gestantes foram tratadas de forma idêntica, à partir do segundo trimestre de gestação. Vale ressaltar que o parceiro sexual foi tratado da mesma forma, visando a não-reinfecção. Na tabela 1, analisamos a distribuição da amostra segundo a positividade.

TABELA 1
Distribuição da amostra segundo positividade

POSITIVIDADE	GESTANTES	NÃO GESTANTES
<i>Ureaplasma</i>		
> que 10.000 colônias	6	9
<i>Ureaplasma</i>		
< que 10.000 colônias	5	1
<i>Mycoplasma</i>		
> que 10.000 colônias	0	1
<i>Chlamydia</i>	2	2

Ressaltamos que não mencionamos o item *Mycoplasma* < que 10.000 colônias, porque não houve nenhuma paciente nesta situação. No grupo das gestantes encontrou-se uma paciente que possuía *Chlamydia* e *Ureaplasma* (<que 10.000 Colônias) positivos. Ainda, no grupo das não gestantes encontrou-se uma paciente que inicialmente era positiva para *Ureaplasma* (>que 10.000 colônias) e que após o tratamento com a Azitromicina (1g), negatizou o *Ureaplasma* e positivou o *Mycoplasma* (> que 10.000 colônias). A tabela 2 mostra a distribuição de nossa amostragem quanto a eficácia do tratamento com azitromicina:

TABELA 2
Distribuição da amostra segundo a eficácia da Azitromicina (1g dose única).

	GESTANTES	NÃO GESTANTES
Nnegativaram com Igrama	2 (16,6%)	8 (66,6%)
Nnão negativaram com Igrama	3 (25%)	2 (16,6%)
Não refizeram a colheita	4 (33,3%)	2 (16,6%)

Três (25%) das pacientes gestantes tiveram seus partos antes de refazer a colheita e consequentemente não fica claro se foi a azitromicina que negatizou a colheita refeita ou a cefalosporina usada como medicação durante o parto.

Em seguida, analisamos os resultados colpocitológicos da amostragem positiva (tabela 3).

TABELA 3
Distribuição dos resultados da Colpocitologia nas pacientes positivas

RESULTADOS	GRÁVIDAS	NÃO GRÁVIDAS
Normal	1 (8,3%)	1 (8,3%)
Candida	1 (8,3%)	2 (16,6%)
<i>Clue cells</i>	0	1 (8,3%)
Infecção inespecífica	7 (58,3%)	10 (83,3%)
Cervicites	7 (58,3%)	7 (58,3%)
HPV	3 (25%)	0

Das três pacientes com HPV, duas tiveram diagnóstico de NIC I e uma diagnóstico de ASCUS. Observa-se ainda, em nossos resultados que muitas das pacientes possuem mais de um tipo de infecção no resultado da colpocitologia. As duas pacientes não grávidas com candidíase também estavam com infecção inespecífica. Das sete pacientes com cervicite não grávidas, duas tinham cândida, cinco com infecção inespecífica. Das sete pacientes grávidas com cervicite: três tinham HPV, uma com cândida e três com inflamação inespecífica. Não houve nenhuma infecção por *Trichomonas* em nenhuma das pacientes.

Na tabela 4, apresentamos a distribuição da nossa amostra quanto ao relato de DST anterior.

TABELA 4
Distribuição da amostra segundo relato de DST (pacientes positivas)

PASSADO DST	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
Sim	2	16,6	4	33,3
Não	10	83,4	8	66,7
TOTAL	12	100	12	100

TABELA 5
Distribuição da amostra segundo renda familiar (pacientes positivas)

PASSADO DST	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
1-2	0		0	
3-5	2	16,6	4	33,4
6-10	3	25,0	2	16,6
>10	7	58,4	6	50,0
TOTAL	12	100	12	100

*Salário mínimo vigente na época do estudo - R\$ 136,00 (cento e trinta e seis reais).

Na tabela 6 apresentamos a distribuição de nossa clientela estudada quanto a faixa etária.

TABELA 6

Distribuição da amostra segundo faixa etária das pacientes positivas.

FAIXA ETÁRIA	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
15-19	1	8,3	0	0
20-24	5	41,6	2	16,6
25-29	3	25	3	25
30-34	3	25	2	16,6
35-39	0	0	3	25
40-44	0	0	2	16,6
45-49	0	0	0	0
TOTAL	12	100	12	100

Nas pacientes positivas, analisamos a distribuição desta positividade relacionado-a à cor da pele – tabela 7.

TABELA 7

Distribuição da amostra segundo a cor da pele das pacientes positivas.

COR	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
Branca	11	91,6		11
91,6				
Preta	0	0	0	0
Parda	1	8,3	1	8,3
TOTAL	12	100	12	100

Em outra análise de indicadores sócio-econômicos, tabela 8, mostramos o estado civil de nosso material de estudo.

Tabela 8

Distribuição da amostra segundo estado civil das pacientes positivas.

USO DE PRESERVATIVO	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
Solteira	4	33,3	4	33,3
Casada	8	66,7	7	58,3
Separada	0	0	1	8,3
Viúva	0	0	0	0
TOTAL	12	100	12	100

O uso de métodos de prevenção das DST, como o uso de preservativos de látex, é demonstrado na tabela 9.

Tabela 9

Distribuição da amostra segundo uso de preservativos nas relações sexuais das pacientes positivas.

ESTADO CIVIL	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
Sempre	2	16,6	2	16,6
Às vezes	1	8,4	2	16,6
Nunca	9	75	8	66,6
TOTAL	12	100	12	100

A tabela 10 mostra, segundo histórico clínico, a distribuição segundo o estabelecimento da sexarca.

TABELA 10

Distribuição da amostra segundo sexarca das pacientes positivas.

SEXARCA	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
10-14	1	8,3	2	16,6
15-19	10	83,3	7	58,3
20-24	1	8,4	1	8,3
25-30	0	0	2	16,6
TOTAL	12	100	12	100

A frequência de parceiros na vida sexual de nossa clientela e analisada na tabela 11.

TABELA 11

Distribuição da amostra segundo números de parceiros das pacientes positivas.

N. DE PARCEIROS	GRÁVIDAS		NÃO GRÁVIDAS	
	n	%	n	%
Sem parceiro	0	0	1	8,35
Parceiro fixo e exclusivo	12	100	10	83,3
Parceiro fixo e não exclusivo	0	0	1	8,35
TOTAL	12	100	12	100

RESULTADOS

Conforme já observado nos resultados totais das 123 mulheres estudadas a positividade para o encontro de *C. trachomatis* no canal cervical foi de 3,2% (4 casos) e para *U. urealyticum* e *M. hominis* 17,8% (22 casos)

Quando separamos os grupos das gestantes e não gestantes as positivities foram para *C. trachomatis* em gestantes 3,4% e em não gestantes 3,0% e para *U. urealyticum* e *M. hominis* 18,9% em gestantes e 16,9% em não gestantes. Com estes números podemos demonstrar que a frequência de positividade para *C. trachomatis*, *U. urealyticum* e *M. hominis* em canal cervical não é estatisticamente diferentes nos grupos estudados.

É possível pensar que sendo um consultório no subúrbio da cidade do Rio de Janeiro, os dois grupos tenham hábitos e comportamentos similares não sendo a gestação que modificaria isto; expondo-se assim aos mesmos riscos.

Quanto à idade das pacientes infectadas por *C. trachomatis*, *U. urealyticum* ou *M. hominis* foi possível observar que nas grávidas foi maior no grupo etário de 20-24 anos (41,6% do total das positivas). Cabe destacar, porém, que o restante (50% dos casos) ocorreram em gestantes em duas faixas etárias entre 25 a 34 anos. Já nas não grávidas esta distribuição foi mais homogênea permanecendo mais ou menos constante a positividade dos 20 aos 44 anos.

De um modo geral estudos como de Shafer, em Paris acharam uma incidência maior de positividade para *C. trachomatis*. Porém, não se pode esquecer que o estudo em parte, foi realizado em mulheres atendidas numa clínica de DST, onde já ocorre um certo direcionamento deste tipo de paciente.

Quanto ao tipo de relacionamento que as pacientes possuem podemos dizer que 91,6% (22 em 24) das pacientes positivas no total (gestantes ou não) relataram estarem com parceiros fixos e exclusivos, o que nos leva a questionar a veracidade do fato, posto que a infecção em questão é sexualmente transmissível.

Dessas pacientes positivas 62,5% (15 em 24) confirmaram serem casadas. Com isso podemos imaginar que ou seus parceiros apresentam comportamento de risco ou algumas pacientes omitiram a verdade.

Analisando a renda familiar destas pacientes positivas um detalhe chama atenção nesta pesquisa; o fato de que 54,16% (13 em 24) possuem uma renda maior ou igual a 10 salários mínimos; ou seja, para um bairro do subúrbio carioca esta média acredito que possa ser considerada alta. Porém, no entanto, nos faz pensar que este tipo de infecção possa ocorrer em pacientes de qualquer nível econômico.

Detalhe também que deve ser comentado é que nas pacientes positivas achou-se 0%, ou seja, ninguém possuía renda familiar no valor entre 1 a 2 salários mínimos. Porém não se pode esquecer de lembrar que estas pacientes são de um consultório particular, onde a maioria possui plano de saúde e consequentemente deve ter uma renda razoável.

Quanto à idade da primeira relação sexual pode-se observar que 70,83% (17 em 24) das pacientes positivas no total começaram entre 15 e 19 anos. Este dado está em conformidade com outros estudos sobre sexualidade humana realizado em âmbito nacional.

Uma outra questão importante a ser analisada é em relação à eficácia do tratamento com 1g de Azitromicina dose única neste tipo de infecção (endocervicite por *C. trachomatis*, *U. urealyticum* ou *M. hominis*).

Observa-se que 20,8% (5 em 24) das pacientes positivas não obtiveram sucesso com este tipo de tratamento. Somente 41,6% (10 em 24) obtiveram sucesso. O restante permanece na dúvida porque ou não refizeram a coleta após o tratamento ou foram submetidas à cirurgia (parto ou cesariana) antes de refazerem a coleta e usaram outro antibiótico no pós-operatório.

Com relação a *C. trachomatis* nas gestantes positivas nenhuma das duas refizeram a coleta, porém nas não grávidas as duas refizeram e negativaram com 1g de tratamento (1 mês de diferença para nova coleta).

Em média levou-se de um a três meses para serem refeitas novas coletas. Sendo os dois parceiros tratados conjuntamente e com no máximo de três meses de intervalo entre as coletas, imaginamos não ter havido tempo para nova reinfeção.

Segundo o uso de preservativos nas relações sexuais das pacientes positivas 70,83% (17 em 24) nunca usaram. No entanto 75% destas pacientes (18 em 24) afirmam nunca terem tido alguma DST no passado, achamos que com isso, este dado não pode ser levado em consideração.

Quanto a colpocitologia verificamos que 58,3% das pacientes positivas (14 em 24) possuíam laudo de cervicite, porém este laudo também foi dado a muitas pacientes negativas. Este exame não seria fidedigno para o diagnóstico da infecção. O único fato que podemos afirmar quanto a colpocitologia é que todas as pacientes positivas apresentaram pelo menos um tipo de alteração infecciosa no exame, porém isto não alteraria em nada para o diagnóstico.

Após todas estas análises, desde dificuldades de interpretação das situações de história clínica, dificuldades para diagnóstico, custos de exames laboratoriais até as possíveis graves seqüelas para a saúde reprodutiva da mulher, cabe a sugestão de que a pesquisa de rotina em busca do diagnóstico e tratamento precoce pode em muito minimizar o gasto financeiro em saúde pública, além de melhorar a qualidade e perspectiva de vida de nossa população.

CONCLUSÃO

- A freqüência de *C. trachomatis* encontrada na população estudada foi de 3,2% não sendo significativa a diferença entre gestantes(3,4%) e não gestantes(3%).
- A freqüência de *Mycoplasma hominis* e *Ureaplasma urealyticum* encontrada na população estudada foi de 17,8%, não sendo significativa a diferença entre gestantes (18,9%) e não gestantes (16,9%).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. PASSOS, M. R. L. *Doenças Sexualmente Transmissíveis* 4ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1995.
2. CAMANO, L., SANTOS, J. F. K., BERTINI, A. M. *Micoplasm. J. Bras. Ginec.* São Paulo, v. 98, n.7, p. 369-71, jul. 1998.
3. SCHACHTER J. *Biology of Chlamydia trachomatis*. In: HOLMES KK, SPARLING PF, MADH PH. *Sexually Transmitted Diseases*, 3. New York, McGraw-Hill, 199:391-406.
4. SHAFER MA, PESSIONE F, SCIEUX C, et al. *Chlamydia trachomatis* Facteurs de Risque ce le Femmes de la Region Parisienne. *J Gynecol Obstet Biol Reprod* 22:163-8;1993
5. FEDELE, L.; VAROTTO, L.; PARAZZINI, F et al. Determinants of cervical *Chlamydia trachomatis* infection in Italy. *Genitourin Med.* 69:123-5;1993.
6. LINHARES, IM.; MIRANDA, Sd.; FONSECA, AM.; MELLER, HH; SIQUEIRA, LFG; *Doenças Causadas por Clamídias* IN: VERONESI, R. *Tratado de infectologia*. São Paulo: Atheneu, 1996. p.539:546.
7. SCHACHTER J, STONER E, MONCADA J. Screening fo *Chlamydia* l Infections in Women Attending Family Planning Clinics. *West J Med* 138:375-9;1989
8. PASSOS MRL. Papel do Hipoclorito de Sódio no Tratamento de Infecção Vaginal Envolvendo Diferentes Microorganismos. (Tese de Doutorado) Instituto de Microbiologia- UFRJ, 1994
9. RODRIGUES EBB, SÁ RAM, RODRIGUES SSO, PASSOS MRL, BARRETO NA, PINHEIRO VMS. Análise da Pesquisa de *Chlamydia trachomatis* no Setor de Ginecologia do Instituto Fernandes Figueira. *DST J bras Doenças Sex Transm*, Niterói, RJ, 12(supl):16-22;2000
10. VARELLA RQ, PASSOS MRL, PINHEIRO VMS LOPES HR, SANTOS SB, GUIMARÃES CC, DeANGELIS F. Pesquisa de *Chlamydia trachomatis* em Mulheres do Município de Piraf-Rio de Janeiro. *DST J bras Doenças Sex Transm*, Niterói, RJ, 12(supl):27-44; 2000
11. FRIAS MCAA, PEREIRA CFA, PINHEIRO VMS, PINHEIRO MS, ROCHA CF. Freqüência de *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma urealyticum* e *Mycoplasma hominis* na Endocérvice de Mulheres no Menacme. *DST J bras Doenças Sex Transm*, Niterói, RJ, 13(3):5-22; 2000
12. MILLAN, A.; SOUMMERVILLE, RG e MCKiePMK. *Chlamydia* l infection in homosexual men. Frequency of isolation of *Chlamydia trachomatis* from the urethra anorectum and pharynx. *Br Vener Dis.* 57: 47-9, 1981
13. MOULDER, JW. A primer for Chlamydiae. In: HOLMES, KK; ORIEL, JD; PIOT, P.; SCHACHTER J. *Chlamydia* l Infections. eds Amsterdam: Elsevier Biomedical press, p. 3-14, 1982.
14. WASHINGTON AE, KATZ, P. Cost and Payment Source for Pelvic Inflammatory Disease; trends and projections, 1983 through 2000. *JAMA*, 266:2565;1991
15. HARRISON, HR; COSTIN, M e MEDER, JB et al. Cervical *Chlamydia trachomatis* infection in university women, relationship to history, contraception, ectopy, and cervicites. *Am J Obstet Gynecol*: 153: 244-50, 1985.
16. PAAVONEN, J. *Chlamydia* l Infection of the female genital tract neonate Part I. *Infect Dis Obstet Gynecol*, 4:19, 1982.

Endereço para Correspondência:

RENATO S BRAVO

Rua da Conceição, 188 - Sala 1303 C

Centro Niterói - RJ - 24240-083

E-mail: rsbravo@nitnet.com.br