



UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
INSTITUTO DE HIGIENE E MEDICINA TROPICAL



MESTRADO EM CIÊNCIAS BIOMÉDICAS
Especialidade de Biologia Molecular em
Medicina Tropical e Internacional

INFECÇÃO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*:
CONHECIMENTOS, ATITUDES E PRÁTICAS DE
UMA POPULAÇÃO DE ESTUDANTES
UNIVERSITÁRIOS DAS ÁREAS DA SAÚDE

ZÚZECA VANINA SALVADOR MAGALHÃES

2010



UNIVERSIDADE NOVA DE LISBOA
INSTITUTO DE HIGIENE E MEDICINA TROPICAL



**INFECÇÃO POR *CHLAMYDIA TRACHOMATIS*:
CONHECIMENTOS, ATITUDES E PRÁTICAS DE
UMA POPULAÇÃO DE ESTUDANTES
UNIVERSITÁRIOS DAS ÁREAS DA SAÚDE**

ZÚZECA VANINA SALVADOR MAGALHÃES

Tese apresentada para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biomédicas, especialidade de Biologia Molecular em Medicina Tropical e Internacional.

Orientador:

Prof^ª. Doutora Filomena Martins-Pereira

Co-Orientador:

Prof^ª. Doutora Rita Castro

2010

AGRADECIMENTOS

Muito embora um curso de mestrado e a sua dissertação sejam um trabalho individual este não seria possível sem um grande apoio em diferentes vertentes. Neste espaço reservado a agradecimentos são feitas as honras aos que de forma directa e indirecta o apoiaram.

Primeiramente agradeço à Prof. Doutora Filomena Martins-Pereira por me ter aceite como mestranda na Unidade de Ensino e Investigação em Doenças Sexualmente Transmissíveis e pelos seus ensinamentos e valiosas orientações, assim como pelo encorajamento. À Prof. Doutora Rita Castro pela sua enorme paciência e disponibilidade no laboratório e na análise desses resultados.

À Prof. Doutora Maria Amélia Grácio por proporcionar aos seus alunos as melhores condições de aprendizagem.

À Unidade de Epidemiologia e Bioestatística, especialmente à Prof. Doutora Luzia Gonçalves que muito amavelmente reviu os resultados estatísticos apresentados.

À companheira de trabalho de campo e de laboratório Ana Serras, sempre dinâmica e bem disposta, a quem desejo o maior sucesso na conclusão das suas provas de mestrado.

Ao Dr. Robert Brunham, à Prof. Doutora Nicola Low e ao Prof. Doutor Thomas Lisowsky que tiveram a gentileza de conceder a sua permissão para utilizar as figuras que ilustram este trabalho.

À minha grande amiga e mentora Ana Mercês que no primeiro dia de aulas na Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa se sentou ao meu lado e nunca mais me deixou, acompanhando-me sempre de muito perto todo este trabalho, analisando e criticando de forma elevada e construtiva.

À Raquel Carvalho que sendo de uma área de formação completamente distinta teve a paciência de ler e criticar este trabalho, corrigindo desde a construção das frases até ao lançar de caminhos a explorar nos resultados.

À equipa com quem trabalho neste momento Hospital de São Francisco Xavier Isabel Paes de Faria, Elisabeth Cristovam e Dejanira de Almeida pela motivação e paciência, assim com à Coordenação do Serviço de Patologia Clínica, na pessoa de Beatriz Figueiredo.

A toda a equipa do Serviço de Medicina Transfusional do Hospital de Egas Moniz que me encorajou e apoiou sempre.

Por último mas o mais importante agradecimento a Jorge, Ana e Sérgio Magalhães, meus pais e irmão, que sempre me fizeram acreditar que só é impossível fazer os que não nos propomos seriamente fazer.

ÍNDICE GERAL

AGRADECIMENTOS	i
ÍNDICE GERAL	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vii
ÍNDICE DE TABELAS	ix
ÍNDICE DE GRÁFICOS	xi
RESUMO	xiii
ABSTRACT	xv
ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS	xvii
1. INTRODUÇÃO	1
1.1. <i>Chlamydia trachomatis</i> - História	1
1.2. Biologia	2
1.2.1. Classificação.....	2
1.2.2. Ciclo de desenvolvimento.....	3
1.2.3. Estrutura da parede celular.....	6
1.2.4. Serovares.....	8
1.2.5. Imunopatogenicidade.....	10
1.2.6. Genética.....	14
1.3. Importância da infecção por <i>C. trachomatis</i> na Saúde Pública	16
1.3.1. Sinais, sintomas e sequelas na mulher.....	17
1.3.2. Infecção na gravidez e no recém-nascido.....	19
1.3.4. Sinais, sintomas e sequelas no homem.....	20
1.3.5. Sinais, sintomas e sequelas comuns a ambos os géneros.....	21
1.4. Epidemiologia	22

1.5. Diagnóstico laboratorial da infecção urogenital por <i>C. trachomatis</i>	27
1.5.1. Colheita de amostras	28
1.5.1.2. Colheita e transporte de amostras endocervicais e uretrais	28
1.5.1.3. Colheita de amostras de urina.....	31
1.5.2. Características dos Testes utilizados.....	31
1.5.2.1. Testes culturais	31
1.5.2.2. Pesquisa de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i>	32
1.5.2.3. Pesquisa de antigénios de <i>C. trachomatis</i> por Imuno-fluorescência directa	35
1.5.2.4. Pesquisa de antigénios de <i>C. trachomatis</i> por ensaios imunoenzimáticos ..	36
1.5.2.5. Hibridação de ácidos nucleicos	38
1.5.2.6. Testes de amplificação de ácidos nucleicos.....	39
1.2. Associação da infecção por <i>C. trachomatis</i> com outros microrganismos	43
1.2.1. Associação com <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	43
1.2.2. Associação com o vírus da imunodeficiência humana	44
1.3. Actividades para controlo da infecção por <i>C. trachomatis</i> na Europa.....	45
2. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS.....	53
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	58
3.1. Tipo de estudo e população em estudo	58
3.2. Critérios de exclusão	59
3.3. Recolha de dados sobre conhecimentos, práticas e atitudes	59
3.4. Recolha de amostras biológicas	60
3.4.1. Urina.....	60
3.4.2. Sangue.....	61
3.5. Extracção de DNA das amostras de urina	61
3.6. Pesquisa de DNA de <i>C. trachomatis</i> na urina por técnica de PCR.....	63

3.6.1. Eletroforese em gel de agarose para visualização dos produtos de PCR para pesquisa de <i>C. trachomatis</i> e interpretação de resultados.....	66
3.7. Pesquisa de DNA de <i>N. gonorrhoeae</i> por PCR na urina	67
3.7.1. Eletroforese em gel de agarose para visualização dos produtos de PCR para pesquisa de <i>N. gonorrhoeae</i> e interpretação de resultados	69
3.8. Pesquisa de anticorpos anti-<i>C. trachomatis</i> no soro	70
4. RESULTADOS.....	74
4.1. Caracterização sociodemográfica da população em estudo	74
4.2. Resultados laboratoriais	77
4.2.1. Verificação de interferências de outros microrganismos na técnica de PCR para pesquisa de DNA de <i>C. trachomatis</i> na urina	77
4.2.2. Pesquisa de DNA de <i>C. trachomatis</i>	78
4.2.3. Verificação de interferências de outros microrganismos na técnica de PCR para pesquisa de DNA de <i>Neisseria gonorrhoeae</i> na urina	78
4.2.4. Pesquisa de DNA de <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	80
4.3. Pesquisa de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i> no soro	80
4.4. Atitudes e práticas relativamente à sexualidade da população em estudo	81
4.5. Conhecimento sobre <i>C. trachomatis</i>, questões relacionadas com infecções sexualmente transmissíveis e comportamentos associados	91
5. DISCUSSÃO.....	100
6. CONCLUSÃO	109
6.1. Limitações do estudo	109
6.2. Conclusão e perspectivas futuras	110
7. BIBLIOGRAFIA.....	116

ANEXOS	A
Anexo A – Consentimento informado	B
Anexo B – Inquérito.....	D
APÊNDICES	a
Apêndice A – Plano de operacionalização das variáveis	b
Apêndice B – Permissão concedida pelo Dr. Robert Brunham.	g
Apêndice C – Permissão concedida pela Prof. Dr. Nicola Low.	h
Apêndice D – Permissão concedida pelo Prof. Dr. Thomas Lisowsky.	i

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Ciclo de vida de <i>Chlamydia trachomatis</i>	4
Figura 2 – Inibição do crescimento de <i>Chlamydia</i> spp. por produção de INF- γ e reactivação através da biossíntese de triptofano.....	13
Figura 3 – Infecção do aparelho genital feminino por <i>C. trachomatis</i>	18
Figura 4 - Distribuição mundial de novos casos de infecção por <i>Chlamydia</i> , estimada em 1999 pela WHO.....	24
Figura 5 – À esquerda pode ser observada a sequência do protocolo de extracção utilizado e à direita o pormenor das ligações electrostáticas que ocorrem entre o DNA e as partículas de sílica.....	62
Figura 6 – Na figura está representada parte da sequência de nucleótidos do pCT. A púrpura encontra-se assinalada a sequência do <i>forward primer</i> e a verde a sequência do <i>reverse primer</i>	63
Figura 7 - Na figura está representada parte da sequência de nucleótidos do gene <i>omp1</i> . A púrpura encontra-se assinalada a sequência do <i>forward primer</i> e a verde a sequência do <i>reverse primer</i>	64
Figura 8 – Gel de agarose a 1,5% após electroforese de produtos de PCR <i>multiplex</i> para pesquisa de DNA de <i>C. trachomatis</i>	67
Figura 9 - Na figura está representada a sequência de nucleotidos do gene <i>ccpB</i> do plasmídeo críptico de <i>N. gonorrhoeae</i> . A púrpura encontra-se assinalada a sequência do <i>forward primer</i> e a verde a sequência do <i>reverse primer</i>	68
Figura 10 – Imagem de géis de agarose após electroforese de produtos de PCR para pesquisa de DNA de <i>N. gonorrhoeae</i> na urina, à esquerda e de produtos de RFLP para confirmação de especificidade dos produtos obtidos através do mesmo PCR.	70
Figura 11 – À esquerda em cima, imagem de um EUROIMMUN BIOCHIP <i>Mosaics</i> [®] . À direita em baixo, esquema da reacção antigénio/anticorpo e anticorpo anti-humano marcado com fluoresceína. À esquerda imagens de microscopia de fluorescência de uma amostra positiva (centro) e uma amostra negativa (direita).	71

- Figura 12** – Géis de agarose a 1,5% após electroforese de produtos de PCR *multiplex* para pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina. À direita produtos de PCR dos DNA extraídos de estirpes ATCC. À esquerda produtos de PCR dos DNA extraídos urinas de indivíduos com IU..... 78
- Figura 13** – À direita visualização dos produtos de amplificação de DNA extraído de estirpes ATCC e de isolados bacterianos. À esquerda visualização dos produtos de amplificação de DNA de urinas de indivíduos com IU documentada laboratorialmente. 79
- Figura 14** – Visualização do produto de amplificação do DNA de *N. sicca* pela técnica de PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae*, em gel de agarose a 1,5% à esquerda e à direita o mesmo produto submetido à técnica de RFLP em gel de agarose a 2,0%..... 79
- Figura 15** – Visualização dos produtos de amplificação por técnica de PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae*, submetidos a técnica de RFLP em gel de agarose a 2,0%, após electroforese..... 79

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Registo das prevalências dos serovares D, E, F, G, I e Ia de <i>C. trachomatis</i> documentadas pelos diferentes estudos consultados.....	9
Tabela 2 – Serovares de <i>C. trachomatis</i> e sua associação com a doença humana.....	22
Tabela 3 – Classificação das actividades de controlo para <i>C. trachomatis</i> na Europa. .	46
Tabela 4 – Características dos programas de rastreio para a infecção por <i>C. trachomatis</i> na Holanda e Reino Unido.....	48
Tabela 5 – Abordagem por níveis sugerida pelo <i>Chlamydia Control in Europe</i> , para desenvolver e implementar programas de rastreio para controlo da infecção por <i>C. trachomatis</i>	50
Tabela 6 – Benefícios em Saúde de indivíduos infectados por <i>C. trachomatis</i> com a existência de um programa de rastreio.....	52
Tabela 7 – Programa de ciclos da técnica de PCR utilizada para amplificação dos fragmentos dos genes de pCT, <i>omp1</i> e sequência de CI.....	65
Tabela 8 – Algoritmo para interpretação dos resultados obtidos após electroforese de produtos de PCR <i>multiplex</i> para pesquisa de DNA de <i>C. trachomatis</i>	67
Tabela 9 - Programa de ciclos da técnica de PCR utilizada para amplificação dos fragmentos do gene <i>ccpB</i> de <i>N. gonorrhoeae</i>	69
Tabela 10 – Medidas de tendência central e de dispersão para a idade segundo o género na população em estudo.....	75
Tabela 11 – Medidas de tendência central e de dispersão para a idade segundo a licenciatura na população em estudo.....	75
Tabela 12 – Distribuição da população em estudo pelos diferentes anos académicos frequentados.....	76
Tabela 13 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes nacionalidades registadas.....	76
Tabela 14 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes religiões.....	77

Tabela 15 – Prevalência de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i> na amostra em estudo, por título e global, segundo o género.	81
Tabela 16 – Fontes de sobre informação sexual procuradas pelos participantes em frequência relativa por género.....	82
Tabela 17 – Resultados em frequência relativa dos títulos reactivos de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i> da classe IgG segundo a utilização do preservativo nos diferentes tipos de relações sexuais.....	89
Tabela 18 – Frequência relativa por género e frequência relativa global de respostas afirmativas obtidas para a questão “já teve relações sexuais sob o efeito do álcool”?...	90
Tabela 19 – Frequência relativa por género e frequência relativa global de respostas afirmativas obtidas para a questão “já teve relações sexuais sob o efeito de drogas”?..	90
Tabela 20 – Frequência relativa por género e global relativamente à questão “Se pensar que tem uma IST, a quem pediria ajuda?”.....	90
Tabela 21 – Questões usadas para aferir o conhecimento sobre infecção por <i>C. trachomatis</i> e sobre sequelas, sinais, sintomas e transmissão de IST. Frequência relativa da distribuição de respostas correctas por género e global.	91
Tabela 22 – Medidas de tendência central e de dispersão, globais e por género para distribuição de respostas correctas.....	92
Tabela 23 – Frequência relativa de respostas correctas às 15 questões para aferir o conhecimento da população em estudo segundo a licenciatura.....	95
Tabela 24 – Frequência relativa do reconhecimento de <i>C. trachomatis</i> com agente de infecção genital na população em estudo, segundo a licenciatura e o ano académico frequentado.....	96
Tabela 25 – Frequência relativa do reconhecimento de infertilidade como sequela de IST na população em estudo, segundo a licenciatura e o ano académico frequentado..	97

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Incidência das infecções causadas por <i>Chlamydia</i> em países da União Europeia.....	25
Gráfico 2 - Taxas de infecção genital por <i>C. trachomatis</i> em países seleccionados, entre 1989 e 2003.....	25
Gráfico 3 – Categorias das actividades de controlo da infecção por <i>C. trachomatis</i> por país e PIB <i>per-capita</i> em Euros nos países participantes no <i>Project SCREEn</i>	47
Gráfico 4 – Distribuição da amostra em estudo pelo género, em frequência relativa....	74
Gráfico 5 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes universidades, em frequência relativa.....	75
Gráfico 6 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes licenciaturas, em frequência relativa.....	75
Gráfico 7 – Distribuição em frequência relativa dos resultados da pesquisa de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i> entre os géneros.....	80
Gráfico 8 – Gráfico de caixas e bigodes para género e idade da primeira relação sexual.	83
Gráfico 9 – Representação gráfica de caixas e bigodes para o géneros e o número de parceiros sexuais nos últimos 6 meses.....	84
Gráfico 10 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais vaginais na escala: <i>nunca, raramente, às vezes, quase sempre e sempre</i> , entre a população em estudo.....	87
Gráfico 11 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais orais na escala: <i>nunca, raramente, às vezes, quase sempre e sempre</i> , entre a população em estudo.....	87
Gráfico 12 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais anais na escala: <i>nunca, raramente, às vezes, quase sempre e sempre</i> , entre a população em estudo.....	87

Gráfico 13 – Representação gráfica em frequência absoluta do número de respostas correctas segundo o ano académico.....	93
Gráfico 14 – Representação gráfica de caixas e bigodes para a distribuição das medianas de respostas correctas entre as diferentes licenciaturas frequentadas pelos participantes.....	95

RESUMO

A infecção sexualmente transmissível (IST), causada por *Chlamydia trachomatis*, é considerada mundialmente como um importante problema de saúde pública, porque pode causar infertilidade e morbidade a longo termo, existindo a possibilidade de transmissão ao recém-nascido de mãe infectada.

Os indivíduos entre os 15 e os 24 anos de idade são os que se encontram em maior risco. Para além das suas consequências, a presença desta infecção sem tratamento pode potenciar até dez vezes a transmissão do vírus da imunodeficiência humana adquirida.

Contribuindo a consciencialização sobre os vários aspectos da saúde sexual e o conhecimento sobre este agente e suas sequelas para que os jovens em risco se protejam e admitindo o Plano Nacional de Saúde lacunas no conhecimento dos profissionais da área sobre este tema, o presente trabalho teve como objectivos: 1) estudar o conhecimento sobre a infecção por *C. trachomatis*, sinais, sintomas, sequelas e vias de transmissão das IST; 2) conhecer as atitudes e práticas associadas à transmissão de IST e 3) avaliar a prevalência da infecção por *C. trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* numa população de estudantes universitários das áreas da Saúde. Para tal, utilizou-se um questionário, cuja avaliação sugeriu que estes jovens possuem um baixo conhecimento sobre os sinais, sintomas e sequelas deste agente e das outras IST, sendo preocupante verificar que existem estudantes que não reconhecem os diferentes tipos de relação sexual como vias de transmissão destas infecções.

A pesquisa dos microrganismos citados, efectuou-se através da aplicação de uma técnica de biologia molecular em amostras de urina e a presença de anticorpos anti-*C. trachomatis* efectuou-se através uma técnica de imunofluorescência indirecta no soro. Não foram identificados casos de infecção activa, mas registou-se uma taxa de 14,4%

de títulos reactivos de anticorpos anti-*C. trachomatis*, o que indica uma percentagem considerável desta população já foi infectada por este agente.

Estudos futuros semelhantes a este, em diferentes populações, são necessários para avaliar a prevalência global de infecção por *C. trachomatis* em Portugal, assim como para relacionar as atitudes e práticas com a transmissão das IST e com o conhecimento entre a população portuguesa. Medidas básicas de prevenção como a informação à população parecem ser urgentemente necessárias.

Palavras chave: *Chlamydia trachomatis*, infertilidade, jovens, profissionais de Saúde, utilização inconsistente do preservativo, risco, conhecimento, atitudes e práticas.

ABSTRACT

Chlamydia trachomatis is the etiologic agent of a sexually transmitted infection (STI), known worldwide as an important public health issue, because it can cause infertility, long term morbidity along with infection in newborns from infected mothers.

Individuals between 15 and 24 years of age are at most risk of acquiring this infection, besides its complications, the presence of infection without treatment may increase until ten times the possibility of human immunodeficiency virus transmission.

Knowing that the awareness about various aspects of sexual health and the knowledge about this agent and its consequences contributes for young people at risk to protect themselves, and also that the Portuguese National Health Plan recognized the existence of gaps in the knowledge of health care professionals about this subject, this study aimed: 1) to assess knowledge about *C. trachomatis* infection and other STI about, signs, symptoms and modes of transmission; 2) to understand sexual behavior and attitudes associated with the transmission of STI and 3) to know the prevalence of infection by *C. trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in a population of university students of health care courses. They answered a questionnaire and its analysis suggested that these participants have low knowledge about this agent and other STI, with respect to signs, symptoms and sequelae. It is worrying that some participants did not recognize the different types of sexual intercourse as a mode of transmission for these infections.

Identification of the above mentioned microorganisms, was performed through the application of a PCR technique in urine samples and the presence of anti-*C. trachomatis* antibodies, was detected through an indirect immunofluorescence assay in serum samples. No cases of active infection with *C. trachomatis* were identified, but

antibodies were found in 14,4% of the participants, indicating that a reasonable number of participants already had an infection by *C. trachomatis*.

Future studies similar to this one, but in different populations are needed to assess the overall prevalence of infection by *C. trachomatis* in our country, and to relate the attitudes and sexual behavior with the knowledge of the Portuguese population. Basic preventive measures such as information of the population appear to be urgently needed.

Key-words: *Chlamydia trachomatis* infection, infertility, young people, health care professionals, inconsistent condom use, risk, knowledge, attitudes, sexual behavior.

ABREVIATURAS E ACRÓNIMOS

ARAS	Artrite reactiva adquirida sexualmente
ATCC	<i>American Type Culture Collection</i>
ATP	Adenosina-5'-trifosfato – do inglês, <i>adenosine-5'-triphosphate</i>
CDC	Centre for Disease Prevention and Control
CE	Corpos Elementares
CI	Controlo interno
CR	Corpos Reticulares
d’NTPs	Dideoxynucleotidos
DIU	Dispositivo intra-uterino
DNA	Ácido desoxirribonucleico – do inglês, <i>desoxyribonucleic acid</i>
DV	Domínios variáveis
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
EIE	Ensaio(s) imunoenzimático(s)
EUA	Estados Unidos da América
HLA	Human leucocyte Antigen
IDO	Indolamina-2,3-dioxigenase
IFD	Imunofluorescência directa
IFI	Imunofluorescência indirecta
Ig	Imunoglobulina
IL	Interleucina
IST	Infecções sexualmente transmissíveis
IU	Infecção urinária
LGV	Linfogranoloma venéreo

LPS	Lipopolissacárido
Mb	Megabases
MIF	Microimunofluorescência
mL	Militro
MOMP	<i>Major Outer Membrane Proteins</i>
NAAT	Testes de amplificação de ácidos nucleicos – do inglês, <i>nucleic acid amplification tests</i>
NCSP	<i>National Chlamydia Screening Programme</i>
ORF	Grelhas Abertas de Leitura – do inglês, <i>opening reading frames</i>)
PASW	<i>Predictive Analytics Software Statistics</i>
pb	Pares de bases
PBS	Tampão fosfato salino – do inglês, <i>phosphate buffered saline</i>
PCR	PCR – do inglês, <i>polimerase chain rection</i>
pCT	Plasmídio críptico de <i>Chlamydia trachomatis</i>
PIB	Produto interno bruto
PNS	Plano Nacional de Saúde 2004-2010
r.p.m.	Rotações por minuto
RFLP	<i>Restriction fragment length polymorphism</i>
RN	Recém-nascido
RNA	Ácido ribonucleico – do inglês, <i>ribonucleic acid</i>
SFHC	Síndrome de Fritz-Hugh-Curtis

SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
STI	Sexually transmitted infection
TBE	Tampão tris borato com ácido etilenodiaminatetracético
TNF- α	Factor alfa de necrose tumoral – do inglês, <i>tumor necrosis factor</i> - α
UEIDST	Unidade de Ensino e Investigação de Doenças Sexualmente Transmissíveis
UV	Ultravioleta
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
WHO	World Health Organization
μg	Microgramas

1. INTRODUÇÃO

1.1. *Chlamydia trachomatis* - História

A infecção por bactérias do género *Chlamydia* foi detectada pela primeira vez em 1907 por Halberstaedter e von Prowazek, com o auxílio da microscopia óptica e da coloração de Giemsa (Budai, 2007; Ripa, 1982; Schachter & Stephens, 2008; van de Laar & Morre, 2007).

Halberstaedter e von Prowazek observaram as características inclusões intracitoplasmáticas em raspados das conjuntivas de orangotangos experimentalmente infectados (Budai, 2007; Ripa, 1982; Schachter & Stephens, 2008).

Durante os últimos cem anos a tecnologia evoluiu, desde a simples microscopia óptica à cultura em linhas celulares até à detecção de antígenos, de anticorpos e de ácidos nucleicos – utilizando ensaios imunoenzimáticos (EIE), técnicas de imunofluorescência directa (IFD) e testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT – do inglês, *nucleic acid amplification tests*). Esta evolução proporcionou a detecção e estudo de microrganismos patogénicos intracelulares, como é o caso das bactérias do género *Chlamydia* (Budai, 2007; Ripa, 1982).

Inicialmente confundidas com protozoários, e posteriormente com vírus de grandes dimensões (Ripa, 1982; Schachter & Stephens, 2008), os métodos usados para o seu isolamento eram os que se aplicavam para aqueles últimos (Koneman, *et al.*, 1997; Ripa, 1982), sendo atribuído a T'ang e colaboradores, em 1957, o primeiro isolamento de *Chlamydia trachomatis* em ovos embrionados (Ripa, 1982).

Aproximadamente dez anos mais tarde, em 1965, Gordon e Quan publicam um trabalho em que utilizam células McCoy (fibroblastos de ratinho) irradiadas para o isolamento de bactérias do género *Chlamydia* (Ripa, 1982) a partir de amostras genitais, tornando mais simples a sua detecção comparativamente com o isolamento em ovos embrionados.

A introdução desta técnica laboratorial permitiu o aparecimento de outras linhas celulares para cultura de bactérias do género *Chlamydia* (Ripa, 1982), como as culturas em linhas de células HeLa 229 (células de carcinoma cervical humano), células BHK-21 (células de rim de hamster bebé) (Ripa, 1982) e mais recentemente as células BGMK (*buffalo green monkey kidney*) (Johnston & Siegel, 1992, citados por Black, 1997), conduzindo, paralelamente, à expansão do conhecimento sobre a biologia das bactérias do género *Chlamydia* (Ripa, 1982). Quaisquer uma das linhas celulares anteriormente referidas são, ainda hoje, utilizadas para cultura de bactérias do género *C. trachomatis* (Moulder, 1991).

É durante a década de 60, com os avanços da biologia celular e da microscopia electrónica de transmissão, que fica definitivamente esclarecida a natureza bacteriana do género *Chlamydia* (Magalhães Sant'Ana, 2000).

1.2. Biologia

1.2.1. Classificação

Os membros da ordem *Chlamydiales* são bactérias filogeneticamente distintas de todas as bactérias conhecidas, porque possuem um ciclo de desenvolvimento bifásico único que as diferencia de todos os outros procariotas (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Cevenini, *et al.*, 2002; Pickett, *et al.*, 2005).

Até 1999, a ordem *Chlamydiales* possuía apenas o género *Chlamydia*, dentro da família *Chlamydiaceae*, sendo a diferenciação das quatro espécies, *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia psittaci*, *Chlamydia pneumoniae* e *Chlamydia pecorum*, efectuada através de critérios fenótipicos, morfológicos e genéticos. As espécies *C. trachomatis* e *C. psittaci*, por exemplo, eram distinguidas pela susceptibilidade à sulfadiazina, sendo a primeira sensível e a segunda resistente. No entanto, nem todas as estirpes de *C. psittaci* apresentam essa resistência (Everett, *et al.*, 1999).

Everett, Bush e Andersen, baseando-se em técnicas de biologia molecular como a hidridação de ácidos desoxirribonucleicos (DNA – do inglês, *desoxyribonucleic acid*), grau de semelhança entre os genes que codificam para as subunidades ribossomais 16S e 23S, tamanho do genoma e semelhança entre *clusters* de genes, assim como em critérios de detecção antigénica, formação de glicogénio, tropismo e microscopia electrónica publicaram, em 1999, a proposta de divisão do género *Chlamydia* em dois. Aparece assim o género *Chlamydiophila*, que passa a incluir as espécies *Chlamydiophila psittaci*, *Chlamydiophila percorum*, *Chlamydiophila pneumoniae*, *Chlamydiophila abortus*, *Chlamydiophila felis* e *Chlamydiophila caviae* e o género *Chlamydia* que inclui as espécies *Chlamydia trachomatis*, *Chlamydia suis* e *Chlamydia muridarum*.

Dentro do género *Chlamydia*, a espécie *C. trachomatis* é um importante agente patogénico humano (Schachter & Stephens, 2008), sendo a espécie bacteriana mais frequentemente implicada nas infeções sexualmente transmitidas (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Greaves, *et al.*, 2009).

Existem serovares distintos de *C. trachomatis*, com tropismos para diferentes tecidos, mas todos, sem excepção, infectam células epiteliais, nomeadamente as da mucosa genital e ocular, onde desenvolvem um ciclo de vida idêntico (Cevenini, *et al.*, 2002; Roan & Starnbach, 2008).

1.2.2. Ciclo de desenvolvimento

O ciclo de vida de *Chlamydia* spp. consiste na alternância entre duas estruturas celulares, os corpos elementares (CE) e os corpos reticulares (CR) e pode ser dividido em cinco passos: 1) adesão dos CE à célula hospedeira; 2) entrada na célula hospedeira; 3) alteração morfológica para CR, com crescimento intracelular e replicação; 4) alteração morfológica para CE e 5) libertação das partículas infecciosas da célula hospedeira (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Schachter & Stephens, 2008).

Os dois tipos de estruturas celulares observados neste ciclo de vida são funcionalmente distintos: os CE, constituem a forma de resistência e de propagação, possuem localização extracelular e nunca se dividem (Magalhães Santa' Ana, 2000; Moulder, 1991; Roan & Starnbach, 2008), apresentando reduzida ou nenhuma actividade metabólica (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Roan & Starnbach, 2008), enquanto que os CR possuem localização intracelular, são metabolicamente activos, mas não possuem capacidade infectante (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Roan & Starnbach, 2008), sendo o seu papel multiplicarem-se e reorganizarem-se em CE (Moulder, 1991), para que o ciclo se possa repetir (figura 1).

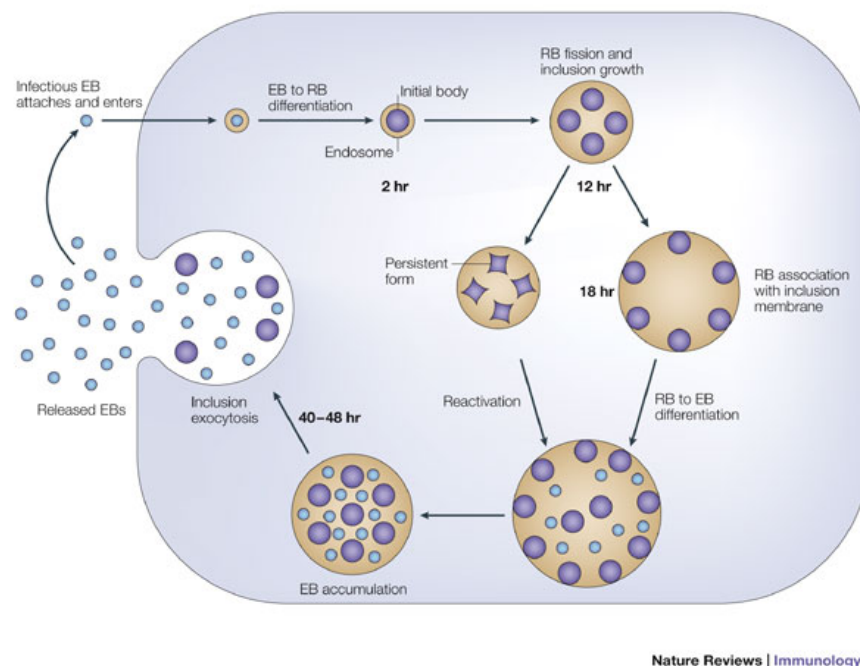


Figura 1 – Ciclo de vida de *Chlamydia trachomatis*.

In: “*Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*”, Nature Reviews | Immunology, Brunham & Rey-Ladino, 2005.

Com permissão (*vide* apêndices).

Legenda: EB – corpos elementares; RB – corpos reticulares.

Após induzirem a sua entrada na célula hospedeira, os CE envolvidos num endossoma originam uma inclusão intracitoplasmática vacuolar (Brunham & Rey-Ladino, 2005), onde se reorganizam em CR (Schachter & Stamm, 1999). Essa reorganização compreende a perda de rigidez de membrana, a perda da capacidade infectante (Magalhães Santa' Ana, 2000; Moulder, 1991; Roan & Starnbach, 2008) e o aumento do

número de ribossomas e da actividade metabólica (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Moulder, 1991). Na espécie *C. trachomatis*, em particular, ocorre fusão entre os diferentes compartimentos vacuolares, originando uma grande inclusão citoplasmática na célula hospedeira (Moulder, 1991), que empurra o núcleo da mesma para a periferia (Magalhães Sant'Ana, 2000).

Os CR multiplicam-se no interior do compartimento intracitoplasmático da célula hospedeira, por divisão binária, ao fim de 8 a 12 horas (Brunham & Rey-Ladino, 2005; Roan & Starnbach, 2008; Schachter & Stamm, 1999), observando-se às 48 horas de infecção a presença de numerosos CR, assim como de estruturas intermédias entre os CR e os CE (Moulder, 1991).

O processo de maturação prossegue com o aparecimento dos CE, dependendo do serovar, são libertados por exocitose ou acabam por lisar a célula hospedeira entre, 36 a 72 horas (Magalhães Santa' Ana, 2000; Moulder, 1991).

Na infecção por *C. trachomatis*, a libertação ocorre entre as 40 e as 48 horas após a entrada na célula hospedeira (figura 1) (Brunham & Rey-Ladino, 2005), podendo esta ficar intacta durante muitas horas após a multiplicação bacteriana ter cessado, sendo que, algumas células infectadas podem mesmo prosseguir com o seu ciclo celular (Moulder, 1991). Pode ainda acontecer, quando em presença de inibidores do crescimento como o interferão- γ (INF- γ), a transformação numa forma persistente que não se multiplica (figura 1), podendo voltar à forma infectante quando removido o agente inibidor (Brunham & Rey-Ladino, 2005).

Estes microrganismos são desprovidos de enzimas respiratórios como o citocromo C (Magalhães Sant'Ana, 2000) e sintetizam apenas alguns metabolitos de baixo peso molecular (Moulder, 1991). São dependentes da célula hospedeira, tanto para a síntese dos seus compostos (ácidos nucleicos e proteínas) como para a obtenção de energia na forma de adenosina-5'-trifosfato (ATP – do inglês, *adenosine-5'-triphosphate*)

(Moulder, 1991; Schachter & Stamm, 1999). Atendendo a estas necessidades específicas, que conferem a estas bactérias a sua característica intracelular (Magalhães Sant'Ana, 2000; Moulder, 1991), o seu crescimento, quer *in vivo* quer *in vitro*, é apenas possível na presença de células susceptíveis.

As bactérias da família *Chlamydiaceae* diferenciam-se dos vírus por possuírem, tanto ácido ribonucleico (RNA – do inglês, *ribonucleic acid*) como DNA e parede celular (Moulder, 1991; Schachter & Stamm, 1999).

1.2.3. Estrutura da parede celular

A parede celular destes microrganismos é semelhante à das bactérias que coram pela fucsina ou safranina (negativamente) pela coloração de Gram, possui lipopolissacárido (LPS) e proteínas, mas é desprovida de peptidoglicano (Cevenini, *et al.*, 2002; Magalhães Santa' Ana, 2000; Moulder, 1993; Schachter & Stamm, 1999), o que torna estas bactérias naturalmente resistentes às lizosimas (Magalhães Sant'Ana, 2000).

Apesar da ausência de peptidoglicano, são as únicas eubactérias desprovidas deste composto que são sensíveis à penicilina (Moulder, 1993). Este antibiótico actua sobre a parede de bactérias que possuem peptidoglicano, impedindo que se estabeleçam pontes interpeptídicas (*cross-linking*) entre as cadeias peptídicas vizinhas do peptidoglicano recém-formado (Sousa, *et al.*, 1998).

Nas bactérias *Chlamydia* spp., a penicilina actua por inibição da reorganização dos CR em CE (Moulder, 1993), sendo eficaz apenas numa fase inicial da infecção (Schachter & Stephens, 2008). Esta susceptibilidade é observada *in vitro*, mas a penicilina não tem grande utilização para o tratamento da infecção genital, existindo estudos em modelos animais que indicam ser necessária a utilização de doses muito elevadas deste antibiótico (Schachter & Stephens, 2008).

Os aminoglicosídeos são ineficazes sobre estas bactérias, devido talvez à sua fraca penetração intracelular, sendo habitualmente utilizados como inibidores da flora comensal em linhas celulares para cultura de *Chlamydia* spp. (Schachter & Stephens, 2008).

Como terapêutica de eleição utilizam-se os macrólidos (eritromicina e azitromicina) e as tetraciclina (Schachter & Stephens, 2008).

Os dois tipos de estruturas celulares observados no ciclo de vida de *Chlamydia* spp. possuem uma grande quantidade de proteínas de superfície de membrana, denominadas por *major outer membrane proteins* ou MOMP (Moulder, 1991). As MOMP são as principais responsáveis pela reactividade observada na técnica de micro-imunofluorescência (Schachter & Stamm, 1999), têm sido utilizadas para classificar os diferentes serovares da espécie *C. trachomatis* através de estudos usando anticorpos monoclonais para serotipagem e também em estudos mais recentes, que envolvem a sequenciação dos genes que as codificam em isolados cervicais e uretrais (Cevenini, *et al.*, 2002).

A rigidez de membrana é conferida por ligações dissulfureto entre as MOMP, ricas em resíduos de cisteína, existindo em maior quantidade nos CE do que nos CR (Moulder, 1991).

A não inclusão de cisteína em meios de cultura celular para *Chlamydia* spp. atrasa a diferenciação dos CR em CE nas inclusões intracitoplasmáticas – sendo o processo normalizado pela sua reintrodução. A presença deste aminoácido é uma característica geral destas bactérias, do qual é dependente a biossíntese das proteínas da membrana exterior que asseguram a rigidez da mesma (Magalhães Sant'Ana, 2000).

Até agora, o mecanismo de entrada das bactérias do género *Chlamydia* na célula eucariota não foi completamente esclarecido. No entanto, a hipótese de que a adesão e entrada destas bactérias na célula hospedeira possa acontecer através da conjugação de

diferentes mecanismos envolvendo várias moléculas (Cevenini, *et al.*, 2002; Moulder, 1991) é unanimemente aceite, podendo ser um mecanismo idêntico à endocitose mediada por receptor (Schachter & Stephens, 2008), onde as MOMP talvez participem (Cevenini, *et al.*, 2002; Moulder, 1991), promovendo ligações electrostáticas e hidrofóbicas entre os CE e a célula hospedeira (Su *et al.*, 1990 citado por Moulder, 1991).

1.2.4. Serovares

A espécie *C. trachomatis* divide-se em mais de uma dezena de serovares, divisão que se baseia na imunoreactividade específica das MOMP (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Nunes, *et al.*, 2008; Roan & Starnbach, 2008; Schachter & Stamm, 1999). Como anteriormente referido, as MOMP são proteínas de superfície de membrana associadas ao LPS, que apresentam epítomos espécie-específicos, contendo quatro regiões com sequências de aminoácidos variáveis entre os diferentes serovares (Cevenini, *et al.*, 2002).

Os serovares distribuem-se em três grupos de doença (Fields & Barnes, 1992, citados por Nunes *et al.*, 2008) que se descrevem a seguir.

Associados à doença ocular, denominada por tracoma, estão os serovares A, B, Ba e C, (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Nunes, *et al.*, 2008; Roan & Starnbach, 2008; Schachter & Stamm, 1999), os quais são agentes de conjuntivite folicular que se pode transmitir de pessoa a pessoa (Moulder, 1991) e que é a causa mais frequente de cegueira prevenível no mundo, sendo registada uma elevada prevalência em África, Médio Oriente, Ásia e América do Sul (Bébéar & De Barbeyrac, 2009).

Envolvidos em infecções sexualmente transmitidas estão os serovares D, Da, E, F, G, Ga, H, I, Ia, J e K (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Koneman, *et al.*, 1997; Moulder, 1991; Nunes, *et al.*, 2008; Roan & Starnbach, 2008). A prevalência destes serovares é

heterogénea, mas autores de diferentes países relatam como mais implicados os serovares D, E e F (Banda, *et al.*, 2008; Millman, *et al.*, 2004; Naher & Petzoldt, 1991; Singh, *et al.*, 2003; Takahashi, *et al.*, 2007; van de Laar, *et al.*, 1996). As frequências dos serovares mais prevalentes, segundo os diferentes autores consultados, encontram-se na tabela 1.

País	Autor	Prevalência dos serovares de <i>C. trachomatis</i> mais frequentes registada pelos diferentes estudos consultados.					
		D	E	F	G	I	Ia
Austrália	Banda, <i>et al.</i> , 2008	8,9%	48,9%	22,2%	6,7%	0,0%	0,0%
EUA*	Millman, <i>et al.</i> , 2004	14,0%	30,0%	19,0%	4,0%	-	14%
Alemanha	Naher & Petzoldt, 1991	28,6%	35,7%	26,8%	9,5%	0,0%	-
Índia	Singh, <i>et al.</i> , 2003	48,0%	34,0%	12,0%	0,0%	6,0%	-
Japão	Takahashi, <i>et al.</i> , 2007	24,7%	27,6%	12,6%	15,6%	6,9%	-
Holanda	van de Laar, <i>et al.</i> , 1996	16,0%	33,0%	21,0%	10,2%	2,0%	-

Tabela 1 – Registo das prevalências dos serovares D, E, F, G, I e Ia de *C. trachomatis* documentadas pelos diferentes estudos consultados.

Código de cores: a amarelo sinaliza-se o serovar mais prevalente observado no estudo dos autores referenciados à esquerda, a azul o segundo serovar mais prevalente e a rosa o terceiro serovar mais prevalente.

*Estados Unidos da América.

Estudos efectuados em populações de risco revelam prevalências diferentes das apresentadas.

Os estudos em populações de homens homossexuais realizados por Lister, *et al.* em 2004 (Melbourne) e Geisler, *et al.* em 2002 (Seattle), citados por Banda *et al.* em 2008, registaram prevalências distintas entre si e entre o estudo destes últimos investigadores realizado em mulheres e homens residentes em regiões rurais e urbanas na Austrália. O estudo de Lister, *et al.* em 2004, efectuado em saunas de frequência exclusivamente masculina, registou como mais prevalente o serovar D/Da (53,8%), seguido do serovar G (25,6%), enquanto que o estudo de Geisler, *et al.* em 2002, realizado em homossexuais masculinos, registou como mais prevalente o serovar G (47,9%), seguido do serovar D/Da (29,6%). O estudo de Banda *et al.*, em 2008 regista como mais prevalente o serovar E (48,9%), seguido do serovar F (22,2%).

No estudo de Waalboer, *et al.*, em 2006, com o objectivo de determinar a distribuição dos serovares responsáveis pela infecção rectal na Holanda entre o sexo masculino, os autores observaram como mais prevalente o serovar D (23,5%), seguido dos serovares G e H (18,4% e 12,5%, respectivamente). Entre o sexo feminino observaram como mais prevalente o serovar F (20,7%), seguido do serovar E (10,3%) e para os serovares D, G e H cada um a prevalência de 6,9%, respectivamente.

Yamazaki, *et al.*, em 2005, num estudo envolvendo mulheres prostitutas e não prostitutas da Tailândia e não prostitutas do Japão observaram que entre as prostitutas e não prostitutas da Tailândia os serovares mais frequentes eram os mesmos, sendo o serovar F o mais prevalente, ao qual se seguiu o E, o D e o K, mas nas mulheres japonesas o serovar mais prevalente foi o D seguido do F, do E e do G.

Associados também a doença sexualmente transmitida, mas sistémica, estão os serovares L1, L2, L2a e L3 (Cevenini, *et al.*, 2002), que se disseminam para os nódulos linfáticos mais próximos, causando linfogranuloma venéreo (LGV) (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Moulder, 1991; Nunes, *et al.*, 2008).

Com base nas suas características biológicas, os diferentes serovares foram posteriormente agrupados em dois grandes biovars: LGV, com quatro serovares e tracoma, que inclui os serovares restantes (Cevenini, *et al.*, 2002).

1.2.5. Imunopatogenicidade

As células epiteliais infectadas por *C. trachomatis* são capazes de desencadear a resposta imune inata e apesar de classicamente estas células não desempenharem um papel crítico nesta resposta, têm a capacidade de a iniciar e propagar (Quayle, 2002; citado por Roan & Starnbach, 2008).

Após a infecção, as células epiteliais promovem a produção de vários mediadores pro-inflamatórios, as citocinas tais como as interleucinas (IL) 1 e 6, o factor alfa de

necrose tumoral (TNF- α) e os factores estimuladores do crescimento de granulocitos macrofagos (Rasmussen *et al.*, 1997 & Johnson, 2004, citados por Brunham & Rey-Ladino, 2005 e por Roan & Starnbach, 2008). Promovem ainda a produção de outras citocinas como a IL8, capaz de recrutar as células imunes inatas, como os linfócitos *natural-killer's*, os fagocitos (neutrófilos e macrofagos) e as células dendríticas, abundantes na mucosa genital (figura 3) (Parr, 1991, citado por Roan & Starnbach, 2008). A presença destas células da imunidade inata aumenta a produção de citocinas inflamatórias como o TNF- α , levando à restrição da infecção (Dessus-Babus *et al.*, 2002, citados por Roan & Starnbach, 2008).

No entanto, a resposta imune originada por *C. trachomatis* pode auxiliar a sua sobrevivência na célula infectada, assim como induzir formas persistentes (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999). A re-infecção ou a reactivação de uma infecção primária latente, têm sido consideradas como indutoras de uma resposta imune mais exuberante que estará na sequência da patologia das trompas (Gijzen, *et al.*, 2001), sendo que esta reacção pode ser também causada pela espécie *C. pneumoniae*, tendo já sido descrita a presença de anticorpos para as duas espécies em mulheres com séria oclusão das trompas (Freidank *et al.*, 1995, citado por Gijzen, *et al.*, 2001 e Gijzen, *et al.*, 2001). Os resultados destes estudos apontam para a possibilidade de um efeito sinérgico das infecções por *C. trachomatis* e por *C. pneumoniae* no desenvolvimento da patologia das trompas, hipótese que carece de estudo futuros (Gijzen, *et al.*, 2001).

Têm sido encontradas evidências as citocinas produzidas podem contribuir para a patologia associada à infecção por *C. trachomatis*, já que baixos níveis de TNF- α e IL6 têm sido correlacionados com diminuição da patologia do aparelho genital, após infecção (Darville *et al.*, 2003, citados por Roan & Starnbach, 2008).

Apesar do sistema imune ser competente na resposta à infecção por esta bactéria, podendo inclusivamente resolvê-la ao fim de algumas semanas (Parks, *et al.*, 1997;

Golden, *et al.*, 2000 & Joyner, *et al.*, 2002, citados por Brunham & Rey-Ladino, 2005; Hicks, 2008), alguns estudos têm mostrado que *C. trachomatis* pode persistir latente no hospedeiro (Roan & Starnbach, 2008).

Estudos *in vitro* têm demonstrado que baixos níveis de INF- γ , assim como a incubação de células infectadas sob condições stressantes (como a privação de determinados nutrientes e/ou a presença de antibióticos), podem induzir *C. trachomatis* a um estado de latência (Beatty, *et al.*, 1993; Coles *et al.*, 1993; Raulston, 1997 & Hogan, *et al.*, 2004, citados por Roan & Starnbach, 2008).

Alguns autores têm realizado estudos, *in vitro* e *in vivo*, que demonstram que a produção de INF- γ por linfócitos T é essencial para a resolução da infecção genital por *C. muridarum* em ratinhos (Morrison & Caldwell, 2002, citados por Brunham & Rey-Ladino, 2005). Apesar de não estar bem esclarecido o mecanismo que medeia o controlo da infecção por *C. trachomatis* através do INF- γ *in vivo*, *in vitro* está documentado que tal acontece pela activação do enzima indolamina-2,3-dioxigenase (IDO) pelo INF- γ (figura 2). A actividade deste enzima degrada o triptofano disponível, aminoácido essencial cuja privação conduz à morte de *C. trachomatis* (figura 2) (Beatty, *et al.*, 1994, citados por Brunham & Rey-Ladino, 2005).

Alguns serovares de *C. trachomatis* possuem um triptofano sintetase, podendo por isso usar o indol produzido pela flora microbiana local como substrato para a produção de triptofano (figura 2) e desta forma evadir-se à erradicação pela produção de INF- γ pelas células imunitárias (Caldwell, *et al.*, 2003, citados por Brunham & Rey-Ladino, 2005).

Outros autores descrevem ainda a detecção *in vivo* de DNA e RNA de bactérias do género *Chlamydia* em amostras de doentes com cultura celular negativa, sugerindo a presença de formas persistentes que não crescem em cultura (Rahman, *et al.*, 1992; Patton *et al.*, 1994 & Gerard *et al.*, 1998, citados por Roan & Starnbach, 2008). Esta descrição é corroborada por estudos realizados em ratinhos, que mostraram que o

sistema imune é capaz de induzir formas não cultiváveis de *Chlamydia* spp. (Roan & Starnbach, 2008) e ainda que, imunossupressores como a cortisona, podem reactivar a infecção (Cotter *et al.*, 1997, citados por Roan & Starnbach, 2008).

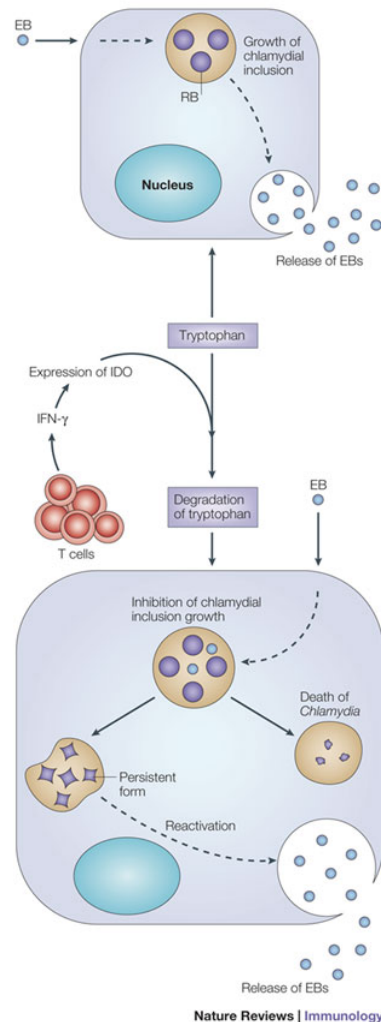


Figura 2 – Inibição do crescimento de *Chlamydia* spp. por produção de IFN- γ e reactivação através da biossíntese de triptofano. In: “*Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*”, Nature Reviews | Immunology, Brunham & Rey-Ladino, 2005. Com permissão (*vide* apêndices).

Legenda: EB – corpos elementares; RB – corpos reticulares; IDO – indolamina-2,3-dioxigenase; IFN- γ – interferon γ .

Além dos mecanismos de evasão ao sistema imune anteriormente citados como a utilização da biossíntese de triptofano para escapar à acção do IFN- γ , a capacidade replicação e de manutenção de formas persistentes que podem ser reactivadas no interior da célula hospedeira, o que limita a exposição ao sistema imune, a forma extracelular deste agente apresenta diversas proteínas de membrana, entre elas as MOMP, que parecem ser um alvo importante para a imunidade. Estas proteínas

apresentam uma variação alélica substancial entre os serovares de *C. trachomatis*, factor que reduz a eficácia dos anticorpos produzidos (Brunham & Rey-Ladino, 2005).

1.2.6. Genética

O genoma de *C. trachomatis* possui um conteúdo com 45% de guanina-citosina, estando organizado num único cromossoma circular, com 1.045 megabases (Mb) (Birkelund & Stephens, 1992).

O DNA dos diferentes serovares desta espécie bacteriana, possui uma homologia de mais de 96% e os padrões de digestão de DNA obtido com o enzima *BamHi* são muito semelhantes, sendo a homologia genómica entre a espécie *C. trachomatis* e outras espécies da mesma família reduzida (Birkelund & Stephens, 1992).

Os genes que codificam para as MOMP nos diferentes serovares possuem um elevado grau de homologia, sendo essas regiões predominantemente constantes, espaçadas por quatro domínios variáveis, designados DV I-IV, com cerca de 40 a 90 pb (Baehr, *et al.*, 1988). A variação na sequência de aminoácidos e no comprimento das MOMP (entre 372 e 375 resíduos de aminoácidos) deve-se a diferenças observadas nas sequências codificantes DV entre os serovares de *C. trachomatis* (Baehr, *et al.*, 1988). Estas diferenças conferem a variação antigénica (Cevenini, *et al.*, 2002) anteriormente referida.

As bactérias do género *Chlamydia* possuem, além do seu cromossoma, 5 a 10 cópias de um plasmídeo críptico (pCT) relativamente bem conservado, com cerca de 7.500 pares de bases (pb) (Farencena, *et al.*, 1997; Thomson, *et al.*, 2008).

O pCT possui oito grelhas abertas de leitura (ORF – do inglês, *opening reading frames*), tendo estes genes sido já sequenciados, existindo uma grande homologia entre diferentes isolados (Cevenini, *et al.*, 2002).

Em 1997, Farencena, *et al.*, descreveram o isolamento de uma estirpe aparentemente sem pCT, menos virulenta, que cresce bem *in vitro*, pertencente ao biovar tracoma.

Na Suécia, em 2006, foi também documentada a descoberta de uma nova variante (nvCT) com deleção de 377pb no pCT, entre os nucleótidos 608 e 985, inclusive (Ripa & Nilsson, 2006; Soderblom, *et al.*, 2006). Esta descoberta veio na sequência da observação por estes dois autores de uma diminuição de cerca de 25% dos casos de infecção por *C. trachomatis* entre Novembro de 2005 e Agosto de 2006, comparativamente ao registado no mesmo período do ano anterior em que foram testadas números similares de amostras (9055 *versus* 8702). Os autores colocaram a hipótese que se o decréscimo observado não se deve-se a uma diminuição real do número de casos de infecção, poderia dever-se a uma modificação na região alvo do pCT utilizada pelos NAAT como testes de diagnóstico. Deste modo, autores testaram 1700 amostras entre Setembro e Outubro de 2006 em paralelo com duas técnicas de PCR com alvos genéticos diferente, dos quais uma utilizava o pCT e outra uma região do gene que codifica as MOMP no cromossoma bacteriano, tendo registado que 13% das amostras apenas eram positivas com a segunda técnica.

Apesar de disseminada por toda a Suécia, representando entre 20% a 65% dos casos de infecção por *C. trachomatis*, surpreendentemente poucos casos envolvendo esta nova variante foram declarados noutros países (Herrmann, 2007; Savage, Ison & van de Laar, 2007, citados por Herrmann, 2008).

A descoberta da nvCT destacou a importância da vigilância epidemiológica na descoberta de mudanças biológicas inesperadas que tenham impacto no diagnóstico e consequentemente na saúde pública (Herrmann, 2008).

Ao contrário de Farencena, *et al.* em 1997, Ripa & Nilsson em 2006 referem que a nvCT não possui um comportamento clinicamente diferente da estirpe que possui o pCT.

O facto destas estirpes estarem documentadas revela que os oito genes contidos no pCT não serão necessários para a sobrevivência de *C. trachomatis*. No entanto, a manutenção deste DNA extracromossomal parece estar sob pressão selectiva positiva no ambiente natural destes microrganismos, sugerindo que pode, eventualmente, conferir alguma vantagem em termos de ciclo de vida ou de modulação do sistema imune do hospedeiro (Farencena, *et al.*, 1997).

1.3. Importância da infecção por *C. trachomatis* na Saúde Pública

Segundo o *Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe* publicado em 2007, pelo *European Center for Disease Prevention and Control* (ECDC), as infecções causadas por bactérias do género *Chlamydia* de maior importância epidemiológica são as sexualmente transmitidas.

O *Project SCREEn Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries*, publicado em 2008, também pelo ECDC, refere que esta importância se prende directamente com as consequências a longo termo desta infecção como a gravidez ectópica e a infertilidade, que podem ser potenciadas pela recorrência de infecção (Black, 1997).

O risco preciso da progressão da doença para o aparelho genital superior não está estimado com exactidão, devido às dificuldades metodológicas envolvidas no estudo desta questão, mas sabe-se que esta morbidade do aparelho genital é comum e prevenível (ECDC, 2008).

Entre o sexo feminino, cerca de 70% dos casos de infecção genital não apresentam sintomatologia e entre o sexo masculino o mesmo acontece em cerca de 50% dos casos de infecção (Hicks, 2008; van de Laar & Morre, 2007).

C. trachomatis responde positivamente à antibioterapia, mas o facto de muitos indivíduos não apresentarem sintomatologia faz com que a infecção não seja

diagnosticada, pelo que frequentemente permanece não tratada. Desta forma pode progredir para os órgãos genitais e causar danos irreversíveis, como acima referido, que comprometem a fertilidade (ECDC, 2007) em ambos os sexos, mas particularmente em mulheres jovens (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Black, 1997).

Outra situação preocupante é a infecção durante a gravidez e do recém-nascido (RN).

1.3.1. Sinais, sintomas e sequelas na mulher

Na mulher, a infecção genital por *C. trachomatis* pode variar da infecção assintomática auto-limitada, a doença debilitante com complicações a longo termo, tanto do aparelho genital, como doença a disseminada.

A infecção genital no sexo feminino acontece, habitualmente, através de relação sexual com penetração, sendo o agente depositado na uretra, no endocervix e na vagina (Rogstad, 2008).

O primeiro local anatómico a ser infectado é geralmente o endocervix, com a entrada do agente nas células do epitélio escamoso colunar. A cervicite pode ser assintomática ou acompanhada de corrimento vaginal mucopurulento e/ou sangramento pós-coito (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Black, 1997; Brunham & Rey-Ladino, 2005). Associada à cervicite, em 50% a 60% dos casos, pode observar-se infecção da uretra (Morris, 1993; Paavonen *et al.*, 1986 & Sellors *et al.*, 1991, citados por Black, 1997), que frequentemente causa disúria (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Black, 1997).

A infecção do epitélio escamoso colunar pode ascender ao útero e às trompas de Falópio, causando endometrite e salpingite (figura 3), conduzindo a doença inflamatória pélvica (DIP), cuja sintomatologia pode ser subclínica (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Black, 1997; Rogstad, 2008). Na Europa, estudos sugerem que a infecção por *C. trachomatis* é responsável por, pelo menos, 60% de dos casos de DIP (Rogstad, 2008). À medida que a DIP se agrava, podem formar-se abscessos nas trompas de Falópio e

ovários, os quais podem originar peritonite (Rogstad, 2008), assim como síndrome de Fritz-Hugh-Curtis (SFHC), uma perihepatite observada em simultâneo ou após salpingite, que pode também estar associada à infecção por *Neisseria gonorrhoeae*, mas é mais comum na infecção por *C. trachomatis* (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Rogstad, 2008).

As complicações de longo termo da DIP prendem-se com a formação de cicatrizes e de adesões nas trompas de Falópio e ovários, o que eleva o risco de gravidez ectópica, infertilidade e dor pélvica crónica (Cates & Wasserheit, 1991, citados por ECDC, 2008; Rogstad, 2008; Bébéar & De Barbeyrac, 2009).

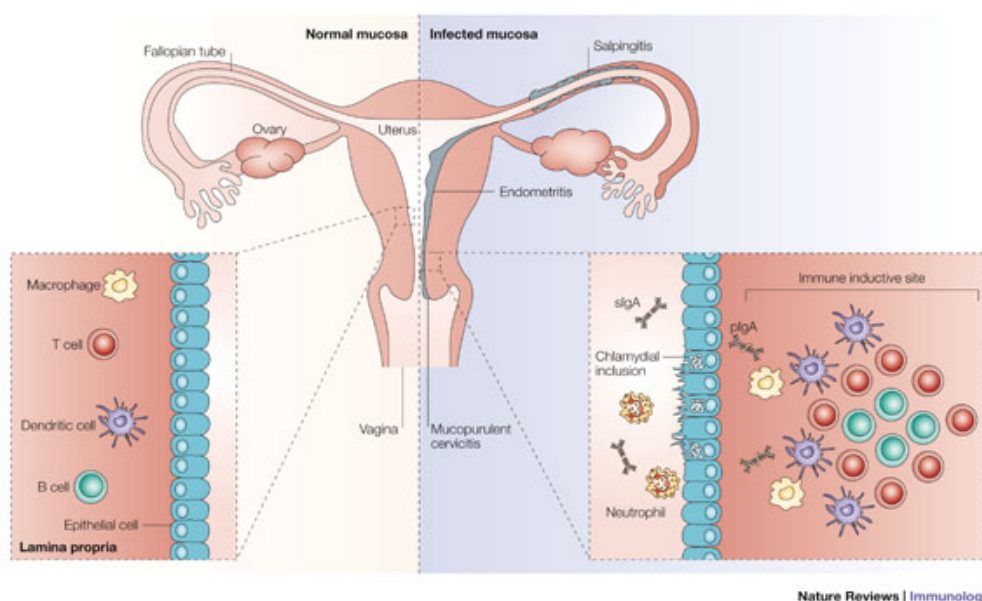


Figura 3 – Infecção do aparelho genital feminino por *C. trachomatis*.

In: “*Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*”, Nature Reviews | Immunology, Brunham & Rey-Ladino, 2005.

Com permissão (vide apêndices).

Em 1992, Westrom *et al.*, citado pelo *Center for Disease Control and Prevention* (CDC) em 2002, estimou que 20% dos casos de DIP originam infertilidade, 18% têm dor pélvica crónica debilitante e 9% necessitam de tratamento, como a insuflação de trompas, para que haja concepção.

Em 1997, Black aponta a salpingite não tratada como a maior causa de infertilidade, referindo vários estudos que mostram a associação entre a infecção prévia por *C.*

trachomatis, sintomática ou assintomática, e gravidez ectópica. Mulheres com história de DIP possuem um risco entre seis a dez vezes mais elevado de gravidez ectópica, do que aquelas que não possuem história de DIP (Westrom, 1980, citado por Paavonen & Eggert-Kruse, 1999 e por WHO, 2007). O do quinto Objectivo do Milénio é a redução da mortalidade materna até 2015 (Nações Unidas, 2008), o que passa pelo controlo da infecção por *C. trachomatis*, já que a gravidez ectópica é a maior causa de mortalidade materna no primeiro trimestre de gravidez nos países desenvolvidos (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999)

1.3.2. Infecção na gravidez e no recém-nascido

A infecção genital por *C. trachomatis* na grávida e a infecção neonatal estão intimamente relacionadas (Koneman *et al.*, 1997), sendo a infecção da conjuntiva do RN e eventual pneumonia por este agente considerada uma complicação da cervicite (Dunlop, *et al.*, 1980).

Durante a gravidez esta infecção está associada a ruptura prematura de membranas, baixo peso à nascença e aborto espontâneo no segundo trimestre de gestação (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999; Peipert, 2003, citado por ECDC, 2008).

A endometriose pós-parto ocorre em 30% dos casos das mulheres infectadas por *C. trachomatis* antes do parto (Rogstad, 2008; CDC, 2002).

Pensa-se que a transmissão ao RN ocorre por exposição perinatal a secreções vaginais infectadas (Black, 1997; Rogstad, 2008; Schachter & Stamm, 1999), situando-se a taxa de infecção entre 50 a 70% dos bebés nascidos de mães infectadas (Bébéar & De Barbeyrac, 2009). No entanto, têm sido reportados casos de infecção por *C. trachomatis* do RN por cesariana, na presença de membranas intactas (Ratelle *et al.*, 1997, citados por Rogstad, 2008). *C. trachomatis* é o agente mais frequente de conjuntivite neonatal, com aparecimento de sintomas entre 5 a 10 dias após o parto. Além da conjuntivite,

pode desenvolver-se uma pneumonia com 2 a 3 semanas de incubação (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Rogstad, 2008). O tratamento destas últimas entidades clínicas é complicado, exigindo internamento que pode ser prolongado (CDC, 1991, citado por Black, 1997). As crianças que desenvolvem pneumonia por *C. trachomatis* estão em risco de desenvolver disfunção pulmonar e possivelmente doença respiratória crónica (Weiss, Newcomb & Beem, 1986, citados por Black, 1997 e Rogstad, 2008).

1.3.4. Sinais, sintomas e sequelas no homem

No homem, a uretrite é a habitual apresentação inicial da infecção por *C. trachomatis* (Hicks, 2008). Após 7 a 21 dias de incubação, a sintomatologia, quando presente, pode incluir disúria e corrimento uretral esbranquiçado (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Hicks, 2008), com ou sem inflamação do meato urinário (Hicks, 2008).

A uretrite pode complicar-se em epididimite, sendo *C. trachomatis* o agente mais comum de epididimite aguda em homens em risco de adquirir infecções sexualmente transmissíveis (IST) (Hicks, 2008).

Classicamente, a sintomatologia da epididimite devida a *C. trachomatis*, cursa com edema e dor escrotal unilateral, acompanhada de febre, em doentes jovens com história anterior de uretrite, que pode ter sido assintomática (Hicks, 2008).

O impacto da infecção na fertilidade masculina é pouco estudado e parece ser menor do que o impacto na fertilidade feminina, tendo em conta a natureza, habitualmente unilateral da infecção (Hicks, 2008).

Uma complicação sistémica da infecção por *C. trachomatis*, cerca de 15 vezes mais frequente no sexo masculino do que no feminino, é o síndrome de Reiter (Hicks, 2008; Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, 2009).

O síndrome de Reiter foi descrito pela primeira vez em 1916 por dois cientistas franceses, Fiessinger e Leroy, e um alemão Hans Conrad Reiter, que o descreveram como síndrome “óculo-uretro-sinovial” (Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, 2009). Já no Século IV antes de Cristo, Hipócrates mencionara que os homens jovens não sofriam de artrite até iniciarem a sua vida sexual, sendo provavelmente o primeiro a fazer a associação hoje conhecida como artrite reactiva adquirida sexualmente (ARAS) (Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, 2009).

A ARAS, causada pela infecção por *C. trachomatis*, é o último achado clínico a aparecer e é poliarticular e assimétrico (Hicks, 2008). Em 70% dos casos atinge o joelho, em 57% o tornozelo, em 35% a articulação do pé e em 45% os dedos e punhos (Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, 2009).

Cerca de metade dos casos de síndrome de Reiter cursam com alterações do foro dermatológico, como ulcerações indolores dos lábios, língua, palato, balanite e queratodermia na sola dos pés e palmas das mão (Hicks, 2008).

Segundo Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, em 2009, entre 65% a 85% dos indivíduos com ARAS são HLA-B27 (*Human leucocyte antigen*), os quais têm uma probabilidade mais elevada de desenvolver artrite crónica recorrente (Colbet, 2000; citado por Kwiatkowska & Filipowicz-Sosnowska, 2009).

1.3.5. Sinais, sintomas e sequelas comuns a ambos os géneros

Tanto em mulheres como em homens, a infecção genital por *C. trachomatis* pode originar uretrite (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Black, 1997).

Os serovares óculo-genitais de *C. trachomatis* podem causar proctite em ambos os géneros (Waalboer, *et al.*, 2006), com sintomatologia menos exuberante que a causada pelos serovares responsáveis pelo LGV, podendo mesmo ser assintomática o que é mais frequente entre o sexo feminino (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Hicks, 2008;

Waalboer, *et al.*, 2006). No entanto, os serovares LGV apresentam prevalências mais elevadas entre homens homossexuais (Waalboer, *et al.*, 2006). As primeiras manifestações clínicas de proctite, quando presentes, caracterizam-se pelo aparecimento de inflamação do recto, com dor e estreitamento ano-rectal acompanhadas de corrimento rectal mucopurulento hemorrágico e diarreia. Com a evolução da infecção há migração do agente para os gânglios linfáticos originando adenopatia inguinal (Hicks, 2008; Black, 1997).

A ARAS, que tipicamente afecta as grandes articulações (Rogstad, 2008; Hicks, 2008), pode ser consequência da infecção genital por *C. trachomatis* várias semanas após a infecção. Pensa-se que a bactéria seja transportada do aparelho genital nos macrófagos ou nas células dendríticas (Gaston, 2000, citado por Rogstad, 2008).

Pode também ocorrer conjuntivite, infecção da íris e queratodermia (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Rogstad, 2008).

A tabela 2 resume as manifestações clínicas e complicações da infecção por *C. trachomatis*, e os serovares relacionados.

Serovares	Doença Humana	Forma de transmissão	Patologia/Sequelas
A, B, Ba e C	Tracoma	Contacto mão-olho, fomite	Conjuntivite/Fibrose da conjuntiva e córnea
D, Da, E, F, G, H, I, Ia, J, Ja e K	Infecção oculogenital	Sexual e perinatal	Cervicite, uretrite, endometrite, bartolinite/PID, infertilidade, gravidez ectópica, conjuntivite neo-natal e pneumonia
L1, L2 e L3	Linfogranuloma venéreo	Sexual	Proctite com invasão da submucosa e gânglios linfáticos/necrose, granulomas e fibrose

Tabela 2 – Serovares de *C. trachomatis* e sua associação com a doença humana.

Adaptado de: “*Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*”, Nature | Immunology, Brunham & Rey-Ladino, 2005.

1.4. Epidemiologia

A infecção por *C. trachomatis* tem distribuição mundial (World Health Organization – WHO, 2001) e afecta maioritariamente jovens adultos sexualmente activos com menos de 30 anos de idade (ECDC, 2007), sendo a infecção sexual mais frequente nos países

desenvolvidos (ECDC, 2008) com grande significado e impacto na Saúde Pública global, devido ao risco subsequente de infertilidade (WHO, 2001).

A faixa etária feminina com maior incidência de infecção por *C. trachomatis* é mais nova do que a masculina, sendo este um padrão comum a todas as IST (ECDC, 2008; WHO, 2001).

O facto de mulheres com menos de 20 anos se encontrarem mais expostas do que as mais adultas, parece estar associado a diferenças anatómicas observadas no cervix de mulheres jovens, que se apresenta evertido, deixando mais exposto o epitélio escamoso colunar, habitualmente o primeiro alvo de infecção por *C. trachomatis* na mulher (Black, 1997).

A avaliação e/ou comparação a nível internacional dos índices de infecção por *C. trachomatis* é difícil, devido às diferenças entre os métodos de diagnóstico e de amostragem utilizados pelos diferentes países, pela existência de grupos alvo de vigilância epidemiológica distintos (ECDC, 2007; WHO, 2001) e sobretudo pelo facto de não ser, na maioria dos países, uma doença de declaração obrigatória (ECDC, 2007; CDC, 2006; WHO, 2001).

Nos Estados Unidos da América (EUA) só a partir de 1996 passou a ser obrigatória a declaração da infecção por *C. trachomatis* (Black, 1997). Em 2001 foi a doença infecciosa de declaração obrigatória mais declarada ao CDC com 783.242 casos. Em 2006 mantém-se como a doença infecciosa de declaração obrigatória mais frequente, com 1.030.911 casos declarados ao CDC (CDC, 2006). Neste país, a estimativa anual aponta para que cerca de 3 milhões de adolescentes e jovens sexualmente activos, sejam infectados (CDC, 2002). Em 1997 nos EUA, os custos anuais devidos à infecção por *C. trachomatis* foram estimados em 2.4 biliões de dólares (CDC, 2002).

Na Europa, em 2005, foram declarados ao ECDC, por 17 países, 203.691 casos de infecção por *C. trachomatis*, (ECDC, 2007). À semelhança dos EUA, é a doença

infecçiosa mais frequente entre as doenças de declaração obrigatória na Suécia (ECDC, 2008). Este país possui as actividades de controlo da infecção por *C. trachomatis* mais extensas e antigas do mundo (Low, 2004).

No Reino Unido e nos EUA, o maior número de casos declarados foi observado no grupo de indivíduos do sexo feminino entre os 15 e os 19 anos de idade, e na Suécia entre os 20 e os 24 anos de idade, para o mesmo sexo (CDC, 2002).

Para os três países, a faixa etária com maior número de casos relatados para o sexo masculino situa-se entre os 20 e os 24 anos (ECDC, 2008).

As faixas etárias citadas são aquelas em que se observa maior mudança de parceiro sexual (Peipert, 2003, citado por ECDC, 2008). Elevadas prevalências de infecção por *C. trachomatis* encontram-se associadas à mudança frequente de parceiro sexual (Macleod *et al.*, 2005 & van Bergan, *et al.*, 2005, citados por ECDC, 2008), não existindo outros riscos claramente identificados para a transmissão desta infecção, para além da idade e do comportamento sexual (ECDC, 2008).

A prevalência da infecção por *C. trachomatis* parece estar a aumentar nos últimos anos (ECDC, 2008), tendo em 1999 a WHO estimado a incidência de 92 milhões de novos casos de infecção por *C. trachomatis* em adultos em todo o mundo (figura 4).

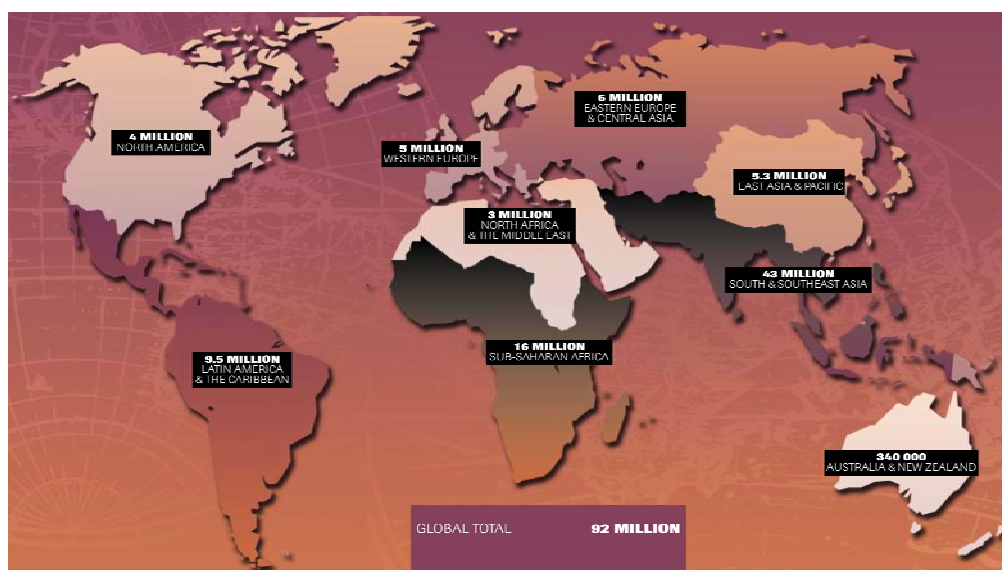


Figura 4 - Distribuição mundial de novos casos de infecção por *Chlamydia*, estimada em 1999 pela WHO. Adaptado de: “Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections Overview and Estimates”, WHO, 2001.

Dados do Eurostat de 2007, citados no Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe do ECDC, mostram que a incidência da infecção por *C. trachomatis* entre 1995 e 2004, aumentou acentuadamente a partir de 1999 (gráfico 1).

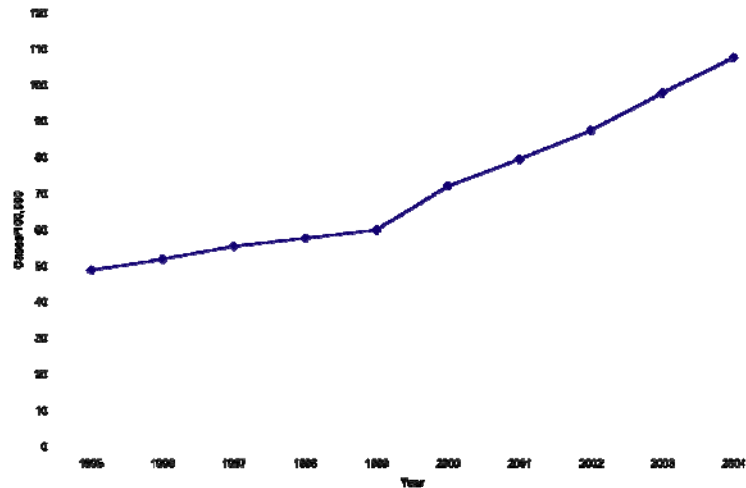


Gráfico 1 – Incidência das infecções causadas por *Chlamydia* em países da União Europeia. Casos declarados entre 1995 e 2004 pelos países: Bélgica, Dinamarca, Estónia, Finlândia, Grécia, Irlanda, Letónia, Lituânia, Malta, Holanda, Polónia, Eslováquia, Eslovénia, Espanha, Suécia, Reino Unido, Islândia e Noruega. Adaptado de: “Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe”, ECDC, 2007.

No gráfico 2, estão descritos os dados de estudos de alguns países seleccionados por Low em 2004, por possuírem actividades de controlo da infecção por *C. trachomatis* bem documentadas e estudos exaustivos sobre o assunto recentemente publicados

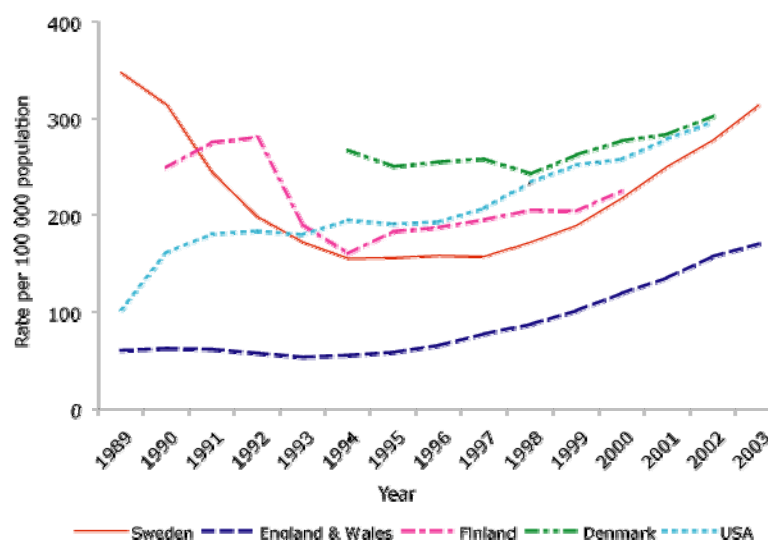


Gráfico 2 - Taxas de infecção genital por *C. trachomatis* em países seleccionados, entre 1989 e 2003. Nota ao gráfico: A comparação absoluta entre as taxas dos diferentes países não pode ser feita devido às variações na cobertura. No entanto, a tendência no tempo pode ser comparada. Adaptado de: “Current status of *Chlamydia* screening in Europe”, Euro Surveillance, Low, 2004. Com permissão (vide apêndices).

Este declínio é idêntico ao observado em outros estudos levados a cabo em vários locais da Europa (Nicoll *et al.*, 2001 & Coutinho *et al.*, 1992, citados por ECDC, 2008) e podem ser eventualmente atribuídos à mudança de comportamento sexual, devido ao medo pela infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) e às campanhas massivas para a prática de sexo seguro (Low, 2007; citada por ECDC, 2008).

O aumento de casos observado a partir de 1999 pode ser atribuído à combinação de diversos factores, entre eles ao aumento do número de indivíduos testados e a utilização de métodos de diagnóstico mais sensíveis. Outra possibilidade é o aumento real do número de casos de infecção relacionado com o aumento dos comportamentos de risco entre os jovens em geral (ECDC, 2008).

Em 2004, no capítulo Estratégias para Obter Mais Saúde para Todos – Abordagem à gestão integrada da doença, do Plano Nacional de Saúde 2004-2010 (PNS) português, do Ministério da Saúde e Direção-Geral de Saúde, é referido que em Portugal se conhece muito pouco sobre a prevalência das IST em grupos específicos, sendo que nos dados anteriormente referidos para países da Comunidade Europeia, não existem quaisquer dados declarados por Portugal. No entanto, estima-se que a prevalência seja idêntica à observada noutros países da Europa Ocidental, já que num estudo anteriormente efectuado esta foi de 4,6% (Brito De Sá, *et al.*, 2002), sendo a prevalência citada para Portugal pelo ECDC no *Chlamydia control in Europe*, em 2009.

No mesmo capítulo do PNS anteriormente citado, é ainda referido que a elevada prevalência da infecção pelo VIH em Portugal parece ser indicador da existência de números elevados de incidência das outras IST, sabendo-se também que nos últimos anos os factores responsáveis pelo aumento da incidência das IST têm ganho relevo, tais como o aumento do número de viajantes e migrantes, o aumento dos comportamentos sexuais de risco e a deterioração da resposta das estruturas de saúde no controlo das

IST, pelo que a prevalência da infecção por *C. trachomatis* em Portugal poderá ser mais elevada do que a registada noutros países da Europa.

Outros dos problemas referidos pelo PNS no controlo das IST é a inexistência de um sistema nacional de vigilância epidemiológica consistente, a ausência de formação adequada na área das IST dos profissionais de Saúde, particularmente a nível dos cuidados primários de saúde, um apoio laboratorial de qualidade e o não funcionamento da notificação obrigatória, que de qualquer modo não inclui a infecção por *C. trachomatis* (Minitério da Saúde, 2004).

O controlo da infecção por *C. trachomatis* é difícil, pelo facto de 70 a 80% das mulheres infectadas e cerca de 50% dos homens infectados serem assintomáticos (van de Laar & Morre, 2007; Schachter *et al.*, 1983, Stamm *et al.*, 1986 & Zelin *et al.*, 1995, citados por Black 1997; WHO, 2001), o que origina um grande reservatório de indivíduos infectados sem sintomatologia, capazes de transmitir a infecção aos seus parceiros sexuais (Black, 1997).

Desta forma, programas de rastreio para o controlo da infecção por *C. trachomatis*, tendo como alvo indivíduos jovens, são cruciais para a detecção precoce e tratamento da infecção dos indivíduos afectados e seus parceiros (ECDC, 2007).

A introdução de rastreios em larga escala tem sido seguida de decréscimos no número de pessoas infectadas por *C. trachomatis* em cerca de 60% (CDC, 2002).

A juntar aos custos tangíveis desta infecção, estão os custos intangíveis, causados pelas sequelas da infecção não tratada, que compreendem danos psicológicos e emocionais, originados pela infertilidade e pela gravidez ectópica (CDC, 2002).

1.5. Diagnóstico laboratorial da infecção urogenital por *C. trachomatis*

A inoculação em linhagens celulares para o diagnóstico laboratorial da infecção por *C. trachomatis* foi o único procedimento disponível, desde a sua descoberta em 1965, até

ao aparecimento de técnicas mais sofisticadas como a pesquisa de antígenos por imunofluorescência e a pesquisa de ácidos nucleicos na década de 90. É considerado o procedimento de referência, já que a sua especificidade se aproxima dos 100% (Black, 1997). No entanto, são procedimentos difíceis de padronizar e de executar, com elevado custo, tendo associado a difícil, mas indispensável manutenção do microrganismo viável durante o transporte e armazenamento (CDC, 2002).

O desenvolvimento de NAAT tem mostrado que a sensibilidade dos testes em cultura celular não é tão elevada como se desejaria, situando-se entre os 52 e os 88% (Schachter & Stamm, 1999).

Os testes laboratoriais para a detecção de *C. trachomatis* dividem-se em dois grandes grupos, os testes culturais e os testes não culturais, nos quais se incluem a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis*, a detecção de antígenos através de microscopia de fluorescência e através de ensaios imunoenzimáticos, a hibridação de ácidos nucleicos e os NAAT.

1.5.1. Colheita de amostras

O diagnóstico laboratorial correcto de infecção por *C. trachomatis* está directamente associado a uma colheita bem executada e à sua adequada preservação. Sendo as bactérias do género *Chlamydia* agentes patogénicos intracelulares obrigatórios, é necessário que as amostras possuam células do hospedeiro provenientes dos locais anatómicos eventualmente infectados, sendo adequadas as amostras que contenham células epiteliais infectadas e não apenas exsudado mucopurulento (Smith & Weed, 1975, citados por Clyde Jr, *et al.*, 1984).

1.5.1.2. Colheita e transporte de amostras endocervicais e uretrais

A colheita de amostras endocervicais, tanto para testes culturais como não culturais, deve ser realizada com espéculo. A zaragatoa ou escova citológica deve ser introduzida

no canal endocervical 1 a 2 centímetros em profundidade e rodada contra as suas paredes, duas ou mais vezes, durante 15 a 30 segundos (Black, 1997; CDC, 2002). A zaragatoa/escova deve ser retirada sem que haja contacto com a mucosa vaginal (CDC, 2002).

Previamente à colheita, a região deve ser cuidadosamente limpa de secreções e/ou exsudado, com uma primeira zaragatoa a desprezar, de forma a reduzir a quantidade de contaminantes da amostra como bactérias da flora comensal, eventuais agentes patogénicos concomitantes e muco (Black, 1997; Koneman *et al.*, 1997; CDC, 2002). Este procedimento tem sido recomendado por diferentes autores, incluindo as normas orientadoras do CDC, as mais recentes sobre esta matéria. No entanto, vários estudos têm demonstrado que amostras colhidas pela própria pessoa (zaragatoa endovaginal e tampão) apresentam sensibilidade e especificidade para NATT semelhantes às das amostras endocervicais colhidas da forma descrita anteriormente, possuindo ainda a vantagem de serem de obtenção menos invasiva (Knox, *et al.*, 2002; Shafer, *et al.*, 2003).

A utilização da escova citológica permite a obtenção de maior quantidade de células, mas possui a desvantagem de ser mais invasiva, podendo provocar hemorragia e está contra-indicada em mulheres grávidas (Black, 1997; Koneman *et al.*, 1997; CDC, 2002).

No que se refere especificamente aos testes culturais, o material de que é constituída a zaragatoa deve ser escolhido evitando materiais tóxicos para o microrganismo. Preferencialmente, devem ser usados materiais como o algodão, o Dracon[®] ou o rayon (Black, 1997; Clyde Jr, *et al.*, 1984; Schachter & Stamm, 1999; CDC, 2002), devendo evitar-se o alginato de cálcio, assim como não devem ser usadas zaragatoas com cabo de madeira (CDC, 2002).

A utilização de uma zaragatoa uretral, incluída no mesmo meio de transporte que a zaragatoa endocervical, eleva a sensibilidade da cultura em 23% (Jones *et al.*, 1986, citados por Black, 1997, e por CDC, 2002; Koneman *et al.*, 1997).

As amostras endocervicais e uretrais devem ser obtidas com uma abstinência urinária de pelo menos uma hora antes da colheita (Black, 1997; CDC, 2002). A micção arrasta para o exterior células provenientes da descamação normal da mucosa, originando uma redução da sensibilidade, se a amostra uretral for colhida imediatamente a seguir à micção (Black, 1997).

A colheita uretral efectua-se introduzindo uma zaragatoa na uretra, 1 a 2 centímetros em profundidade na mulher e 2 a 4 centímetros em profundidade no homem, rodando uma ou mais vezes antes de retirar (Black, 1997; CDC, 2002).

As zaragatoas destinadas a cultura e a NAAT devem ser colocadas em recipiente estéril, com meio de transporte de fosfato de sucrose ou meio de glutamato sucrose fosfato, suplementados com 5% de soro bovino fetal, 10µg/mL de gentamicina, 100µg/mL de vancomicina e 1µg/mL de anfotericina B (Black, 1997; Schachter & Stamm, 1999; CDC, 2002).

Para os testes culturais, as zaragatoas podem ser mantidas durante 24h a 4°C. Se o tempo para processamento exceder as 24 horas, podem ser armazenadas congeladas no meio de transporte a -70°C, mantendo a viabilidade durante dois anos (CDC, 2002). No entanto, pode ser observada uma perda de 20% da viabilidade do microrganismo (Mahony & Chernesky, 1994 e Reve, Owen & Oriel, 1975, citados por Black, 1997).

Para NAAT, as zaragatoas podem ser mantidas até 5 dias, entre os 2 a 27°C; até 7 dias, entre os 2 a 8°C e até 60 dias podem ser armazenadas congeladas a -70°C (CDC, 2002).

Para testes de captura de ácidos nucleicos, as zaragatoas podem ser mantidas até 7 dias, entre os 2 e os 25°C e até 60 dias podem ser armazenadas congeladas a -20°C (CDC, 2002).

1.5.1.3. Colheita de amostras de urina

Devem ser colhidos 10 a 30 mL do primeiro jacto urinário para contentor estéril, com uma abstinência urinária de pelo menos uma hora antes da colheita (Sellors *et al.*, 1993, citados por CDC, 2002), de forma a potenciar a presença de células do indivíduo na amostra. As amostras podem ser mantidas até 24 horas à temperatura ambiente, ou preferencialmente, entre 2 e 8°C, o que dilata o tempo de armazenamento para 5 dias (CDC, 2002). Até 60 dias, podem ser armazenadas congeladas a -20°C (CDC, 2002).

A utilização de amostras de urina para cultura de *C. trachomatis* não apresenta qualquer utilidade devido à menor carga de microrganismos que apresenta em relação às amostras endocervicais (Black, 1997; Clyde Jr, *et al.*, 1984), devendo ser utilizadas apenas para aplicação de NAAT e testes rápidos.

Quando se utilizam NAAT, a manutenção destas amostras à temperatura ambiente deve ser evitada, pois a presença de elevadas quantidades de ureia e o baixo pH, características destas amostras, rapidamente desnaturam o DNA (Black, 1997).

1.5.2. Características dos Testes utilizados

1.5.2.1. Testes culturais

Dos testes disponíveis, a cultura em linhas celulares é o único que permite o isolamento e a manutenção do microrganismo, permitindo estudos de genotipagem e testes de sensibilidade aos antibióticos (Schachter & Stamm, 1999; Black, 1997). Presentemente é mais utilizado em laboratórios que trabalham em linhas de investigação sobre bactérias do género *Chlamydia*, não sendo um método apropriado para diagnóstico, por ser menos sensível que os NAAT, possuir exigências técnicas não acessíveis a todos os laboratórios e possuir um elevado tempo de resposta (van der Pol, 2008)

A técnica mais comum para o isolamento em cultura de *C. trachomatis* utiliza células McCoy em monocamada tratadas com cicloheximida (Ripa & Mardh, 1977, citados por

Schachter & Stamm, 1999; Yoder, Stamm & Koester, 1981, citados por Koneman *et al.*, 1997; Clyde Jr, *et al.*, 1984) para inoculação de amostras clínicas. Podem ainda ser utilizadas outras linhagens, referidas em 1.1.

O princípio básico envolve a centrifugação da monocamada de células com a amostra biológica durante uma hora (Schachter & Stamm, 1999). Previamente, a amostra biológica deve ser tratada por um processo físico como a maceração com esferas de vidro ou sonicação, para que haja ruptura das células e das inclusões celulares do hospedeiro, com consequente libertação dos CE (Warford *et al.*, 1985, citado por Black, 1997). O meio de cultura sobre a monocamada de células é removido e substituído meio de transporte para cultura, em quantidade suficiente para cobrir a monocamada celular a infectar, onde está amostra biológica previamente tratada (Black, 1997).

Após a centrifugação, a preparação incuba durante 48 a 72 horas a 37° C (Schachter & Stamm, 1999), sendo as inclusões reveladas usando anticorpos espécie-específicos anti-MOMP, marcados com um conjugado fluorescente. Podem também ser usadas colorações como a iodina ou o Giemsa, menos dispendiosos, mas também menos sensíveis (Clyde Jr, *et al.*, 1984; Schachter & Stamm, 1999).

1.5.2.2. Pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis*

Para pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* no soro têm sido usadas técnicas como a fixação do complemento, a aglutinação, a hemaglutinação, a hemólise em gel e a radioimunoprecipitação. Actualmente, as técnicas mais usadas são os ensaios imunoenzimáticos (EIE), a imunofluorescência indirecta (IFI) e a microimunofluorescência (MIF) (Moss & Darougar, 2008).

A IFI e a MIF são as duas técnicas aceites como referência para determinação de anticorpos específicos anti-*C. trachomatis* (Jones, *et al.*, 2003).

A IFI, também designada por *whole cell inclusion immunofluorescence assay* (Akande, *et al.*, 2003), utiliza como antigénio células McCoy infectadas com o serovar L2 de *C. trachomatis*. Neste sistema, todas as inclusões celulares funcionam como antigénio, em contraste com o que acontece na MIF, em que apenas os CE actuam como antigénios. A IFI detecta anticorpos género específicos, os anti-LPS, assim como os anticorpos espécie específicos, os anti-MOMP (Jones, *et al.*, 2003).

A MIF é a única técnica serológica que detecta anticorpos espécie e serovar-específicos, tendo permitido a diferenciação dos diferentes serovares das espécie *C. trachomatis* (Black, 1997). Consiste num painel de micropoços, contendo CE dos serovares D-K purificados a partir de culturas em ovos embrionados. Os serovares podem ser usados isolados cada um num micropoço ou podem ser usados em *pools* de serovares atigenicamente relacionados, sendo as quatro *pools* mais utilizadas: L1, L2 e L3; a B, E, e D; a C, H, I e J e a G, F, e K (Black, 1997).

Tanto na MIF como na IFI, várias diluições do soro a testar são incubadas nos micropoços, posteriormente corados com imunoglobulina (Ig) anti-Ig humana marcada com fluoresceína, de forma a que a reacção seja visualizada ao microscópio de fluorescência (Black, 1997).

A vantagem da IFI sobre a MIF prende-se com a utilização do microrganismo completo, o que permite a detecção dos diferentes anticorpos produzidos em resposta à infecção por *C. trachomatis*, o que eleva a sensibilidade do teste. Por outro lado, esta vantagem pode ser comprometida da especificidade, já que outras espécies como *C. pneumoniae* e *C. psittaci* são agentes prevalentes de doença humana, podendo observar-se reacções cruzadas, caso o indivíduo em estudo já tenha tido contacto com esses agentes (Jones, *et al.*, 2003).

A MIF e a IFI são ambas técnicas laboriosas e sujeitas à subjectividade do microscopista, adequando-se com dificuldade ao processamento de um elevado número de amostras (Jones, *et al.*, 2003).

Os EIE utilizam como antígenos as MOMP, sob a forma de péptidos sintéticos ou na forma nativa, por estes serem considerados antígenos espécie e serovar específicos (Ortiz, 2000, citado por Jones, *et al.*, 2003). Embora estes testes já apresentem boas correlações com os testes de IFI, serão ainda necessários mais estudos para melhoria da sensibilidade e especificidade (Jones, *et al.*, 2003), o que é importante, já que são de execução mais fácil, permitindo a sua aplicação a um número mais elevado de amostras e a amostras não invasivas como a saliva, onde a concentração de IgG é cerca de cem vezes mais elevada que no soro (McKie, *et al.*, 2002, citados por Jones, *et al.*, 2003)

Os anticorpos produzidos em resposta à infecção por *C. trachomatis* são persistentes, pelo que uma pesquisa positiva não distingue entre uma infecção prévia e uma infecção aguda activa. No entanto, a sua utilização numa fase inicial e posteriormente durante a fase de convalescência pode ser útil, já que um aumento de cerca de quatro vezes é indicador de infecção activa (Black, 1997).

No caso do LGV, dado ser uma doença sistémica, a produção de anticorpos é mais exuberante, desenvolvendo-se mais cedo e com um nível de anticorpos muito mais elevado do que aquele observado na infecção localizada provocada pelos serovares urogenitais, que pode levar cerca de um mês até que se observe elevação do título de anticorpos (Black, 1997).

Vários estudos seroepidemiológicos sugerem uma forte associação entre a presença de anticorpos anti-*C. trachomatis* e infertilidade por oclusão das trompas ou gravidez ectópica, em mulheres com ou sem história de DIP (Akande, *et al.*, 2003; Den Hartog, *et al.*, 2005; Den Hartog, *et al.*, 2004; Gijsen, *et al.*, 2001; Paavonen & Eggert-Kruse, 1999).

No estudo de Akande, *et al.* em 2003, os autores estudaram o valor preditivo da utilização dos anticorpos anti-*C. trachomatis* para as alterações das trompas em mulheres inférteis, foi observado que nas mulheres estas alterações o título de anticorpos reactivos era mais elevado do que em mulheres que não apresentavam esta condição (1:1024 *versus* 1:64) e que mulheres com alterações das trompas, mas sem oclusão, apresentavam títulos mais baixos do que as mulheres que apresentavam oclusão das mesmas (1:512 *versus* 1:1024).

No RN a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* não tem interesse na conjuntivite, pois é raro o aparecimento de IgM e as IgG presentes são maioritariamente maternas. O mesmo já não se passa no caso da pneumonia, em que um título de IgM igual ou superior a 1:32 constitui diagnóstico de infecção (Darville, 2005).

1.5.2.3. Pesquisa de antígenos de *C. trachomatis* por Imuno-fluorescência directa

Estas técnicas são utilizadas em amostras endocervicais e oculares. As amostras endocervicais são colhidas como referido anteriormente em 1.5.1.2.

As zaragoas devem ser aplicadas em lâmina de microscopia e fixadas de imediato com álcool ou acetona, deixando secar ao ar durante 10 minutos. Devem ser mantidas à temperatura ambiente ou a 4°C até serem coradas. Lâminas não coradas podem ser armazenadas a -20°C por um período de 2 anos (CDC, 2002).

A IFD utiliza suspensões de anticorpos monoclonais anti-LPS ou anti-MOMP dos CE, marcados com fluoresceína, sob esfregaços citológicos (Clyde Jr, *et al.*, 1984; Koneman, *et al.*, 1997; van der Pol, 2008).

As metodologias que empregam anticorpos monoclonais anti-LPS, são menos específicas para *C. trachomatis*, por reagirem com o LPS de praticamente todas as espécies de bactérias do género *Chlamydia*, reactividade cruzada que não se observa

quando utilizados anticorpos anti-MOMP (Schachter & Stamm, 1999; van der Pol, 2008).

O LPS distribui-se de forma irregular nos CE, originando uma fluorescência de menor qualidade (Cles *et al.*, 1988, citados por Schachter & Stamm, 1999) do que aquela observada quando utilizados anticorpos anti-MOMP, uma vez que estas proteínas se distribuem de forma mais regular que o LPS nos CE (Schachter & Stamm, 1999).

Apesar da sua rápida execução (cerca de trinta minutos), esta metodologia requer um microscópio de fluorescência (equipamento de elevado custo) e um microscopista experiente (Schachter & Stamm, 1999). A sensibilidade de 75% a 85%, e a especificidade de 98% a 99% (Schachter & Stamm, 1999), que apresentam são relativas ao desempenho da metodologia em condições ideais, sendo de notar que é fortemente afectada pela qualidade da amostra no que se refere à presença de células do hospedeiro e pela subjectividade ou inexperiência do operador (Koneman, *et al.*, 1997; Schachter & Stamm, 1999).

1.5.2.4. Pesquisa de antígenos de *C. trachomatis* por ensaios imunoenzimáticos

Actualmente, esta metodologia aplica-se em amostras endocervicais, uretrais e de urina, utilizando anticorpos monoclonais ou policlonais para o LPS (van der Pol, 2008).

Possuem um tempo de execução de algumas horas e são aplicáveis à análise de numerosas amostras (Schachter & Stamm, 1999; van der Pol, 2008).

Mais recentemente, esta metodologia tem sido utilizada em testes rápidos, com um tempo de execução entre os trinta e os quarenta minutos. Estes testes apresentam uma boa especificidade, mas têm uma sensibilidade moderada (van der Pol, 2008).

Os testes comerciais existentes são o Unipath Clearview[®] *Chlamydia* MF, o Kodak Surecell[®], o Quidel QuickVue[®], o Biostar OIA[®] e o Handilab[®] *Chlamydia* C.

Com a exceção do Kodak Surecell[®] foram encontradas referências de estudos para todos os outros testes. Foi possível consultar os estudos referentes ao teste Unipath Clearview[®] *Chlamydia* MF e ao teste Biostar OIA[®].

O Unipath Clearview[®] *Chlamydia* MF foi estudado por Yin *et al.* em 2006, numa população de 1497 mulheres com uma média de idades de 28 anos. As participantes foram recrutadas em clínicas de IST, em centros de re-educação e em locais de entretenimento sexual em seis diferentes estados da China. Os autores observaram uma baixa sensibilidade (32,8% para amostras vaginais e 49,7% para amostras endocervicais) e uma elevada especificidade (99,2% para amostras vaginais e 97,9% para amostras endocervicais), comparativamente com a técnica de reacção da polimerase em cadeia (PCR - do inglês *polimerase chain reaction*).

O teste Biostar OIA[®] foi estudado por Bandea *et al.* em 2009, numa população urbana de 261 mulheres não grávidas com idades entre os 13 e os 19 anos. Os autores observaram uma sensibilidade de 59,4% e uma especificidade de 98,4%, comparativamente com a técnica de reacção da ligase em cadeia (LCR - do inglês *ligase chain reaction*).

O desenvolvimento de um teste rápido para o diagnóstico de IST por *C. trachomatis* é uma prioridade da *Sexually Transmitted Diseases Diagnostics Initiative* (2001) da WHO, que promove o desenvolvimento de testes que preencham os critérios ASSURED, um acrónimo de:

- *Affordable* – acessível para os que estão em risco;
- *Sensitive* – poucos falsos negativos;
- *Specific* – poucos falsos positivos;
- *User-friendly* – de execução simples em três ou quatro passos;

- *Rapid and Robust* – rápido para permitir o início do tratamento na primeira visita e robusto de forma a não necessitar de refrigeração para acondicionamento;
- *Equipment-free* – utilização de amostras não invasivas;
- *Delivered* – que possa ser distribuído aos utilizadores finais.

Actualmente ainda não existe um teste rápido para o diagnóstico de *C. trachomatis* que preencha todos os requisitos, nomeadamente, no importante aspecto da sensibilidade, mas a utilização dos testes rápidos existentes pode auxiliar no controlo da IST por *C. trachomatis* em locais onde o recurso a NAAT não está disponível, em populações onde a taxa de retorno para tratamento é baixa e/ou a prevalência da infecção por *C. trachomatis* é elevada (Bandeia, *et al.*, 2009; Peeling, *et al.*, 2006; Yin, *et al.*, 2006). Um teste rápido com uma sensibilidade baixa, mesmo inferior a 65%, pode ajudar no aumento do número de casos tratados (Gift *et al.*, 1999, citados por Bandea, *et al.*, 2009).

1.5.2.5. Hibridação de ácidos nucleicos

Estes testes utilizam sondas de DNA marcadas com fluorocromo, de sequência complementar a uma sequência espécie-específica do RNA ribossomal 16S presente nas células bacterianas de *C. trachomatis* em número elevado de cópias, não sendo necessária amplificação (Black, 1997; van der Pol, 2008). Quando os híbridos DNA/RNA se formam, há emissão de luz quimioluminiscente (Black, 1997).

Estes testes possuem um bom desempenho, sendo passíveis de automatização com capacidade de processamento de numerosas amostras num curto espaço de tempo, mas com uma sensibilidade inferior à registada para os NAAT. No entanto, possuem a vantagem de uma menor possibilidade de contaminação ou inibição, já que o alvo não é amplificado (van der Pol, 2008).

1.5.2.6. Testes de amplificação de ácidos nucleicos

O desenvolvimento dos NAAT é, provavelmente, o mais importante avanço tecnológico no diagnóstico laboratorial da infecção urogenital por *C. trachomatis*, desde a utilização de linhagens celulares para cultura *in vitro* deste microrganismo na década de 60, em substituição da inoculação em ovos embrionados (Black, 1997). Tem-lhes sido reconhecida elevada sensibilidade, tendo a capacidade de produzir sinal positivo com apenas uma cópia do alvo genético a amplificar (CDC, 2002) e oferecem a possibilidade de utilizar amostras de obtenção não invasiva, como a urina, para além das amostras endocervicais e uretrais, permitindo a aderência de indivíduos assintomáticos ao rastreio destas infecções (Black, 1997; CDC, 2002). Outra vantagem encontra-se no facto de não necessitarem da presença do microrganismo viável (CDC, 2002).

Vários autores citados por van der Pol, em 2008, referem os NAAT como a melhor ferramenta diagnóstica disponível no momento para o diagnóstico da infecção por *C. trachomatis*.

No entanto, não existe um verdadeiro teste de referência para o diagnóstico desta IST, pelo que, uma avaliação do desempenho real destes testes é difícil e antes de serem adoptados para programas de rastreio e de diagnóstico na população, a sua reprodutibilidade, a sua validade clínica e diagnóstica e o custo/eficiência devem ser cuidadosamente avaliados por equipas multidisciplinares (Hadgu & Sternberg, 2009).

Verhoeven *et al.* em 2003, levantam cinco questões relacionadas com a implementação dos NAAT em grande escala por rotina e com a sua aplicação em programas de rastreio na comunidade.

A primeira questão prende-se com a necessidade de existirem vários locais onde a população se possa dirigir para efectuar NAAT, o que comporta custos elevados (Chernesky, 2002; citado por Verhoeven, *et al.*, 2003).

A segunda razão deriva do facto de que os testes diagnósticos têm desempenhos diferentes dependendo das características da população a que são aplicados, variando o valor preditivo positivo em função da prevalência da doença, questão corroborada por Watson *et. al* em 2002, referindo que existem evidências de que os NAAT para diagnóstico da infecção por *C. trachomatis* possuem melhores desempenhos quando aplicados em doentes sintomáticos, talvez por estes possuírem uma maior quantidade de CE.

A terceira razão relaciona-se com problemas de reprodutibilidade dos testes, sendo necessários testes confirmatórios quando um resultado é indeterminado ou perto do ponto de corte (Verhoeven, *et al.*, 2003). Esta questão é também colocada por Hadgu & Sternberg em 2009, referindo que os problemas de reprodutibilidade se colocam sobretudo em amostras fracamente positivas. Para alguns NAAT mais de metade das amostras pouco infectadas não são positivas numa repetição da mesma (Schachter *et. al*, 2006, citados por Hadgu & Sternberg em 2009). Um resultado positivo de fraca intensidade, não causado por eventuais inibidores, é indicador de uma baixa quantidade de microrganismos na amostra, pelo que a hipótese de uma repetição dessa amostra observar um resultado positivo é uma questão circunstancial, já que numa segunda porção da amostra é possível que não exista uma quantidade de material genético detectável (Verhoeven, *et al.*, 2003).

A quarta razão prende-se com possíveis contaminações durante o processo analítico e a quinta relaciona-se com o significado clínico de resultados fracamente positivos, pois uma reduzida quantidade de DNA pode significar uma infecção depurada ou tratada, a presença de microrganismos não viáveis ou quantidades de microrganismos tão reduzidas que não produzem infecção (Verhoeven, *et al.*, 2003).

Existem diferentes tipos de NAAT que podem ser aplicados para o diagnóstico laboratorial da infecção por *C. trachomatis*, entre eles a técnica de PCR, a técnica de

PCR em tempo real, a técnica de LCR, a técnica de *transcription mediated amplification* (TMA) e a técnica de *strand displacement amplification* (SDA) (Bébéar & De Barbeyrac, 2009; Carder, *et al.*, 2006).

Os genes alvo de amplificação são os que se apresentam em múltiplas cópias, como por exemplo, os genes do pCT e os genes que codificam para as MOMP (Bébéar & De Barbeyrac, 2009).

Ao contrário das técnicas de PCR e de LCR, as técnicas de TMA e de SDA são isotérmicas, dispensando a utilização de termocicladores e possuem a vantagem de terem um menor tempo de reacção.

A utilização destas técnicas em amostras de urina levanta a questão da presença de inibidores da reacção. A inibição parece ser teste específica, já que num estudo levado a cabo por Mahony *et al.* em 1998, os autores registaram inibição de reacção em 77 de um total de 388 urinas (101 de mulheres grávidas e 287 não grávidas) testadas por técnicas de PCR, LCR e TMA, em que 11 urinas apresentaram inibição em dois dos testes e nenhuma apresentou inibição com todos os testes. Neste estudo foi observado que na técnica de PCR a inibição se associava significativamente à presença da hormona gonadotropina coriónica humana β , de cristais e de bactérias, na técnica de LCR apenas a presença de nitritos se associava significativamente com a inibição e que para a técnica de TMA a presença de cristais e de hemoglobina estava associada à inibição.

Ainda no mesmo estudo os autores testaram o efeito do armazenamento a diferentes temperaturas (4°C e -70°C) *overnight* e diluições da amostra, registando para qualquer uma das temperaturas uma significativa redução da inibição (42,1% para a técnica de PCR, 55,5% para a de LCR e 79,1% para a de TMA). O armazenamento a 4°C ou a -70°C em conjunto com uma diluição da amostra de um para dez, removeu todos os

inibidores no caso da técnica de LCR, em 16 de 19 amostras no caso da técnica de PCR e em 22 de 24 amostras no caso da técnica de TMA.

É possível que o congelamento e descongelamento das amostras de urina destrua moléculas lábeis de inibidores e/ou liberte mais eficazmente os ácidos nucleicos por ruptura das células microbianas, enquanto que a diluição reduz apenas a actividade dos inibidores (Mahony, *et al.*, 1998).

A ocorrência de inibição da reacção pode ser detectada pela utilização de controlos de amplificação, denominados por controlo interno (CI), como por exemplo, a inclusão de *primers* para o gene da β -globina humana, na mistura de reagentes para a reacção (Black, 1997).

Outra origem de resultados falsos negativos no diagnóstico laboratorial de infecções por *C. trachomatis* utilizando NAAT, prende-se com a utilização dos genes contidos no pCT, já que existem variantes com deleção de 377pb, como anteriormente referido. Muito embora não haja evidência de que essa variante se tenha disseminado da Suécia, onde foi identificada, para o resto da Europa, dificilmente esta variante é detectada através de NAAT que utilizem essa região como alvo, pelo que é necessária a utilização de outras regiões, como as dos genes codificadores das MOMP, ou de RNA ribossomal. Desta forma, a utilização de NAAT com mais do que um par de *primers* na mesma reacção, com alvos genéticos distintos para o mesmo microrganismo (Bébéar & De Barbeyrac, 2009) é vantajosa, pois eleva a sensibilidade do teste, sendo denominados por NAAT *multiplex*.

1.2. Associação da infecção por *C. trachomatis* com outros microrganismos

1.2.1. Associação com *Neisseria gonorrhoeae*

As infecções genitais originadas *N. gonorrhoeae* são as mais prevalentes a nível global, imediatamente a seguir às originadas por *C. trachomatis* (WHO, 2004).

A cervicite causada por *C. trachomatis* origina habitualmente manifestações subclínicas, enquanto que a cervicite causada por *N. gonorrhoeae* origina manifestações clínicas mais agudas, sendo idênticas as sequelas da infecção não tratada ou tratada tardiamente (Imudia, *et al.*, 2008).

A co-infecção genital com o envolvimento destes dois agentes é frequente (CDC, 2006). Em 1982, estimava-se que a infecção por *C. trachomatis* seria concomitante em mais de 45% dos casos de infecção por *N. gonorrhoeae*, sendo recomendando que todos os doentes com uretrite e/ou cervicite por *N. gonorrhoeae* deveriam receber também terapêutica para *C. trachomatis* (CDC, 1982; citado por Lyss, *et al.*, 2003). As normas orientadoras mais recentes (2006) do CDC para o tratamento de doentes com IST, recomendam que os homens com suspeita de uretrite ou uretrite confirmada e as mulheres com cervicite ou suspeita de DIP devem realizar diagnóstico laboratorial através de NAAT na urina ou em zaragatoa uretral/cervical para *C. trachomatis* e *N. gonorrhoeae*. Recomendam ainda o tratamento empírico para ambos os agentes em doentes enquadrados em grupos de risco elevado (menores de 25 anos sexualmente activos, população onde a prevalência destes agentes é elevada) e em casos em que é difícil efectuar o seu acompanhamento.

1.2.2. Associação com o vírus da imunodeficiência humana

A associação epidemiológica entre a infecção humana pelo VIH e outras IST, tanto em países desenvolvidos como em países em vias de desenvolvimento, tem sido constantemente referida por vários investigadores, sendo denominada por “sinergismo epidemiológico” (CDC, 1998).

A presença de IST, ulcerativas ou não ulcerativas, podem elevar, quer o risco de infecção, quer a transmissão do VIH até 10 vezes (WHO, 2004).

As IST causadoras de úlceras como a sífilis e o herpes genital, entre outras, têm sido unanimemente apontadas como co-factores importantes na transmissão do VIH (Wasserheit, 1992; citado por Levine, *et al.*, 2003). No entanto, vários estudos têm demonstrado evidência epidemiológica do papel das IST não ulcerativas, como é o caso de infecção genital por *C. trachomatis*, no aumento da susceptibilidade para a infecção pelo VIH (Levine, *et al.*, 1998).

Na tentativa de perceber qual o efeito das IST não ulcerativas sobre o número de células susceptíveis ao VIH na mucosa vaginal e cervical, Levine *et al.* em 1998 efectuaram um estudo em 64 mulheres com serologia negativa para o VIH, 10 com infecção genital por *C. trachomatis*, 15 por *Neisseria gonorrhoeae* e 3 por *Trichomonas vaginalis*, 4 com co-infecção e um grupo controlo de 32 mulheres sem qualquer infecção. Os investigadores analisaram por citometria de fluxo suspensões salinas de raspados da mucosa vaginal, do ectocervix e de escovas citológicas colhidas no endocervix, sendo este último o que apresentou maior número de células susceptíveis ao VIH. A mediana de linfócitos CD4 no endocervix entre as participantes com IST foi de 476/10.000 células e nas participantes sem IST foi de 245/10.000 células. As participantes com IST por *C. trachomatis* foram as que registaram uma mediana linfócitos CD4 mais elevada

de no endocervix (*C. trachomatis* – 518/10.000 células, *N. gonorrhoeae* – 478/10.000 células, *T. vaginalis* – 270/10.000 células).

Ressalvando o facto de a amostra ser reduzida, os dados obtidos pelos autores sugerem um aumento da susceptibilidade à infecção pelo VIH em mulheres com IST por *C. trachomatis*.

Num estudo de meta-análise efectuado por Johnson e Lewis em 2008, os autores observaram que as infecções associadas a um aumento do número de leucócitos (células que devido ao processo inflamatório se encontram activadas, expondo os seus receptores, facilitando a entrada do vírus) no aparelho genital, entre elas a infecção por *C. trachomatis*, estão também associadas a um significativo excreção do VIH-1, pelo que estas infecções são factores importantes na potenciação da transmissão deste vírus, sendo por isso doenças a ter em conta pelas estratégias de prevenção da transmissão do VIH (Johnson & Lewis, 2008).

Já em 2004 a WHO considerava a prevenção e tratamento das IST como um componente estratégico importante na prevenção da infecção pelo VIH, pelos motivos anteriormente referidos.

1.3. Actividades para controlo da infecção por *C. trachomatis* na Europa

Na Europa é notória uma crescente preocupação em relação à infecção genital por *C. trachomatis* e suas sequelas, tendo sido recentemente implementados programas de rastreio na Holanda e Reino Unido. O ECDC publicou em pouco mais de um ano dois relatórios específicos sobre esta problemática, o primeiro em Maio de 2008, o *Project SCREEn Technical Report – Review of Chlamydia Control Activites in EU Countries* e o segundo em Junho de 2009, o *Chlamydia Control in Europe*, traçando este último linhas orientadoras para adopção de estratégias de controlo desta infecção.

Segundo o relatório final do *Project SCREEn Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries*, existem cinco categorias de actividades de controlo na Europa descritas na tabela 3. Os indicadores de risco referidos na mesma, observados pela categoria de teste oportunista incluem: 24 anos de idade ou menos com actividade sexual, ter história de infecção anterior por *C. trachomatis* ou por outro agente de IST, novo parceiro ou vários parceiros sexuais, utilização inconsistente de preservativo e oferta de sexo em troca de dinheiro ou drogas (ECDC, 2008).

Categoria	Critério
Sem actividade organizada	Inexistência de normas orientadoras para um diagnóstico efectivo e para o encaminhamento dos casos diagnosticados.
Encaminhamento de casos	Existência de normas orientadoras para pelo menos um grupo de profissionais de saúde, publicadas por uma organização profissional. Existência de normas orientadoras que cubram pelo menos os testes diagnósticos e a antibioterapia a aplicar.
Notificação de parceiros	O anterior e a existência de normas orientadoras para a notificação dos parceiros dos casos diagnosticados ou a oferta do teste aos contactos da pessoa diagnosticada com infecção por <i>C. trachomatis</i> e/ou outra IST.
Despiste oportunista	O anterior e a existência de normas orientadoras para oferta do teste a pelo menos um grupo de pessoas assintomáticas em risco.
Programas de rastreio	O anterior e actividades de rastreio organizadas dentro do sistema de saúde público, cobrindo uma parte significativa da população.

Tabela 3 – Classificação das actividades de controlo para *C. trachomatis* na Europa.

Adaptado de: “*Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries - Project SCREEn*”, ECDC, 2008.

Neste relatório foi avaliada a associação entre a intensidade das actividades de controlo da infecção por *C. trachomatis* e o produto interno bruto (PIB) *per-capita*, não tendo sido encontrada associação significativa (gráfico 3). Observou-se, inclusivamente, que o grupo de países sem actividades organizadas inclui os dois países com o mais elevado PIB *per-capita* da Europa, Liechtenstein e Luxemburgo, e o país com o menor PIB *per-capita* da Europa, a Turquia. O grupo de países sem actividades de controlo organizadas é o maior, com treze países incluindo Portugal.

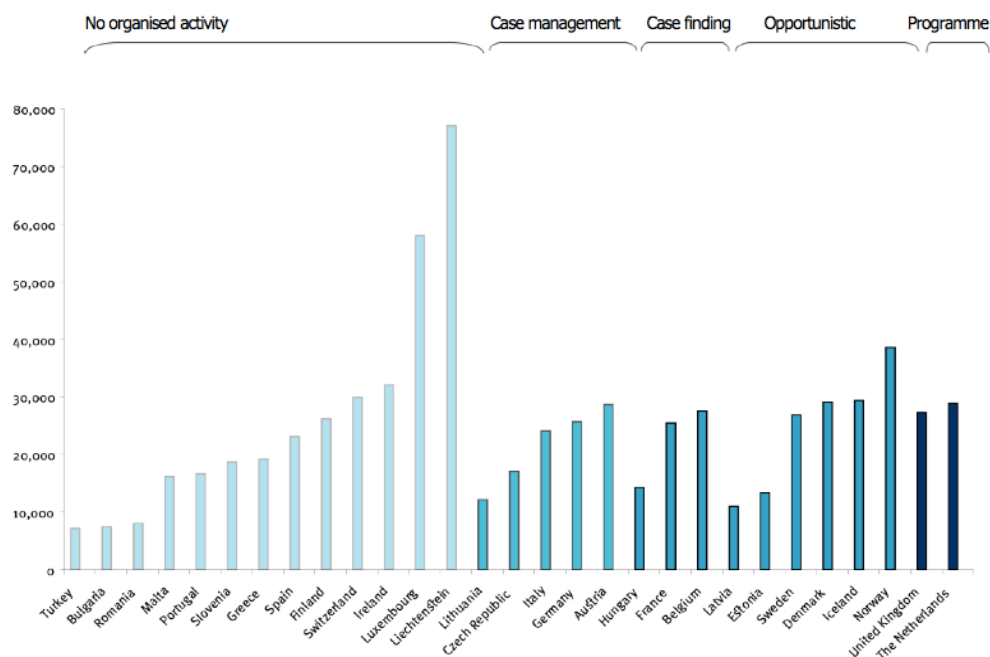


Gráfico 3 – Categorias das actividades de controlo da infecção por *C. trachomatis* por país e PIB *per-capita* em Euros nos países participantes no *Project SCREEn*.

Adaptado de: “*Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries - Project SCREEn*”, ECDC, 2008.

Com permissão (vide apêndices).

A Suécia foi o primeiro país do mundo a considerar a infecção por *C. trachomatis* uma doença de declaração obrigatória e a disponibilizar gratuitamente os testes para diagnóstico, sendo obrigatória a notificação de parceiros das pessoas diagnosticadas (ECDC, 2008). Os grupos de indivíduos a quem o teste é oferecido varia dentro da Suécia, mas o teste diagnóstico e a terapêutica são oferecidos sobretudo a jovens e a mulheres que procuram iniciar um método anti-contraceptivo. Este país encontra-se classificado na categoria de teste oportunista, já que as actividades que desenvolve não constituem uma actividade de rastreio organizado (ECDC, 2008).

Os únicos países em que se registam actividades organizadas de rastreio da população são o Reino Unido e a Holanda (ECDC, 2008) (tabela 4).

Em Junho de 2009 o ECDC publicou um documento com o título *Chlamydia Control in Europe*, documento que pretende auxiliar os estados membros da União Europeia a desenvolver e implementar estratégias nacionais de controlo da infecção por *C. trachomatis*. As orientações presentes neste documento recomendam uma abordagem passo a passo (tabela 5), de forma a que antes da implementação de programas de

rastreio massivo da população, estejam primeiro garantidas estratégias de prevenção das IST e encaminhamento dos casos diagnosticados.

Característica	Holanda	Reino Unido
Nome do programa	<i>Chlamydia Screening Implementation project</i>	<i>National Chlamydia Screening Programme in England</i>
Organização	Proactivo (piloto)	Oportunista (estabelecido)
Cobertura	Regional (Amesterdão, Roterdão, Limburg)	Regional (todos os centros de cuidados primários)
Objectivos	Implementar e avaliar um programa de rastreio selectivo e sistemático, com o objectivo de reduzir complicações e limitar a transmissão.	Controlar a infecção através do diagnóstico e tratamento precoce da infecção assintomática, de forma a prevenir sequelas e reduzir a transmissão.
População Alvo	Homens e mulheres sexualmente activos entre os 16 e os 29 anos.	Homens e mulheres com menos de 25 anos com actividade sexual. O teste é repetido anualmente se o primeiro for negativo e sempre que há mudança de parceiro sexual.
Identificação da População Alvo	Convite postal à realização do teste regularmente, através dos registos municipais.	Atendimento em locais de prestação de cuidados de saúde seleccionados, rastreio oportunista, mas sem enumeração formal.
Coordenação	Sim, em desenvolvimento.	Organização local e gestão regional e nacional.
Indicadores de Desempenho	Proporção de população elegível a quem foi oferecido o teste, proporção de aceitação, proporção de repetição do teste, proporção de positivos, taxa de parceiros tratados, prevalência, incidência de complicações.	Percentagem de população elegível testada e re-testada, proporção de testes positivos, taxa de parceiros tratados, incidência de complicações.
Padrões de Qualidade	Sim, em desenvolvimento.	Para logística, clínica, laboratório e dados.
Controlo de Qualidade	Sim, em desenvolvimento.	Em desenvolvimento.
Sistema de Comunicação	Comunicação por internet com os participantes, plano de comunicação para o público e profissionais em desenvolvimento.	Em desenvolvimento.
Relatório anual	Sim.	Sim.

Tabela 4 – Características dos programas de rastreio para a infecção por *C. trachomatis* na Holanda e Reino Unido. Adaptado de: “*Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries - Project SCREEn*”, ECDC, 2008.

Desta forma, sugere uma abordagem com quatro níveis para desenvolvimento de programas nacionais de controlo da infecção: nível A – prevenção primária; nível B – encaminhamento de casos; nível C – teste oportunista e nível D – programa de rastreio. Nesse mesmo documento, é reforçada a ideia de que as boas intervenções ao nível da prevenção são a melhor base para o controlo das IST em geral. Sendo a infecção por *C. trachomatis* um risco sobretudo para os jovens sexualmente activos, a informação sobre saúde sexual e relacional incluindo informação sobre contracepção e IST, forma de redução do risco através da utilização de preservativo, informação sobre a

sintomatologia associada, a consciencialização para as condições assintomáticas e as consequências a longo termo, deve ser amplamente difundida nas escolas (nível A – prevenção primária, tabela 5). A par desta informação deve ainda ser dada indicação sobre os locais onde os jovens podem procurar ajuda, mais informação e esclarecimentos (ECDC,2009).

Em relação ao nível B, para que haja uma gestão efectiva dos casos, segundo o documento anteriormente referido e Watson *et al.* em 2002, o primeiro requisito necessário é a existência de um teste diagnóstico fiável. A decisão sobre qual o teste a ser adoptado e em que locais deve estar disponível, deve ter em conta critérios como a adesão da população testada em relação ao acompanhamento e ao tipo de amostra. O teste deve estar amplamente disponível de preferência nos cuidados primários de saúde, mas também em clínicas específicas de ginecologia/obstetrícia, urologia, de interrupção da gravidez, pré-natal e nos serviços de urgência (ECDC, 2009; Watson *et al.* em 2002). A este nível o *Chlamydia Control in Europe*, ECDC 2009, recomenda ainda a existência de normas orientadoras, as quais devem cobrir a indicação clínica para realização do teste, qual o teste ideal a aplicar, o tratamento dos casos positivos, a notificação de parceiros, aconselhamento para acompanhamento e recomendações para repetição do teste.

A existência de normas orientadoras é de extrema importância, já que se observa alguma heterogeneidade do conhecimento sobre esta infecção entre os diferentes profissionais de saúde, existindo algum grau de confusão em relação ao tipo de teste a aplicar e amostra a utilizar (Rota *et al.*, 1995, citados por Watson *et al.* em 2002).

O nível C, refere-se à utilização do despiste oportunista da infecção, realizado quando um indivíduo com um perfil que se encaixe dentro dos grupos da população que estão em risco (menos de 25 anos e com actividade sexual, mudança frequente de parceiro, múltiplos parceiros ou tenha mudado recentemente, grávidas, trabalhadoras do sexo e

seus clientes e vítimas de abuso sexual). Em que os indivíduos procuram os cuidados de saúde, por uma outra razão que não IST, sendo o teste é oferecido nessa altura. Esta abordagem visa identificar e tratar casos assintomáticos, o que consequentemente reduz as complicações a longo prazo e a transmissão e não requer os custos e os mecanismos de controlo de um programa de rastreio. Os diferentes grupos da população em que pode ser aplicada e a ausência de uma monitorização sistemática deste tipo de abordagem, limita a demonstração da evidência da sua efectividade (Low *et al.*, 2009, citados por ECDC, 2009) que se relaciona directamente com a forma como está organizado o sistema de saúde do país onde é aplicado (ECDC, 2009).

Nível	Actividades Essenciais	Políticas Essenciais	Avaliação
A Prevenção Primária	<ul style="list-style-type: none"> Educação sexual e relacional; Campanhas de sensibilização; <ul style="list-style-type: none"> Promoção do uso de preservativo. 	<ul style="list-style-type: none"> Política de promoção da Saúde 	<ul style="list-style-type: none"> Vigilância periódica incluindo conhecimentos e atitudes
B Encaminhamento de Casos	<p><i>O anterior e:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Vigilância dos casos; Serviços de diagnóstico; <ul style="list-style-type: none"> Serviços clínicos; Serviços de notificação de parceiros. 	<ul style="list-style-type: none"> Declaração obrigatória da infecção por <i>C. trachomatis</i>; Existência de <i>guidelines</i> para encaminhamento dos casos e notificação de parceiros. 	<ul style="list-style-type: none"> Tendência observada nos casos declarados; Controlo de qualidade do diagnóstico; <ul style="list-style-type: none"> Auditoria clínica periódica; Auditorias periódicas.
C Despiste Oportunista	<p><i>O anterior e:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Oferta do teste por rotina a um ou mais do que um grupo específico de pessoas assintomáticas. 	<ul style="list-style-type: none"> Políticas definidas a quem deve ser oferecido o teste e em que locais. 	<ul style="list-style-type: none"> Cobertura do grupo ou grupos alvo.
D Programa de Rastreio	<p><i>O anterior e:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Provisão organizada para testar regularmente uma parte significativa da população alvo. 	<ul style="list-style-type: none"> Política para o rastreio da infecção por <i>C. trachomatis</i>. 	<p><i>Monitorização da:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Cobertura; Prevalência; Qualidade (incluindo a proporção de casos tratados e parceiros rastreados/tratados) <p><i>Avaliação de:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Tendências nas complicações (DIP, gravidez ectópica, infecção do RN) Vigilância periódica da prevalência

Tabela 5 – Abordagem por níveis sugerida pelo *Chlamydia Control in Europe*, para desenvolver e implementar programas de rastreio para controlo da infecção por *C. trachomatis*.
Adaptado de: “*Chlamydia Control in Europe*”, ECDC, 2009.

Os programas de rastreio no nível D têm como objectivo o tratamento das pessoas infectadas e dos seus parceiros, o que trará benefícios em termos de saúde pública, com

a redução da prevalência da infecção e conseqüentemente uma redução da taxa de incidência, que se traduzirá numa diminuição do número de infecções que progridem para as suas complicações. Para que tal aconteça deve existir um programa organizado e regular de realização do teste diagnóstico para a infecção por *C. trachomatis*, abrangendo uma proporção substancial da população definida como alvo, com o objectivo de identificar indivíduos que desconhecem estar infectados, de forma a poderem ser tratados assim como os seus parceiros. Ainda segundo o mesmo documento, os programas de rastreio possuem vantagens sobre os despistes oportunistas, que incluem:

- Ter uma população alvo identificável e monitorizável;
- Têm definida uma frequência de teste e monitorização;
- Possuem estratégias de controlo da qualidade.

Os programas de rastreio podem ser baseados numa abordagem mais sistemática (programa Holandês) ou numa abordagem oportunista (programa do Reino Unido). Esta última é idêntica ao nível C – despiste oportunista, mas quando aplicada a um programa de rastreio possui uma cobertura mais alargada e inclui monitorização organizada do processo e dos benefícios alcançados. Apesar de, em teoria, a abordagem sistemática ter capacidade de cobrir melhor a ou as populações alvo, a adesão, particularmente quando se trata de condições estigmatizantes como as IST, pode ser menor do que a necessária para reduzir a transmissão (ECDC, 2009).

Os benefícios de um programa de rastreio devem ser sempre considerados não só em relação ao encargo que geram no sistema de saúde, mas também em relação aos custos individuais, já que um diagnóstico incorrecto de uma IST tem implicações médicas e pessoais importantes (ECDC, 2009; Watson *et al.*, 2002). Em todo o caso, o rastreio universal deste agente mostrou ser de custo-eficiência mesmo em populações com baixa prevalência da infecção. Um programa de rastreio usando NAAT, como a técnica de

PCR mostrou ser menos dispendioso em termos de custo directo, quando é observada uma prevalência a partir de 3,9% (Paavonen & Eggert-Kruse, 1999). Na tabela 6 estão descritos a os benefícios em Saúde como consequência de um programa de rastreio de indivíduos infectados por *C. trachomatis*, através do modelo desenhado por Paavonen, *et al.* em 1998.

Ganho em Saúde	Inexistência de rastreio (%)	Existência de rastreio (%)	Benefício do rastreio (%)
Cura	44,6	71,6	+62,3
Infertilidade	11,0	5,6	-50,9
Gravidez ectópica	13,8	7,0	-50,7
Dor crónica	30,3	15,5	-51,2
Laparotomia	0,3	0,2	-66,7

Tabela 6 – Benefícios em Saúde de indivíduos infectados por *C. trachomatis* com a existência de um programa de rastreio. Adaptado de: “*Chlamydia trachomatis: impact on human reproduction*”, Human Reproduction update, Paavonen & Eggert-Kruse, 1999.

Segundo o *Chlamydia Control in Europe*, ECDC 2009, os custos e potenciais benefícios do rastreio da infecção por *C. trachomatis* dependerão:

- Da prevalência da infecção no país;
- Da capacidade de identificar e captar a adesão de populações em alto risco;
- Do comportamento sexual;
- Da sensibilidade e especificidade do teste diagnóstico utilizado;
- Da adesão ao tratamento dos indivíduos infectados.

2. ENQUADRAMENTO E OBJECTIVOS

Vários estudos de prevalência de *Chlamydia trachomatis* existem realizados um pouco por todo o Mundo, efectuados sobretudo entre populações que procuram os cuidados de saúde em clínicas de medicina genito-urinária ou em consultas de planeamento familiar. Domeika, *et al.* em 2002, registam uma prevalência entre os 6% e os 25% em populações atendidas em consultas de ginecologia em países da Europa de Leste. Em Espanha foi registada uma prevalência entre 3% e 5% entre mulheres que recorriam a centros de planeamento familiar (Rosalez, *et al.*, 1993; Mariñas, *et al.*, 1997, citados por Stock *et al.*, 2001). Na Suécia, um rastreio na comunidade envolvendo mais de 10.000 mulheres registou uma prevalência de 3% (Herrman, *et al.*, 1996, citados por Stock, *et al.*, 2001). O estudo de Brito de Sá, *et al.* em 2002, realizado em Lisboa entre 1999 e 2000, no qual participaram 1108 mulheres, com idades entre os 14 e os 30 anos, sugere que a prevalência em Portugal parece ser idêntica à geralmente observada nos países da Europa ocidental tendo sido apurada uma prevalência de 4,6%, como anteriormente referido.

Tem sido demonstrado que estudos em populações que recorrem aos cuidados de saúde revelam prevalências mais elevadas (Svensson, *et al.*, 1994; citado por Stock, *et al.*, 2001). Tal pode também ser observado no relatório de 2008/09 do *National Chlamydia Screening Programme*, onde a prevalência mais baixa é observada entre estudantes (3,4%) e as mais elevadas ($\approx 10\%$) são observadas em centros comunitários para a Saúde Sexual, prisões e centros de reabilitação de jovens, por exemplo.

No entanto, estudos de prevalência da infecção por *C. trachomatis* em populações não sintomáticas, envolvendo ambos os géneros são raros na Europa (Stock, *et al.*, 2001), não tendo sido encontrados estudos do género realizados em Portugal.

Os estudantes universitários encontram-se na faixa etária em risco de adquirir infecção por *C. trachomatis* (Greaves, *et al.*, 2009; Stock, *et al.*, 2001). Sabe-se que estes estudantes tendem a subestimar o risco pessoal de contraírem uma IST, tendo o preservativo baixa aceitação entre estes jovens (Goertzel, *et al.*, 1991 & Katzman, *et al.*, 1988, citados por Stock, *et al.*, 2001). A vida académica proporciona a oportunidade de mudança frequente de parceiro e outras práticas sexuais de risco onde se inclui a não utilização ou utilização inconsistente do preservativo, situações que colocam estes jovens numa situação de risco de acrescido (Fayers, *et al.*, 2003; Greaves, *et al.*, 2009). Segundo Zakher e Kang em 2008 e Layte, *et al.* em 2006 no *The Irish Survey of Sexual Health and Relationships*, as atitudes face a uma infecção estão intimamente ligadas ao conhecimento sobre a mesma. No estudo piloto de Zakher e Kang sobre as atitudes dos estudantes universitários australianos de diferentes áreas (artes, ciências e educação), face ao rastreio da IST causada por *C. trachomatis* em consultas de clínica geral, é sugerido pelos autores que o que coloca os jovens em maior risco é o desconhecimento do seu risco pessoal de adquirir esta infecção (Zakher & Kang, 2008)

Num estudo conduzido por Kuhanendra e Oakeshott em 1999, 275 estudantes do primeiro e segundo ano de medicina do *St George's Hospital Medical School* responderam a um questionário anónimo acerca dos seus conhecimentos sobre a infecção por *C. trachomatis*. Apenas 66% desses estudantes referiram conhecer a existência deste agente, tendo sido observado um maior conhecimento entre as participantes do sexo feminino, 61% (89/145), do que nos participantes do sexo masculino, 45% (59/130).

Estes resultados sugerem a existência de falta de conhecimento sobre este agente entre os estudantes ingleses dos primeiros anos universitários antes de terem tido saúde sexual no curso de medicina, especialmente entre o sexo masculino. Tal pode reflectir o

nível de educação sexual adquirido na escola secundária (Kuhanendran & Oakeshott, 1999).

Num outro estudo publicado em 2003 por Fayers *et al.*, o objectivo foi estudar o nível de conhecimento dos estudantes de medicina da Universidade de Bristol sobre saúde sexual. Os autores consideram que o conhecimento destes estudantes é impreciso no se refere a aspectos como a possibilidade de ineficácia do preservativo e a prevalência da IST por *C. trachomatis*. Apesar de a maioria dos participantes (mais de 90%, pertencendo os alunos que erraram a resposta estavam no primeiro e segundo ano) ter reconhecido esta infecção como causa importante de infertilidade na mulher, uma percentagem significativa não sabe que se trata de uma infecção que, na maioria dos casos, não provoca sintomatologia.

As conclusões a que chegam estes autores têm implicações importantes na saúde sexual destes estudantes, dos seus futuros pacientes e da rede social onde se inserem, já que os estudantes das áreas da saúde são frequentemente fonte de informação sobre saúde dos seus familiares e amigos (Fayers, *et al.*, 2003).

Após a introdução do *National Chlamydia Screening Programme* (NCSP) no Reino Unido, Greaves *et al.* em 2009 conduziram um estudo com o objectivo de determinar o conhecimento sobre a infecção por *C. trachomatis* entre estudantes universitários de diferentes áreas (medicina, geografia e direito). Neste estudo, os autores observaram que o conhecimento da existência do programa, da infecção e rastreio da mesma, assim como a percepção do risco pessoal, é baixo. Apesar de os alunos de medicina possuírem um conhecimento mais elevado sobre a infecção por *C. trachomatis*, muitos não sabiam da existência do NCSP e tal como os restantes estudantes, não mostraram possuir práticas sexuais significativamente mais seguras no que se relaciona com a utilização do preservativo (Greaves, *et al.*, 2009).

Como anteriormente mencionado observa-se uma crescente preocupação em relação à infecção por *C. trachomatis* e suas sequelas na Europa. Actualmente em Portugal começa a ser dada importância à educação sexual nas escolas, tendo sido dados os primeiros passos com a publicação da Lei 60/2009 de 6 de Agosto, Lei que estabelece o regime de aplicação da educação sexual nas escolas. As suas finalidades descrevem-se em 11 alíneas, sendo essencialmente dirigidas ao desenvolvimento de competências nos jovens que lhes permitam escolhas informadas e seguras no campo da sexualidade para a redução de consequências negativas como a gravidez não desejada e as IST, valorizando, portanto, uma sexualidade responsável e informada, reconhecendo a importância da participação no processo dos encarregados de educação, alunos, professores e técnicos de saúde.

No entanto, a par de ainda não se encontrar regulamentada a Lei anteriormente referida, estão identificadas algumas lacunas que não auxiliam no controlo da infecção. Segundo o Plano Nacional de Saúde (2004/2010), a par da inexistência de um plano de vigilância epidemiológica consistente em Portugal, há ausência de formação adequada nesta área dos profissionais de Saúde, conhecendo-se muito pouco sobre a prevalência da infecção por *C. trachomatis* (Brito De Sá, *et al.*, 2002; Ministério-Da-Saúde, 2004).

Apesar das graves consequências desta infecção, ainda pouco se sabe sobre o conhecimento, atitudes e comportamento sexual dos estudantes universitários face à infecção causada por *C. trachomatis* (Greaves, *et al.*, 2009) de um modo geral e particularmente em Portugal, sendo vital o conhecimento das atitudes das populações que possam ser alvo de um programa de rastreio ou de medidas de controlo para que tais tenham sucesso (Zakher & Kang, 2008).

Para que a implementação de medidas preventivas e, eventualmente, um programa de rastreio tenha eficácia, é essencial avaliar as atitudes dos grupos alvo, assim como ter

uma estimativa de qual a prevalência da infecção nesses grupos (ECDC, 2009; Zakher & Kang, 2008).

Desta forma, dada a inexistência de dados sobre conhecimentos, atitudes e práticas dos jovens portugueses face à infecção genital por *C. trachomatis*, o facto de existirem poucos estudos sobre a prevalência deste agente em Portugal e como anteriormente mencionado, o escasso conhecimento sobre IST dos profissionais de Saúde, tendo em vista uma futura implementação de medidas preventivas e/ou de um programa de rastreio em Portugal, os objectivos do presente estudo foram:

1. Avaliar a prevalência da infecção por *C. trachomatis* e de *Neisseria gonorrhoeae* detectar a presença de anticorpos anti-*C. trachomatis* numa população de estudantes das áreas da saúde em universidades de Lisboa;
2. Avaliar o conhecimento nessa população sobre *C. trachomatis* e outras IST, de acordo com perguntas específicas inseridas em questionário;
3. Verificar se existe diferença significativa no conhecimento sobre a infecção por *C. trachomatis* os géneros e entre as licenciaturas.;
4. Avaliar factores sóciodemográficos relacionados com o risco da infecção por *C. trachomatis*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Tipo de estudo e população em estudo

O presente estudo, é um estudo prospectivo de observação transversal.

Foram recrutados, durante o ano lectivo 2008/09, 400 voluntários de ambos os sexos, em três universidades da área de Lisboa que ministram cursos da área da saúde: Universidade Nova de Lisboa (Faculdade de Ciências Médicas), Universidade de Lisboa (Faculdade de Medicina e de Farmácia) e Universidade Atlântica (Escola Superior de Saúde). Os curso frequentados pelos voluntários eram: Medicina, Farmácia, Análises Clínicas e Saúde Pública, Enfermagem, Radiologia e Fisioterapia.

O método de amostragem de eleição para este tipo de estudo seria um dos métodos de amostragem aleatória. No entanto, a eventual conotação social discriminatória que ainda assumem as infecções sexualmente transmissíveis (IST) e o facto dos participantes elegidos pelo método aleatório terem o direito a não querer participar, a validade interna do estudo poderia ser comprometida.

A escolha de estudantes universitários prendeu-se com o facto de estes se encontrarem, na sua grande maioria, na faixa etária de risco de infecção por bactérias da espécie *Chlamydia trachomatis*, especialmente o sexo feminino.

A escolha de voluntários estudantes em cursos das áreas da saúde prendeu-se com o facto de vários estudos consultados revelarem lacunas de conhecimento sobre *C. trachomatis* e o Plano Nacional de Saúde (PNS) admitir a ausência de formação adequada dos profissionais de saúde no âmbito das IST.

O grupo de trabalho da Unidade de Ensino e Investigação de Doenças Sexualmente Transmissíveis (UEIDST) articulou-se com as associações de estudantes, que difundiram o estudo e a forma de participação (via electrónica e afixação de cartazes nos diferentes campus universitários), junto da comunidade de cada universidade.

Todos os voluntários assinaram declaração de consentimento informado, tendo sido solicitada autorização às Reitorias das diferentes universidades para a realização do estudo.

3.2. Critérios de exclusão

Todos os estudantes dos estabelecimentos de ensino anteriormente citados, presentes no campus universitário nos dias em que a equipa da UEIDST esteve presente, tiveram a oportunidade de participar no estudo através do preenchimento do questionário e pela recolha de amostra de sangue e/ou recolha de amostra de urina, excepto se estivessem menstruadas (no caso dos participantes do sexo feminino) e/ou se tivessem urinado há menos de uma hora, embora fosse possível regressarem mais tarde e serem incluídos no estudo.

Foram excluídos os participantes que apenas realizaram testes laboratoriais sem terem preenchido o questionário. Dos que preencheram o questionário foram excluídos aqueles que não assinalaram o curso frequentado.

3.3. Recolha de dados sobre conhecimentos, práticas e atitudes

Aos estudantes voluntários foi solicitado que respondessem a um questionário com três secções: a primeira para recolha de características sociodemográficas, a segunda sobre conhecimentos e comportamentos da sua sexualidade, e a terceira sobre conhecimentos e comportamentos sobre as IST.

O questionário, que pode ser consultado em anexo, foi desenvolvido em parceria pela UEIDST e pela Unidade de Saúde Internacional do Instituto de Higiene e Medicina Tropical.

A análise estatística dos dados obtidos com o questionário foi efectuada através do programa *Predictive Analytics Software Statistics*¹ (PASW) (International Business Machines Corporation – IBM, Chicago, Estados Unidos da América), versão 18.0, para *Macintosh*. Para o desenvolvimento da base de dados a gerar no programa de análise estatística, foi elaborado um plano de operacionalização das variáveis, que pode ser consultado em apêndice.

Ao todo, o questionário incluía 38 questões, que originaram 150 variáveis estatísticas no programa PASW, 33 variáveis auxiliares e cinco variáveis relacionadas com os dados laboratoriais. Para análise dos dados recolhidos utilizou-se a estatística descritiva e os testes de hipóteses de Mann-Whitney, de Kruskal-Wallis, do qui-quadrado e o teste exacto de Fisher, sempre que apropriado, para um nível de significância de 5% ($\alpha=0,05$).

3.4. Recolha de amostras biológicas

3.4.1. Urina

A cada voluntário foi entregue um contentor asséptico, com capacidade de 50mL, tendo sido instruídos para recolher pelo menos 15mL de urina, incluindo o primeiro jacto, após pelo menos uma hora de abstinência urinária. As amostras de urina foram conservadas em arca refrigerada até serem transportadas para o laboratório da UEIDST. Dos 383 participantes incluídos neste estudo, 350 (91,4%) efectuaram colheita para pesquisa de DNA de *C. trachomatis* e de *Neisseria gonorrhoeae* na urina através da técnica de *polimerase chain reaction* (PCR).

¹ Antigo *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS

3.4.2. Sangue

As amostras de sangue foram recolhidas por punção venosa. Este foi distribuído para tubos secos com separador de gel, tendo sido as amostras transportadas para o laboratório conservadas em arca transportadora refrigerada.

Efectuaram colheita de sangue periférico para pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* no soro 236/383 (61,6%) participantes.

3.5. Extracção de DNA das amostras de urina

As amostras de urina foram congeladas a -80°C durante pelo menos 24 horas para redução de possíveis inibidores presentes nas amostras.

O descongelamento foi realizado de forma gradual para evitar a destruição do DNA a pesquisar que pudesse estar, eventualmente presente nas amostras. Para tal, retiraram-se as urinas da arca a -80°C para outra arca a -20°C , onde permaneciam de um dia para o outro. O processo de descongelação foi finalizado em ambiente refrigerado entre os 2 e os 4°C .

Todo o volume de urina obtido foi centrifugado a 5000 rotações por minuto (r.p.m.) durante 30 minutos, de forma a concentrar as células existentes na amostra. O sobrenadante foi removido com pipeta de Pasteur, até se obter cerca de 1,5 mL de sedimento urinário, que foi dividido por três criotubos, sendo um utilizado para extracção de DNA e os outros dois congelados a -80°C para eventuais repetições.

Para extrair o DNA total das amostras de urina foi utilizado o kit comercial JetQuick[®] DNA *Spin kit* (Genomed, Löhne, Alemanha). Este processo de extracção baseia-se na grande afinidade existente entre a molécula de DNA, negativamente carregada e as partículas de sílica positivamente carregadas, presentes nas colunas de extracção.

As amostras foram tratadas com uma proteinase, detergentes apropriados e etanol para disrupção das membranas celulares e dos organelos e subsequente libertação do DNA

alvo. Após este tratamento, a suspensão obtida foi colocada nas colunas de extracção onde foram efectuadas lavagens de forma a purificar o DNA extraído (figura 5). Antes de ser iniciado este tratamento, adicionou-se às amostras de urina 0,5µL de uma solução contendo controlo interno (CI), com a constituição descrita mais à frente.

Após este tratamento, eluiu-se o DNA que se encontra ligado às partículas de sílica numa solução tampão (Tris-HCL, 10mM, pH 8,5). A partir do DNA purificado em suspensão neste tampão puderam ser realizadas as técnicas de amplificação.

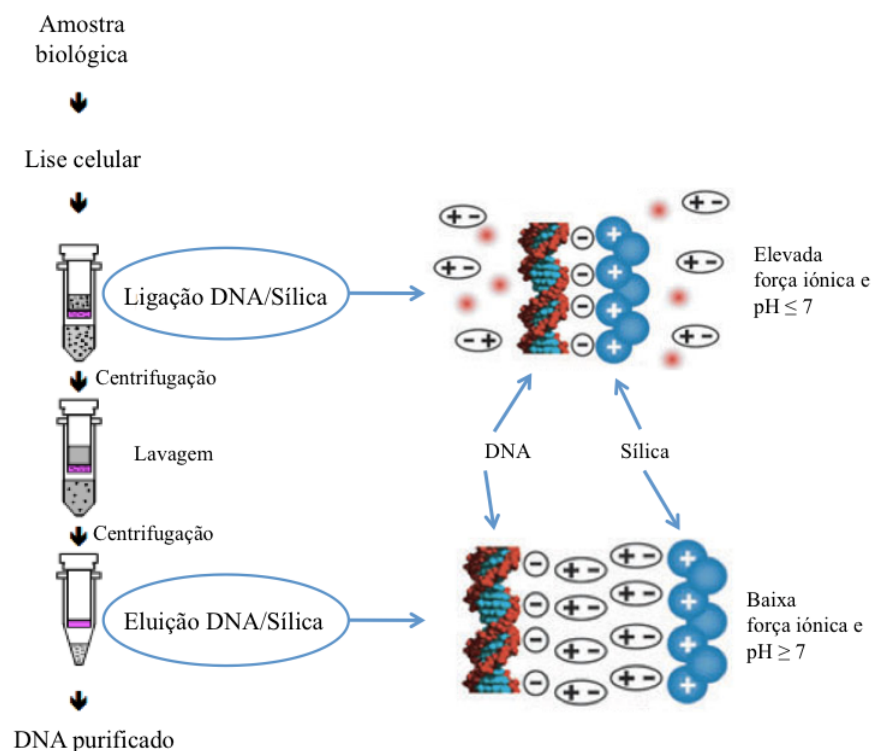


Figura 5 – À esquerda pode ser observada a sequência do protocolo de extração utilizado e à direita o pormenor das ligações electrostáticas que ocorrem entre o DNA e as partículas de sílica.

Adaptado de URL: “*MaxBbond: first regeneration system for DNA binding silica matrices*”, Nature | Methods, Esser, K. Marx, W. & Lisowsky, T., 2006. e de URL: <http://www.genomed-dna.com>

As recomendações do fabricante foram seguidas, à excepção do volume de amostra utilizado e do volume de tampão de eluição. O volume de amostra utilizado foi de 400µL de sedimento urinário em vez dos 200µL recomendados e de tampão de eluição foram utilizados 75µL em vez dos 100µL recomendados, com o objectivo de concentrar o DNA alvo, eventualmente presente nas amostras.

3.6. Pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina por técnica de PCR

Para a pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina utilizou-se uma técnica de PCR multi-alvo ou *multiplex* baseada na descrita por Jalal *et al.* em 2006. Os autores descreveram esta técnica para PCR em tempo real, mas foi montada e otimizada na UEIDST como uma técnica de PCR, com a visualização dos produtos de amplificação efectuada por eletroforese em gel de agarose.

Esta técnica de PCR *multiplex* utiliza três alvos distintos de amplificação em apenas uma reacção. As sequências alvo foram um dos genes do plasmídio críptico de *C. trachomatis* (pCT), o gene *omp1*, que codifica as *major outer membrane protein* (MOMP) e uma sequência sintetizada artificialmente usada como CI.

O par de *primers* (TIB-MOLBIOL[®], Berlim, Alemanha) utilizado para a amplificação da sequência alvo do gene do pCT, flanqueia um fragmento de 149pb (figura 6) e possui as seguintes sequências de oligonucleótidos:

- *Forward primer*: HJ – plasmid 1: 5'-AACCAAGGTCGATGTGATAG-3' e;
- *Reverse primer*: HJ – plasmid 2: 5'-TCAGATAATTGGCGATTCTT-3'.

GenBank: X06707.3

Chlamydia trachomatis cryptic plasmid pLGV440

[Comment](#) [Features](#) [Sequence](#)

```

LOCUS       X06707                7500 bp    DNA     circular BCT 29-JUL-2008
DEFINITION  Chlamydia trachomatis cryptic plasmid pLGV440.
ACCESSION   X06707
VERSION     X06707.3  GI:194680626
KEYWORDS    AT-rich region; ORF1; ORF2; ORF3; ORF4; ORF5; ORF6; ORF7; plasmid;
            tandem repeat; unidentified reading frame.
SOURCE      Chlamydia trachomatis
  ORGANISM  Chlamydia trachomatis
            Bacteria; Chlamydiae; Chlamydiales; Chlamydiaceae; Chlamydia.

ORIGIN
1   tttgcaactc ttggtgtag actttgcaac tttggtggt agactttgca actcttggtg
61  gtagactttg caactcttgg tggtagactt ggtcataatg gacttttgtt gaaaaatttc
121 ttaaaatcct agagctccga ttttgaatag ctttggttaa gaaaatgggc tcgatggctt
...
6961 tctataatgc tagaaaaatc ctgagtaagg atcacttctc ctcaacaact ttttcatcct
7021 ggatagagtt agtttttaga actaagtctt ctgcttacia tgctctgca tattacgagc
7081 tttttataaa cctccccaac caaactctac aaaaagagtt tcaatcgatc ccctataaat
7141 cgcgatatat tttggccgct agaaaaggcg atttaaaac caaggtcgat gtgataggga
7201 aagtatgtgg aatgtcgaac tcatcggcga taaggtggtt ggatcaattt cttccttcat
7261 ctagaaacaa agacgttaga gaaacgatag ataagtctga ttcagagaag aatcgccaat
7321 tatctgattt cttaatagag ataacttcga tcatgtgttc cggagtttct ttgtctctct
7381 ataacgaaaa tcttctacia cagctttttg aactttttaa gcaaaaagagc tgatcctccg
7441 tcagctcata tatatatcta ttatatatat atatttaggg atttgatttt acgagagaga
  
```

Figura 6 – Na figura está representada parte da sequência de nucleótidos do pCT. A púrpura encontra-se assinalada a sequência do *forward primer* e a verde a sequência do *reverse primer*.

Adaptado de URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/194680626>

O par de *primers* (TIB-MOLBIOL[®], Berlim, Alemanha) utilizado para amplificação da sequência alvo do gene *omp1*, flanqueia um fragmento de 218pb (figura 7), e possui as seguintes sequências de oligonucleótidos:

- *Forward primer*: HJ – MOMP 1: 5'-GACTTTGTTTTTCGACCGTGTT-3' e;
- *Reverse primer*: HJ – MOMP 2: 5'-ACARAATACATCAAARGCATCCCA-3'.

GenBank: AF202457.1

Chlamydia trachomatis isolate J/UW36 major outer membrane protein 1 (omp1) gene, complete cds

Features Sequence

LOCUS AF202457 1194 bp DNA linear BCT 13-SEP-2000
 DEFINITION Chlamydia trachomatis isolate J/UW36 major outer membrane protein 1 (omp1) gene, complete cds.
 ACCESSION AF202457
 VERSION AF202457.1 GI:9957719
 KEYWORDS .
 SOURCE Chlamydia trachomatis
 ORGANISM Chlamydia trachomatis
 Bacteria; Chlamydiae; Chlamydiales; Chlamydiaceae; Chlamydia.

ORIGIN

```

1 atgaaaaaac tcttgaatac ggtattagta tttgccgctt tgagttctgc ttcctccttg
61 caagctctgc ctgtggggaa tcctgctgaa ccaagcotta tgatcgacgg aattctgtgg
121 gaaggttctg gtggagatcc ttgcgatcct tgcaccactt ggtgtgacgc tatcagcatg
181 cgtatgggtt actatggtga ctttgttttc gaccgtgtt tgaaaacaga tgtgaataaa
241 gaatttcaga tgggagcggc gcctactacc agcgatgtag caggcttaca aaacgatcca
301 acaacaaatg ttgctcgtcc aaatcccgtc tatggcaaac acatgcaaga tgcctgaaatg
361 tttacgaaacg ctgcttacat ggcattaaat atctgggatc gttttgatgt attttgtaca
421 ttgggagcaa ctaccgggta tttaaaagga aactccgctt ccttcaactt agttggatta
481 ttcggaacaa aaacacaagc ttctagcttt aatacagcga atctttttcc taacactgct
541 ttgaatcaag ctgtgggtta gctttatata gacactacct ttgc

```

Figura 7 - Na figura está representada parte da sequência de nucleótidos do gene *omp1*. A púrpura encontra-se assinalada a sequência do *forward primer* e a verde a sequência do *reverse primer*.

Adaptado de URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/9957719>

Como CI foi utilizada uma sequência sintética de oligonucleotidos de 100pb fornecida por TIB-MOLBIOL[®], Berlim, Alemanha, com a sequência: 5'-GTGCTCACAC CAGTTGCCGC GGAAAGTATG TGGAATGTTA ACACACCCAC ACCACACCCA CACACGTGTT GGATCAATTT CGAGATGCGA GCTGCCAAGC-3'.

O par de *primers* (TIB-MOLBIOL[®], Berlim, Alemanha) utilizado para amplificação da sequência anterior possuía as sequências de oligonucleótidos:

- *Forward primer*: CI – R: 5'-GTGCTCACAC CAGTTGCCGC -3' e;
- *Reverse primer*: CI – F: 5'-GCTTGGCAGC TCGCATCTCG-3'.

Os *primers* e sequência de CI foram adquiridos liofilizados, tendo sido reconstituídos segundo as indicações do fabricante.

A mistura para a reacção de PCR foi preparada com os *primers* anteriores, uma DNA polimerase termoestável (BIOTAQ™ DNA *Polymerase* – BIOLINE, Londres, Reino Unido) fornecida pelo fabricante com tampão de reacção (10x NH₄) e cloreto de magnésio (MgCl₂ 50mM) como co-factor enzimático, dideoxynucleotidos (d’NTPs) (Amershan Pharmacia Biotech Inc., New Jersey, EUA) e água bi-destilada e desionizada.

Por cada reacção a concentração dos *primers* HJ – plamid 1 e 2 e HJ – MOMP 1 e 2 foi de 0,25µM e dos *primers* CI – F e – R foi de 0,1 µM, a concentração de polimerase e de MgCl₂ foi de 0,04U/µL e 2,5mM, respectivamente, e o tampão de reacção foi diluído 1:10. Os d’NTPs foram utilizados com uma concentração de 4µM.

O volume final de cada mistura foi de 20µL, ao qual se adicionou 5µL do DNA em suspensão no tampão Tris-HCL, extraído das amostras de urina.

Em cada técnica de PCR executada foram incluídos controlos negativos e positivos.

O controlo negativo consistiu em água bi-destilada e desionizada e o controlo positivo consistiu em DNA de *C. trachomatis* serovar L2, extraído de cultura de células McCoy, cedida pelo Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge.

As reacções de PCR foram executadas no termociclador *Mastercycler® Personal* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha), de acordo com o programa apresentado na tabela 7.

Ordem	Temperatura	Tempo	Nº ciclos
1º	95°C	30’’	1
2º	95°C	30’’	40
	60°C	1’	
	72°C	1’	
3º	72°C	8’	1
4º	4°C	∞	-

Tabela 7 – Programa de ciclos da técnica de PCR utilizada para amplificação dos fragmentos dos genes de pCT, *omp1* e sequência de CI.

3.6.1. Eletroforese em gel de agarose para visualização dos produtos de PCR para pesquisa de *C. trachomatis* e interpretação de resultados

Para a visualização dos produtos amplificados pela técnica de PCR para a pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina, recorreu-se à técnica de eletroforese em gel de agarose (BIOLINE, Londres, Reino Unido), com a concentração de 1,5% em tampão tris borato com ácido etilenodiaminatetracético (TBE pH 8,3 – NATIONAL DIAGNOSTICS, Hessle Hull, Reino Unido), diluído 1:10, impregnado com brometo de etídio (SIGMA[®] - ALDRICH, Inc., Missouri, EUA), com a concentração de 0,5µg/mL.

Para a eletroforese, misturou-se 10µL de cada produto de PCR com 3 µL de uma solução saturada de sacarose corada com azul de bromofenol.

Um dos poços a meio do gel era reservado para aplicação do marcador molecular *Hyperladder* II (BIOLINE, Londres, Reino Unido), que possui fragmentos de DNA entre 50 e 2000pb.

Depois da aplicação dos produtos de amplificação, o gel foi submetido a um campo eléctrico de 100 *Volt* e 50 *Ampere*, em tina de electroforese SUB-CELL[®] GT (BIO-RAD, Hemel Hempstead, Reino Unido), durante uma hora e trinta minutos, para que os diferentes fragmentos amplificados pudessem migrar, de acordo com o seu tamanho.

Terminado o tempo de migração sob a corrente eléctrica, os fragmentos amplificados pela reacção da PCR, foram visualizados por exposição do gel à luz ultravioleta (UV) no transiluminador GEL DOC[®] XR (BIO-RAD, Hemel Hempstead, Reino Unido). Este equipamento permite captar uma imagem digital do gel exposto à luz UV (figura 8).

A interpretação dos resultados foi realizada segundo o algoritmo apresentado na tabela 8.

Fragmentos	Banda	Interpretação
pCT <i>omp1</i> CI	Sim Sim Sim	Positivo
pCT <i>omp1</i> CI	Não Não Sim	Negativo
pCT <i>omp1</i> CI	Sim Sim Não	Positivo
pCT <i>omp1</i> CI	Não Não Não	Inibição de amplificação
pCT <i>omp1</i> CI	Só uma das bandas Sim	Repetir

Tabela 8 – Algoritmo para interpretação dos resultados obtidos após electroforese de produtos de PCR *multiplex* para pesquisa de DNA de *C. trachomatis*.

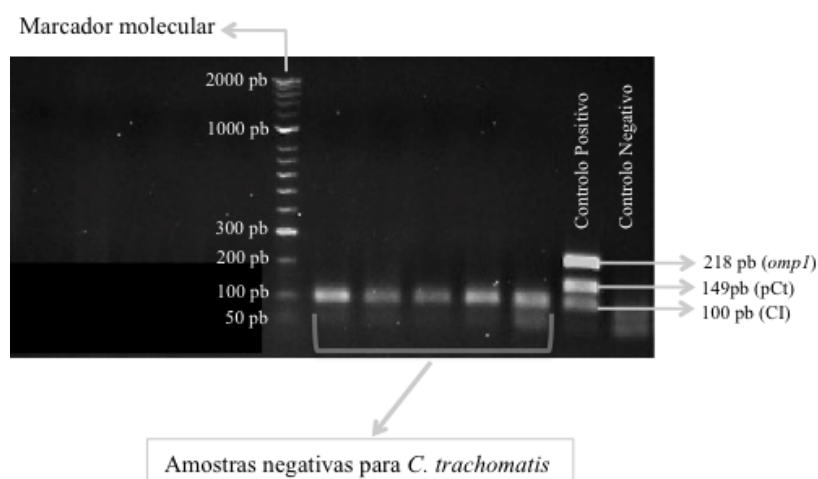


Figura 8 – Gel de agarose a 1,5% após electroforese de produtos de PCR *multiplex* para pesquisa de DNA de *C. trachomatis*.

3.7. Pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* por PCR na urina

Para a pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* na urina utilizou-se uma técnica de PCR baseada na descrita por Ho *et al.* em 1991.

Esta técnica de PCR utiliza como alvo de amplificação uma sequência do gene *ccpB* com 641pb do plasmídeo críptico pJD1 de *N. gonorrhoeae*, que por sua vez possui 4207pb e está presente em cerca de 96% das estirpes deste microrganismo. No entanto, o produto deste gene existe também em estirpes que não possuem este plasmídeo, pois existe uma cópia deste gene no cromossoma gonocócico. Para resultados positivos, o

mesmo autor sugere confirmação da especificidade dos fragmentos obtidos através da técnica de *restriction fragment length polymorphism* (RFLP). Após a digestão, caso o fragmento de DNA amplificado pertença a *N. gonorrhoeae*, são produzidos dois fragmentos, um de 250pb e outro de 140pb.

O par de *primers* (Thermo Scientific Inc., Waltham, EUA) utilizado para a amplificação da sequência alvo do gene do *ccpB* através da técnica de PCR, flanqueia um fragmento de 390pb (figura 9) e possui as seguintes sequências de oligonucleótidos:

- *Forward primer*: HO 1: 5'-GCTACGCATACCCGCGTTGC -3' e;
- *Reverse primer*: HO 3: 5'-CGAAGACCTTCGAGCAGACA-3'.

GenBank: M10316.1

Plasmid pJD1 from *Neisseria gonorrhoeae* DNA, complete genome

Comment	Features	Sequence
LOCUS	JD1CG	4207 bp DNA circular BCT 14-FEB-1996
DEFINITION	Plasmid pJD1 from <i>Neisseria gonorrhoeae</i> DNA, complete genome.	
ACCESSION	M10316 M13764	
VERSION	M10316.1 GI:149142	
KEYWORDS	circular; complete genome; cryptic plasmid protein cppA; cryptic plasmid protein cppB; cryptic plasmid protein cppC; unidentified reading frame.	
SOURCE	Plasmid pJD1	
<u>CDS</u>	complement(2912..3553) /codon_start=1 /transl_table=11 /product="B protein" /protein_id="AAA88206.1" /db_xref="GI:455284"	
...		
2881	cccctgcttt	gggttcgttt gtatcgttgg cttatcgttt ggctgggtga ttcaagattt
2941	cgctctgcg	ttgccgtatt tcgctctgcc gctctaactc ggctgccaag ctcgctagct
3001	gctgcgctaa	actcgtgttt tctcgtcteta gctctgccaa ccttcgccc aagtgcgta
3061	aggctttcat	cattcgtctgc tcgattgctg cgtgattgct ctctaattcc gtaacgcgt
3121	ccagcattcg	cttctcggtc gctacgcata cccgcggttc tttgctgttc tcgactgggc
3181	aattttccag	tgtcaaacct ttggtcctgg ttccaacag gtctagggtg cgtctgctt
3241	cggtctctctg	ctgtttcaag tcgtccagct cgttcttgac gctccatata gctatgaaca
3301	gccctgctat	gactatcaac cctgccgccc atatacctag caagctccac agatagggt
3361	tgaatactgc	cttgctcatg cgttaactgcc gggcggttat atcggcggtt atttctgct
3421	cgctttgctt	caatgcctcg ttgatatttt tccgtaacgt ctctaagctc gctttcgttt
3481	gttgctctat	gctggcggtt tcggtgcgtg atgtctgctc gaaggtcttc gcaaatcgg
3541	aaatcttgct	catacagtcg gcctttcagt cggatggttc gcccttttgg gtcggggttc
...		

Figura 9 - Na figura está representada a sequência de nucleotídeos do gene *ccpB* do plasmídeo críptico de *N. gonorrhoeae*. A púrpura encontra-se assinalada a sequência do *forward primer* e a verde a sequência do *reverse primer*. Adaptado de URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/M10316.1>

A mistura para a técnica da PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae* foi preparada com os *primers* anteriores, uma DNA polimerase termoestável (BIOTAQ™ DNA Polymerase – BIOLINE, Londres, Reino Unido), fornecida pelo fabricante com tampão de reação (10x NH₄), MgCl₂ (50mM) como co-factor enzimático, d’NTPs (Amershan Pharmacia

Biotech Inc., New Jersey, EUA) e água bi-destilada e desionizada. Por cada reacção a concentração dos *primers* HO 1 e 3 foi de 0,5µM, a concentração da polimerase e do MgCl₂ foi de 0,04U/µL e 2,5mM, respectivamente, e o tampão de reacção foi diluído 1:10. Os d’NTPs foram utilizados com uma concentração de 4µM. O volume final de cada mistura de reacção foi de 20µL, ao qual se adicionava 5µL do DNA em suspensão no tampão Tris-HCL, extraído das amostras de urina.

Em cada técnica de PCR executada foram incluídos controlos negativos e positivos.

O controlo negativo consistiu em água bi-destilada e desionizada e o controlo positivo consistiu em DNA de *N. gonorrhoeae*, extraído de cultura de estirpe ATCC 700825.

As reacções de PCR foram executadas no termociclador *Mastercycler*[®] *Personal* (*Eppendorf*, Hamburgo, Alemanha), de acordo com o programa apresentado na tabela 9.

Ordem	Temperatura	Tempo	Nº ciclos
1º	94°C	30’’	1
2º	94°C	30’’	40
	59°C 74°C	1’ 30’’	
4º	4°C	∞	-

Tabela 9 - Programa de ciclos da técnica de PCR utilizada para amplificação dos fragmentos do gene *ccpB* de *N. gonorrhoeae*.

3.7.1. Eletroforese em gel de agarose para visualização dos produtos de PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae* e interpretação de resultados

A visualização dos produtos de amplificação para a pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* foi efectuada pelo mesmo procedimento descrito em 2.6.1. Sempre que se visualizou uma banda com 390pb (figura 10), o produto obtido através da amplificação do gene *ccpB* de *N. gonorrhoeae* foi submetido à técnica de RFLP com a endonuclease *MspI* (*HpaII*) (FERMENTAS INTERNATIONAL Inc., Ontário, Canadá). Este enzima foi fornecido pelo fabricante com o tampão *Tango*[™], que garante o seu óptimo funcionamento a 37°C.

A sequência de restrição onde actua a endonuclease *MspI* (*HpaII*) (FERMENTAS INTERNATIONAL Inc, Ontário, Canadá) é:

$$5'...C^{\wedge}C G G...3'$$

$$3'...G G C^{\wedge}C...5'$$

Na execução da técnica de RFLP utilizou-se uma concentração de 5U/ μ L de *MspI* (*HpaII*) (FERMENTAS INTERNATIONAL Inc., Ontário, Canadá) e respectivo tampão, adicionados de 5 μ L dos produtos de PCR e de água bidestilada até prefazer um volume final de 20 μ L. A mistura final foi incubada durante uma hora e meia a duas horas, a 37°C.

Os produtos de digestão obtidos eram de seguida submetidos a electroforese, cujo procedimento está descrito em 2.6.1., sendo apenas diferente a concentração da agarose, que neste caso foi de 2,0%.

Para um resultado ser considerado positivo para pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* na urina o produto de amplificação de 390pb, teria de apresentar dois fragmentos, um com 250pb e outro com 140pb (figura 10), após digestão pelo enzima *MspI*, através da técnica de RFLP.

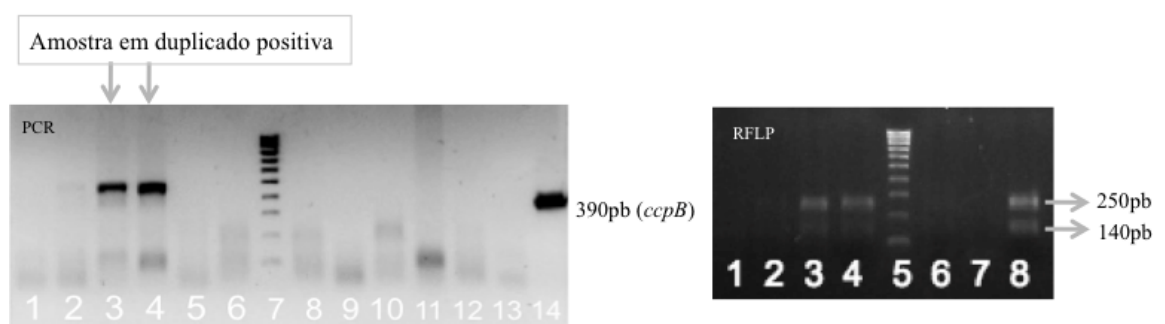


Figura 10 – Imagem de géis de agarose após electroforese de produtos de PCR para pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* na urina, à esquerda e de produtos de RFLP para confirmação de especificidade dos produtos obtidos através do mesmo PCR.

3.8. Pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* no soro

Para a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* as amostras de sangue venoso foram centrifugadas a 3400 r.p.m., durante 10 minutos, para obtenção de soro. Após

centrifugação, o soro obtido foi dividido para três criotubos, um que foi mantido refrigerado, tendo sido utilizado para pesquisa de anticorpos, e os dois restantes congelados a -80°C para eventuais repetições. O *kit* comercial utilizado foi o Anti-*Chlamydia trachomatis* IIFT (EUROIMMUN, Lübeck, Alemanha), que permite a determinação *in vitro* de anticorpos anti-*C. trachomatis* das classes de imunoglobulinas (Ig) A, G e M no soro ou plasma humano, utilizando a imunofluorescência indirecta (IFI).

O teste utiliza lâminas de microscopia com 10 poços de reacção, denominadas por EUROIMMUN BIOCHIP *Mosaics*[®]. Cada poço contém fixadas células infectadas com *C. trachomatis*, misturadas com células não infectadas. As células infectadas possuem inclusões intracitoplasmáticas com CE e CR, com cerca de 300nm e 1000nm de diâmetro, respectivamente, podendo também existir CE livres entre as células da preparação.

Os poços são incubados com diluições do soro do indivíduo em estudo e num segundo passo, com anticorpos anti-humanos marcados com um fluorocromo, a fluoresceína. Se o soro do indivíduo em estudo possuir anticorpos anti-*C. trachomatis*, estes ligar-se-ão aos CE e CR presentes na preparação e a reacção será evidenciada pela ligação dos anticorpos anti-humanos marcados com fluoresceína (figura 11).

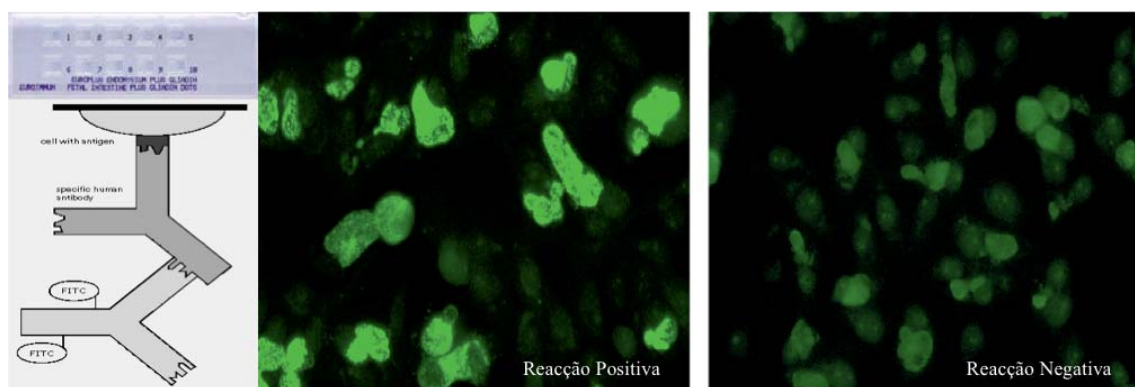


Figura 11 – À esquerda em cima, imagem de um EUROIMMUN BIOCHIP *Mosaics*[®]. À direita em baixo, esquema da reacção antígeno/anticorpo e anticorpo anti-humano marcado com fluoresceína. À esquerda imagens de microscopia de fluorescência de uma amostra positiva (centro) e uma amostra negativa (direita).

Adaptado de: <http://www.euroimmunus.com/>

Para a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG no soro, o fabricante recomenda uma diluição inicial da amostra de 1:320 em tampão fosfato salino (PBS – do inglês, *phosphate buffered saline*) fornecido com o *kit*. Segundo o fabricante, uma reacção positiva com esta diluição relaciona-se com uma infecção prévia ou infecção em desenvolvimento. Quando observada uma reacção positiva, efectuaram-se diluições sucessivas (1:1000, 1:10000) para determinação do título de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG, que sendo positivas a títulos mais elevados, podem ser indicadoras de infecção activa.

Para a pesquisa anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgM no soro, o fabricante recomenda uma diluição inicial da amostra de 1:10 em EUROSORB[®] (EUROIMMUN, Lübeck, Alemanha). Esta solução contém anticorpos anti-IgG humana que se ligam especificamente às IgG presentes no soro em estudo, sendo o factor reumatóide (se presente) adsorvido pelo complexo IgG/IgG anti-IgG humana. Assim, a reacção destes com os anticorpos-anti-humanos marcados com fluoresceína utilizados para a visualização da ligação anticorpo/antigénio, não se dá e apenas se verifica a reacção dos anticorpos anti-*C. trachomatis* da IgM, se presentes.

Antes da aplicação sobre as lâminas, incubou-se a diluição anterior à temperatura ambiente durante 15 minutos, a qual foi depois centrifugada durante cinco minutos a 2000 r.p.m., tendo sido o sobrenadante aplicado sobre as lâminas.

Os poços da lâminas EUROIMMUN BIOCHIP *Mosaics*[®] foram incubados durante 30 minutos à temperatura ambiente, após terem sido aí colocados 25µL das diluições dos soros em estudo anteriormente descritas. Após incubação, as lâminas foram lavadas em tampão PBS durante cinco minutos em agitação suave e constante. Após a lavagem e secagem da lâmina, foram aplicados nos poços 20µL da solução contendo anticorpos anti-humanos marcados com fluoresceína, sendo a lâmina novamente incubada durante 30 minutos à temperatura ambiente.

Em cada preparação efectuada incluíam-se um soro controlo positivo onde se podia observar um padrão de fluorescência específica e um soro controlo negativo, ambos comercializados pelo mesmo fabricante.

Os anticorpos anti-humanos marcados com fluoresceína ligam-se aos anticorpos anti-*C. trachomatis* ligados aos CE e CR, emitindo luz fluorescente característica quando a preparação é observada ao microscópio de fluorescência (figura 11 ao centro). A presença de células não infectadas entre as células infectadas em cada poço, que emitem fluorescência não específica, permite descartar a existência de anticorpos anti-nucleares, anti-mitocôndria e outros auto-anticorpos que possam induzir um resultado falsamente positivo.

4. RESULTADOS

Dos 400 voluntários, 383/400 (95,7%) foram incluídos no presente estudo. Entre os participantes excluídos, 9 não tinham assinalado o curso que frequentavam e 8 não devolveram o questionário.

Apesar de a idade máxima dos participantes no estudo ultrapassar o limite superior da faixa etária em risco, estes não foram excluídos, já que se pretendia avaliar o conhecimento de indivíduos que desempenharão um papel social preponderante para o controlo da infecção genital por *Chlamydia trachomatis*.

4.1. Caracterização sociodemográfica da população em estudo

Em relação ao género, 294/383 (77,5%) participantes eram do sexo feminino e 86/383 (22,5%) eram do sexo masculino (gráfico 4).

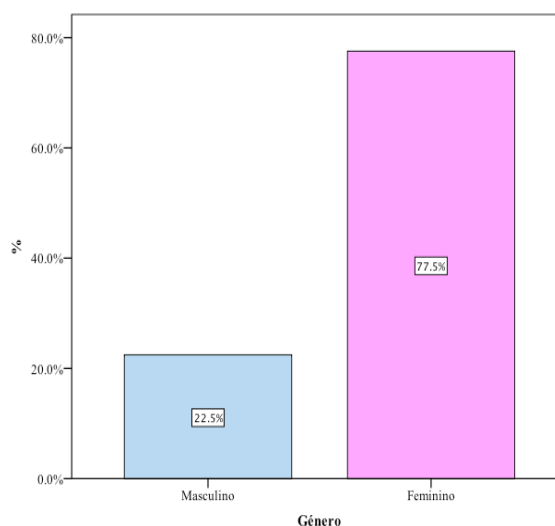


Gráfico 4 – Distribuição da amostra em estudo pelo género, em frequência relativa.

A distribuição do número de participantes entre as três universidades foi a seguinte: Universidade Nova de Lisboa 84/383 (21,9%), Universidade de Lisboa 229/383 (59,8%) e Universidade Atlântica 70/383 (18,3%) (gráfico 5). O número de participantes por licenciatura foi de: 165/383 (43,1%) de Medicina, 148/383 (38,6%) de Farmácia, 38/383 (9,9%) de Análises Clínicas e Saúde Pública (ACSP), 7/383 (1,8%)

de Enfermagem, 11/383 (2,9%) de Radiologia e de 14/383 (3,6%) de Fisioterapia (gráfico 6).

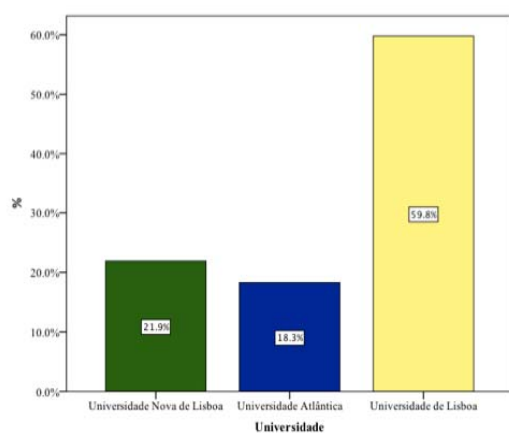


Gráfico 5 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes universidades, em frequência relativa.

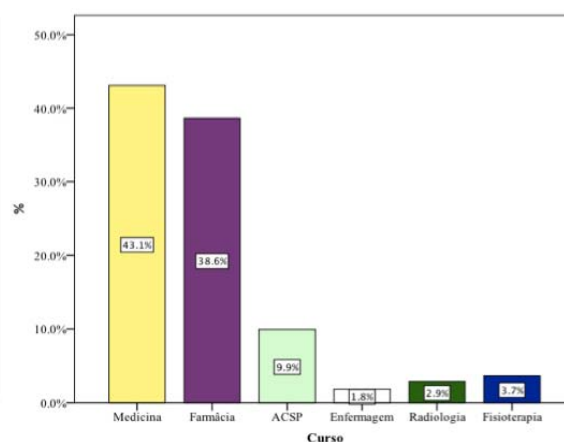


Gráfico 6 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes licenciaturas, em frequência relativa.

Relativamente à idade responderam 380/383 (99,2%) participantes, sendo a média de idade de 21,70 anos, com um desvio padrão de 2,797 e variando entre os 18 e os 43 anos de idade (tabela 10). Através da aplicação do teste de Mann-Whitney, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para a idade entre os géneros ($p=0,728$), nem entre os diferentes cursos ($p=0,323$), neste caso através da aplicação do teste de Kruskal-Wallis. As medidas de tendência central (média, mediana) e de dispersão (desvio padrão, máximos e mínimos) para a idade segundo a licenciatura, encontram-se na tabela 11.

Género	N	Média de idade	Mediana de idade	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	p
♂	86	21,63	21,0	3,060	18	43	0,728
♀	294	21,72	21,5	2,720	18	42	
Total	380	21,70	21,0	2,797	18	43	

Tabela 10 – Medidas de tendência central e de dispersão para a idade segundo o género na população em estudo. Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste de Mann-Whitney.

Curso	N=380	Média de idade	Mediana de idade	Desvio padrão	p
Medicina	164	21,41	21	2,133	0,323
Farmácia	146	21,62	21	2,581	
Análises Clínicas e Saúde Pública	38	23,34	22	5,095	
Enfermagem	7	21,57	21	1,902	
Radiologia	11	21,45	21	2,697	
Fisioterapia	14	21,57	21	2,533	

Tabela 11 – Medidas de tendência central e de dispersão para a idade segundo a licenciatura na população em estudo. Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste de Kruskal-Wallis.

A distribuição dos participantes pelos diferentes anos académicos, apresentou a frequência registada na tabela 12, sendo o 3º ano o que regista mais participantes (107). Não foi possível obter essa informação para 12/383 (3,1%) dos participantes.

Ano	Frequência Absoluta N=371	Frequência Relativa (%)
1º	63	17,0
2º	79	21,3
3º	107	28,8
4º	55	14,8
5º	64	17,3
6º	3	0,8

Tabela 12 – Distribuição da população em estudo pelos diferentes anos académicos frequentados.

Todos os participantes assinalaram a sua nacionalidade, sendo a maioria, 360/383 (94,0%), portugueses. A distribuição dos participantes pelas diferentes nacionalidades registadas encontra-se referida na tabela 13.

Nacionalidade	Frequência Absoluta N=383	Frequência Relativa (%)
Portuguesa	360	94,0
Luso angolana	1	0,3
Luso cabo-verdiana	1	0,3
Luso sul-africana	1	0,3
Luso espanhola	2	0,5
Luso alemã	2	0,5
Luso suíça	2	0,5
Luso americana	1	0,3
Moçambicana	2	0,5
São-tomense	1	0,3
Cabo-verdiana	6	1,6
Brasileira	1	0,3
Italiana	2	0,5
Americana	1	0,3

Tabela 13 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes nacionalidades registadas.

Em relação ao estado civil, na altura do desenvolvimento do estudo, 377/383 (98,4%) participantes eram solteiros(as) e tendo-se registado a mesma percentagem de participantes casados(as)/unidos(as) de facto e de separados(as)/divorciados(as), que foi de 3/383 (0,8%), respectivamente.

À questão “qual é a sua religião?”, responderam 361/383 (94,3%) participantes, cuja maioria referiu ser católico, 247/361 (68,4%). A distribuição dos participantes quanto à

religião encontra-se descrita na tabela 14, sendo que a designação “*outras religiões*” inclui as religiões cristã, protestante, muçulmana e hindu.

Os participantes foram divididos em dois grupos *tem religião* e *não tem religião*, gerando a variável *todas as religiões versus não tem religião*. O teste do qui-quadrado foi aplicado entre esta variável e a variável *género*, tendo sido verificadas diferenças estatisticamente significativas relativamente a ter ou não religião e os géneros ($p=0,001$), sendo as participantes do sexo feminino as que mais referem ter religião.

Género	N	χ^2	Religião Católica	Outra religião	Não tem religião
♂	83	0,001	46 (55,4%)	2 (2,4%)	35 (42,2%)
♀	278		201 (72,3%)	10 (3,6%)	67 (24,1%)
Total	361		247 (68,4%)	12 (3,3%)	102 (28,3%)

Tabela 14 – Distribuição da população em estudo pelas diferentes religiões.

Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado

4.2. Resultados laboratoriais

4.2.1. Verificação de interferências de outros microrganismos na técnica de PCR para pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina

Para verificar a existência de interferências na técnica de PCR para a pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina de microrganismos da flora comensal e outros, como os responsáveis por infecções urinárias, utilizaram-se estirpes *American Type Culture Collection* (ATCC) de diferentes espécies bacterianas e amostras de urina de indivíduos com infecção urinária diagnosticada laboratorialmente. Os resultados obtidos para cada um dos ensaios encontram-se na figura 12, não tendo sido observada amplificação em nenhum dos casos.

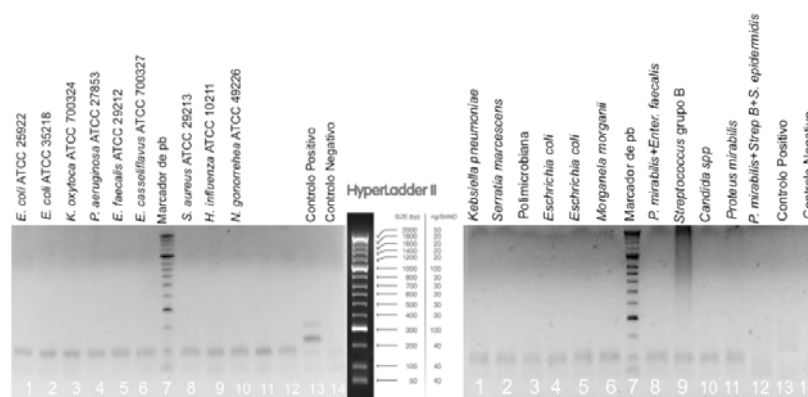


Figura 12 – Géis de agarose a 1,5% após electroforese de produtos de PCR *multiplex* para pesquisa de DNA de *C. trachomatis* na urina. À direita produtos de PCR dos DNA extraídos de estirpes ATCC. À esquerda produtos de PCR dos DNA extraídos urinas de indivíduos com IU.

4.2.2. Pesquisa de DNA de *C. trachomatis*

Não foram obtidos resultados positivos.

4.2.3. Verificação de interferências de outros microrganismos na técnica de PCR para pesquisa de DNA de *Neisseria gonorrhoeae* na urina

Para verificar a existência de interferências na técnica de PCR para a pesquisa de DNA de *N. gonorrhoeae* na urina de microrganismos da flora comensal e outros, como os responsáveis por infecções urinárias, foram utilizadas estirpes de ATCC de diferentes espécies bacterianas, amostras de urina de indivíduos com infecção urinária diagnosticada laboratorialmente, assim como isolados de espécies bacterianas do mesmo género (*N. meningitidis* e *N. sicca*) e dois isolados de *Moraxella* spp. Observou-se amplificação inespecífica com os produtos de PCR de algumas das estirpes ATCC, de alguns dos DNA extraídos de urinas de doentes com IU e também com alguns dos isolados utilizados (figura 13).

Observou-se uma amplificação inespecífica, num isolado de *N. sicca* que revelou um fragmento de aproximadamente 390pb (figura 14).

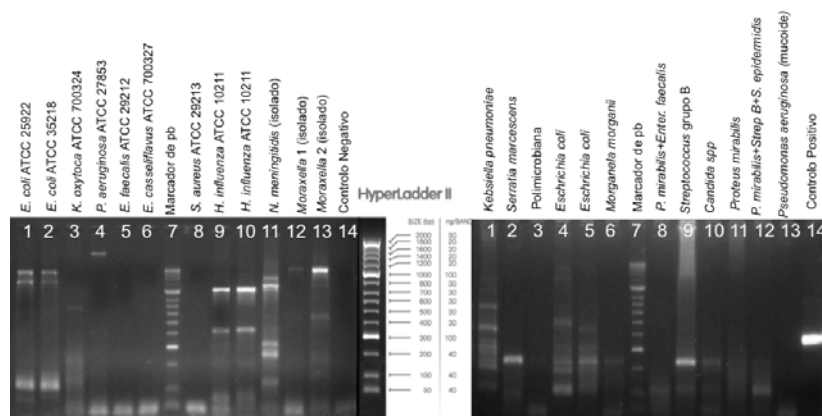


Figura 13 – À direita visualização dos produtos de amplificação de DNA extraído de estirpes ATCC e de isolados bacterianos. À esquerda visualização dos produtos de amplificação de DNA de urinas de indivíduos com IU documentada laboratorialmente.

Este produto, assim como os restantes que apresentaram amplificação inespecífica foram submetidos à técnica de digestão com enzima de restrição (RFLP – do inglês, *restriction fragment length polymorphism*) (figura 14 e 15).

Os fragmentos obtidos após a digestão enzimática, não apresentavam qualquer banda correspondente a um fragmento de DNA amplificado que pudesse ser interpretado com um resultado positivo.

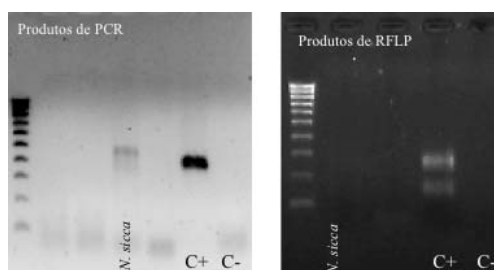


Figura 14 – Visualização do produto de amplificação do DNA de *N. sicca* pela técnica de PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae*, em gel de agarose a 1,5% à esquerda e à direita o mesmo produto submetido à técnica de RFLP em gel de agarose a 2,0%.
Legenda: C+ – Controlo positivo, C- – controlo negativo.

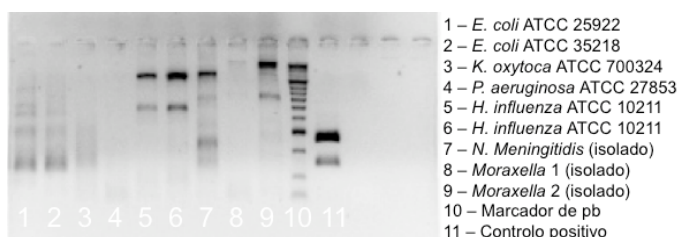


Figura 15 – Visualização dos produtos de amplificação por técnica de PCR para pesquisa de *N. gonorrhoeae*, submetidos a técnica de RFLP em gel de agarose a 2,0%, após electroforese.

4.2.4. Pesquisa de DNA de *Neisseria gonorrhoeae*

Foi identificado um caso positivo numa amostra de urina proveniente de uma participante do sexo feminino com 20 anos de idade, confirmado por técnica de RFLP (figura 10).

A prevalência de infecção por *N. gonorrhoeae* na amostra em estudo foi assim de 0,28%.

4.3. Pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* no soro

Dos 236/383 (61,6%) participantes que efectuaram colheita para a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* no soro, 19 não efectuaram colheita de urina. Em 15 destes participantes a pesquisa de anticorpos foi negativa e em quatro a pesquisa de anticorpos foi positiva.

Anticorpos anti-*C. trachomatis* foram identificados em 34/236 (14,4%) dos participantes. Através da aplicação do teste do qui-quadrado, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos resultados considerados positivos entre os géneros ($p=0,557$) (gráfico 7 e tabela 15).

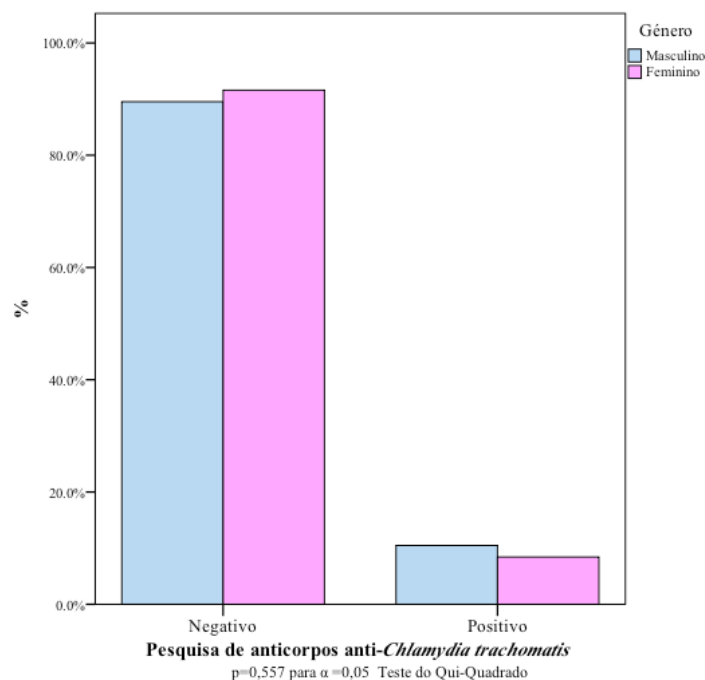


Gráfico 7 – Distribuição em frequência relativa dos resultados da pesquisa de anticorpos anti- *C. trachomatis* entre os géneros.

Em relação aos anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe de imunoglobulinas (Ig) G, foi observada reactividade para os títulos de 1:320, 1:1000 e 1:10000 em 21/236 (8,9%), em 12/236 (5,1%) e em 1/236 (0,4%) participantes, respectivamente (tabela 13). Esta distribuição de reactividade para as IgG não foi estaticamente significativa entre os géneros ($p=0,883$), tendo sido aplicado, neste caso, o teste exacto de Fisher.

A reactividade dos anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgM observou-se apenas numa amostra proveniente de uma participante do sexo feminino de 42 anos de idade, tendo apresentado um título de 1:10. Esta amostra apresentou também um título reactivo de 1:10000 para os anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe Ig G (tabela 15).

Classe de Imunoglobulinas	Prevalência (%)			χ^2
	Global N=237	♀ (N=179)	♂ (N=58)	
Ig G 1:320	8,9	8,4	10,3	0,557
Ig G 1:1000	5,1	5,0	5,2	
Ig G 1:10000	0,4	0,6	0,0	
Ig M 1:10	0,4	0,6	0,0	
Global	14,4	13,9	15,5	

Tabela 15 – Prevalência de anticorpos anti-*C. trachomatis* na amostra em estudo, por título e global, segundo o género. Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado.

4.4. Atitudes e práticas relativamente à sexualidade da população em estudo

Para se saber quais as fontes sobre informação sexual procuradas pelos participantes, foi solicitado que as assinalassem entre as indicadas na tabela 16. Responderam 382/383 (99,7%) participantes, sendo as fontes mais procuradas, por ordem decrescente: os amigos (51,0%), os livros e as revistas (47,9%), a Internet (44,5%), a mãe (31,4%), a televisão (32,2%), o médico (31,2%), o namorado(a) (28,5%) e o professor (25,4%). Em relação à procura da mãe e do médico como fonte sobre informação sexual, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre géneros ($p=0,008$ e $p<0,001$, respectivamente), sendo as participantes do sexo feminino as que mais procuram estas

duas fontes, enquanto que os participantes do sexo masculino procuram mais a Internet e o pai (tabela 16).

Fontes	♀ (%) (N=296)	♂ (%) (N=86)	χ^2	Global (%) (N=382)
Amigos	52,7	45,3	0,230	51,0
Livros e Revistas	49,7	41,9	0,202	47,9
Internet	42,2	52,3	0,097	44,5
Mãe	34,8	19,8	0,008	31,4
Televisão	33,4	27,9	0,333	32,2
Médico	35,8	15,1	<0,001	31,2
Namorado(a)	29,7	24,4	0,337	28,5
Professor	26,0	23,3	0,605	25,4
Pai	10,5	16,3	0,141	11,8
Filmes e vídeos	10,8	12,8	0,609	11,5
Irmã	6,1	2,3	0,169	5,2
Enfermeiro	5,7	3,5	0,409	5,2
Irmão	2,0	4,7	0,180	2,6
Rádio	2,0	3,5	0,432	2,3
Padre/Grupo Religioso	2,0	0,0	-	1,6
Outro Profissional de Saúde	0,0	0,0	-	0,0

Tabela 16 – Fontes de sobre informação sexual procuradas pelos participantes em frequência relativa por género.

Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; χ^2 - valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado.

Para a questão “já teve alguma relação sexual?” responderam 375/383 (97,9%) participantes. Trinta e nove em 375 (10,2%) ainda não tinha iniciado a sua vida sexual (34/290 do sexo feminino e 5/85 do sexo masculino) e 336/375 (89,6%) já tinham tido relações sexuais. Através da aplicação do teste do qui-quadrado não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os géneros ($p=0,121$) na resposta a esta questão.

Para os 355/383 (92,6%) participantes que responderam às duas questões: “qual é a sua religião?” (usando a variável auxiliar descrita em 3.1.) e “já teve alguma relação sexual?”, aplicou-se o teste do qui-quadrado não tendo sido verificadas diferenças estatisticamente significativas entre a não iniciação sexual e o facto de ter ou não religião ($p=0,088$).

Em relação à idade da primeira relação sexual, responderam 330/383 (86,2%) participantes. A média de idade para a primeira relação sexual entre a população em

estudo foi de 17,25, com um desvio padrão de 1,754, sendo a idade mínima de 13 anos e a máxima de 23 anos. Para esta questão foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os géneros ($p < 0,001$), através da aplicação do teste estatístico de Mann-Whitney. Apesar de a média de idade para a primeira relação sexual ser idêntica entre os géneros (17,48 anos para o sexo feminino e 16,51 anos para o sexo masculino) e de a mediana ser igual (17 anos), os participantes do sexo masculino tendem a iniciar mais cedo a sua vida sexual. Na população em estudo, entre os participantes do sexo masculino, 34/78 (43,6%) participantes referiram ter tido a sua primeira relação sexual antes dos 17 anos, 22/78 (28,2%) referiram ter sido aos 17 anos e o mesmo número de participantes referiu ter sido entre os 18 e os 21 anos de idade. Entre as participantes do sexo feminino, as proporções observadas para o género masculino invertem-se, sendo que 68/252 (27,0%) referiram ter tido a primeira relação sexual antes dos 17 anos, 70/252 (27,8%) referiram ter sido tido aos 17 anos e 114/252 (45,2%) referiram ter sido entre os 18 e os 23 anos (gráfico 8).

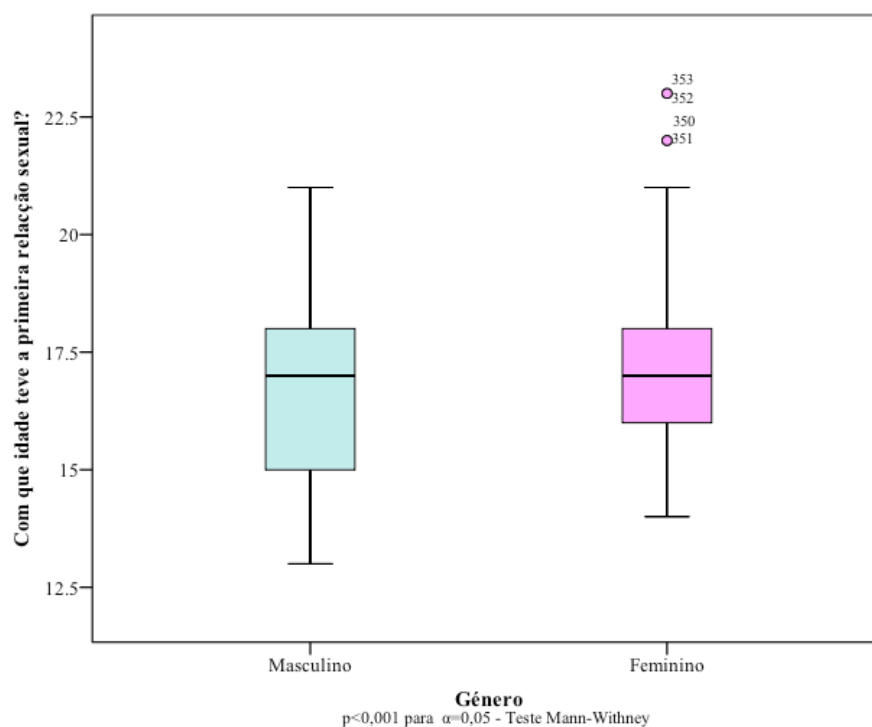


Gráfico 8 – Gráfico de caixas e bigodes para género e idade da primeira relação sexual.

Também através da aplicação do teste de Mann-Whitney, para os 314/383 (81,9%) participantes que responderam à duas questões “*com que idade teve a primeira relação sexual?*” e “*qual a sua religião?*”, verificou-se não existirem diferenças estatisticamente significativas para a idade da primeira relação sexual e o facto de ser ou não religioso ($p=0,068$).

Através da aplicação do teste de Kruskal-Wallis, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para a idade da primeira relação sexual entre os diferentes cursos ($p=0,928$).

Em relação ao número de parceiros(as) sexuais nos últimos seis meses, responderam 337/383 (87,9%) participantes (257 do sexo feminino e 80 do sexo masculino), a mediana de parceiros(as) sexuais entre os participantes foi de 1 parceiro(a) e o desvio padrão de 0,737. O número mínimo de parceiros sexuais registado foi 0 e o máximo foi de 6 (gráfico 9).

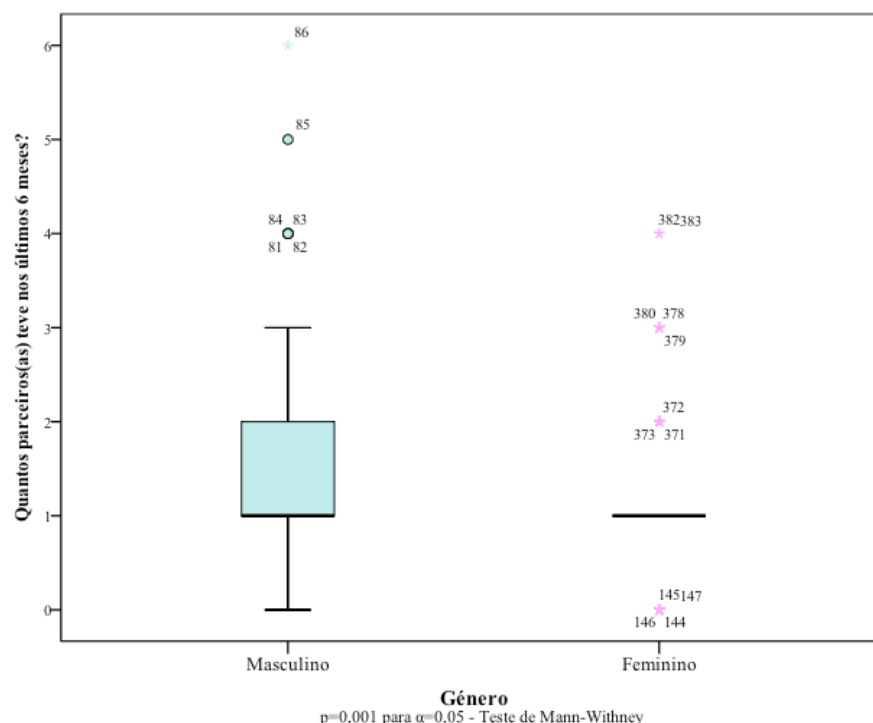


Gráfico 9 – Representação gráfica de caixas e bigodes para o géneros e o número de parceiros sexuais nos últimos 6 meses.

Para verificar se existiam diferenças entre os géneros relativamente ao número de parceiros(as) nos últimos seis meses, foi aplicado o teste de Mann-Whitney, tendo as

diferenças encontradas sido estatisticamente significativas ($p=0,001$). A maioria das participantes do sexo feminino, 206/257 (69,4%), refere ter tido apenas 1 parceiro sexual nos últimos seis meses, sendo *outliers* entre o género feminino nesta população as participantes que referem ter tido dois, três e quatro (7,1%, 2,4%, 0,7%, respectivamente) parceiros(as) sexuais nos últimos seis meses (gráfico 9). Para os participantes do sexo masculino, registou-se que 56/80 (65,1%) participantes referiram ter tido apenas um parceiro(a) nos passados seis meses, sendo observado um número mais elevado de participantes, em relação ao género feminino, que referiram ter tido dois, três e quatro (14,0%, 3,5%, 4,7%, respectivamente) parceiros(as) sexuais nos últimos seis meses. Entre este género registaram-se ainda iguais percentagens (1,3%) de participantes que referiram ter tido cinco e seis parceiros(as) sexuais nos últimos seis meses (gráfico 9), sendo estes considerados *outliers* entre o género masculino na população em estudo.

Relativamente a não terem tido nenhum parceiro sexual nos últimos seis meses, a percentagem de participantes do sexo masculino (3,5%) que o referiu foi mais baixa do que a das participantes do sexo feminino (7,1%).

Para os 319/383 (83,2%) participantes que responderam às duas questões “*qual a sua religião?*” e “*quantos parceiros sexuais teve nos últimos seis meses?*” foi aplicado o teste do qui-quadrado, usando a variável auxiliar *tem religião versus não tem religião* e para a segunda questão os participantes foram divididos em dois grupos: um constituído pelos participantes que referiram ter tido nenhum e um parceiro(a) sexual nos últimos seis meses e outro constituído pelos que referiam ter tido dois ou mais. O valor de p obtido foi de 0,034, o que indica a existência de diferenças estatisticamente significativas. A percentagem de participantes que refere ter tido dois ou mais parceiros(as) sexuais nos últimos seis meses é mais elevada entre os participantes que referiram não ter religião (22,3% *versus* 12,9%).

Através da aplicação do teste de Kruskal-Wallis, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para o número de parceiros sexuais nos últimos seis meses entre os diferentes cursos ($p=0,968$).

Para avaliar a consistência e a frequência da utilização do preservativo, pediu-se aos participantes que assinalassem entre as cinco categorias que a seguir se mencionam: “*nunca, raramente, às vezes, quase sempre e sempre*”, para cada tipo de relação sexual (vaginal, oral e anal) a sua utilização do preservativo. A distribuição global das respostas obtidas para cada uma das opções de resposta, encontra-se no gráfico 10, para as relações vaginais (323 respostas); no gráfico 11, para as relações sexuais orais (286 respostas); e no gráfico 12, para as relações sexuais anais (114 respostas).

O número de participantes que referiu usar “*sempre*” preservativo quando têm relações sexuais vaginais, orais e anais foi 108/323 (33,4%), 15/286 (5,2%) e 39/114 (34,2%), respectivamente, e o número dos que referiram “*nunca*” usar preservativo quando têm relações sexuais vaginais, orais e anais foi 15/323 (4,6%), 175/286 (61,2%) e 28/114 (24,6%), respectivamente.

Através da aplicação do teste exacto de Fisher, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os géneros relativamente à utilização do preservativo em relações sexuais vaginais, orais e anais ($p=0,448$, $p=0,707$ e $p=0,162$, respectivamente).

De forma a perceber se os participantes que referiram ter tido mais parceiros sexuais utilizavam mais e mais consistentemente o preservativo, aplicou-se o teste de Kruskal-Wallis não tendo sido verificadas diferenças estatisticamente significativas entre o número de parceiros sexuais e a utilização do preservativo para as relações sexuais vaginais, orais e anais ($p=0,628$, $p=0,800$ e $p=0,505$, respectivamente).

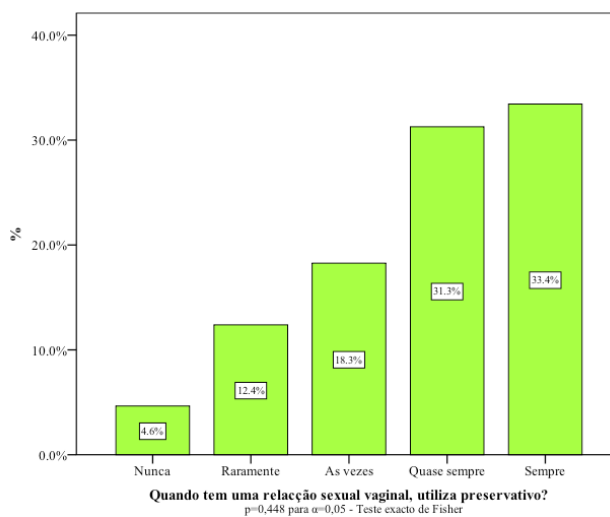


Gráfico 10 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais vaginais na escala: *nunca*, *raramente*, *às vezes*, *quase sempre* e *sempre*, entre a população em estudo.

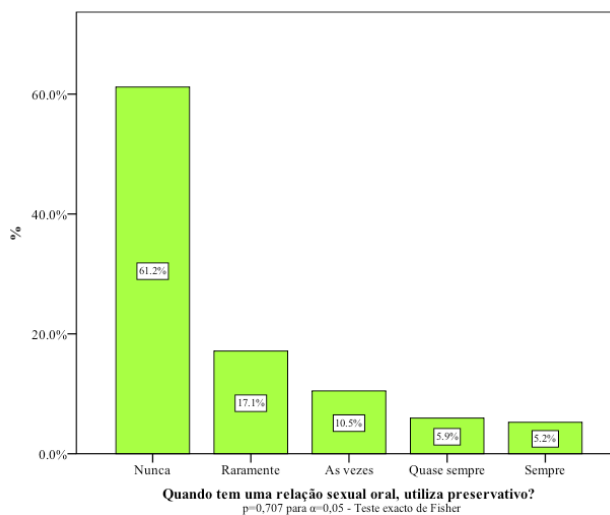


Gráfico 11 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais orais na escala: *nunca*, *raramente*, *às vezes*, *quase sempre* e *sempre*, entre a população em estudo.

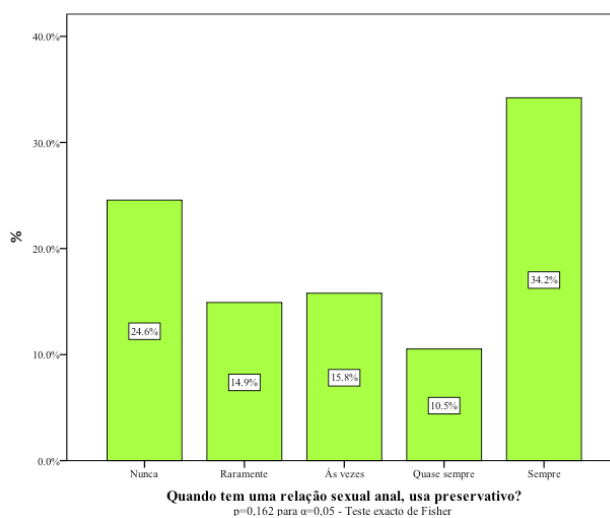


Gráfico 12 – Distribuição global, em frequência relativa, das respostas obtidas para utilização do preservativo em relações sexuais anais na escala: *nunca*, *raramente*, *às vezes*, *quase sempre* e *sempre*, entre a população em estudo.

Para avaliar o reconhecimento da importância da utilização do preservativo, foi solicitado aos participantes que assinalassem uma das opções “*discordo, não concordo nem discordo e concordo*” para as seguintes afirmações:

- Quando tenho uma relação sexual oral devo usar preservativo;
- Quando tenho uma relação sexual anal devo usar preservativo;
- Quando tenho uma relação sexual vaginal devo usar preservativo.

Para cada uma das afirmações referiram “*concordo*” 359/383 (94,0%), 267/383 (69,9%) e 335/383 (87,7%) participantes, respectivamente. Através da aplicação do teste exacto de Fisher, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas para as respostas a estas questões entre os géneros ($p=0,400$, $p=0,094$ e $p=0,222$ para as relações sexuais vaginais, orais e anais, respectivamente).

Para verificar se existia, nesta população, uma relação entre a utilização do preservativo e a presença de anticorpos anti-*C. trachomatis*, distribuíram-se os participantes por dois grupos para cada tipo de relação sexual: um grupo era constituído pelos participantes que referem usar “*sempre*” o preservativo e o outro pelos que referiram não o utilizar ou uma utilização inconsistente (“*nunca, raramente, às vezes e quase sempre*”), que geraram três variáveis auxiliares: *usa versus não usa preservativo em relação sexual vaginal*, *usa versus não usa preservativo em relação sexual oral* e *usa versus não usa preservativo em relação sexual anal*. Através do teste do exacto de Fisher, para qualquer um dos tipos de relação sexual não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos e os resultados da pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* ($p=1,000$ para as relações sexuais vaginais, $p=0,676$ para as relações sexuais orais, $p=0,519$ para as relações sexuais anais). Muito embora os testes estatísticos não tenham revelado diferenças estatisticamente significativas para esta observação, as percentagens dos títulos reactivos de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG são mais elevadas entre os participantes que referem uma ter uma

utilização inconsistente do preservativo (percentagens a negrito na tabela 17), pelo que parece existir uma associação entre estas variáveis.

Tipo de relação sexual	Utilização do Preservativo	Títulos reactivos de anticorpos anti- <i>C. trachomatis</i> da classe IgG			p
		Negativo	1:320	1:1000	
Vaginal N=206	Inconsistente	57,8%	6,3%	3,9%	1,000
	Sempre	27,2%	2,9%	1,9%	
Oral N=186	Inconsistente	78,5%	9,1%	5,9%	0,676
	Sempre	5,4%	1,1%	0,0%	
Anal N=75	Inconsistente	52,0%	8,0%	4,0%	0,519
	Sempre	33,3%	1,3%	1,3%	

Tabela 17 – Resultados em frequência relativa dos títulos reactivos de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG segundo a utilização do preservativo nos diferentes tipos de relações sexuais.

Ainda relativamente aos resultados da obtidos na pesquisa de anticorpos, avaliou-se através do teste de Kruskal-Wallis, a distribuição do número de parceiros nos últimos seis meses entre as três categorias de resultados para a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,608$).

Não aparece referenciado na tabela 17 o título reactivo de 1:10000, pois a única participante em que a amostra de soro foi positiva com esse título não respondeu às questões sobre a utilização do preservativo e sobre o número de parceiros nos últimos seis meses.

Ainda sobre o comportamento sexual inquiriu-se os participantes sobre se já tinham tido relações sexuais sob o efeito do álcool e sobre o efeito de drogas.

Para a primeira questão responderam 338/383 (88,2%) participantes, dos quais 135/338 (39,9%) responderam afirmativamente, tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os géneros, através da aplicação do teste do qui-quadrado ($p=0,002$), sendo os participantes do sexo masculino os que mais referiram ter este comportamento (tabela 18).

Relativamente à segunda questão, responderam o mesmo número de participantes que para a questão anterior, dos quais 28/338 (8,3%) responderam afirmativamente.

Também através da aplicação do teste do qui-quadrado, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os géneros ($p=0,043$), sendo os participantes do sexo masculino os que mais afirmaram ter este comportamento (tabela 19).

Género	N	Respostas afirmativas “Já teve relações sexuais sob o efeito do álcool?”	χ^2
♀	258	35,3%	0,002
♂	80	55,0%	
Total	338	39,9%	

Tabela 18 – Frequência relativa por género e frequência relativa global de respostas afirmativas obtidas para a questão “já teve relações sexuais sob o efeito do álcool?”

Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; χ^2 – valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado.

Género	N	Respostas afirmativas “Já teve relações sexuais sob o efeito de drogas?”	χ^2
♀	257	6,6%	0,043
♂	80	13,8%	
Total	337	8,3%	

Tabela 19 – Frequência relativa por género e frequência relativa global de respostas afirmativas obtidas para a questão “já teve relações sexuais sob o efeito de drogas?”

Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; χ^2 – valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado.

Outra questão colocada aos participantes foi a quem pediriam ajuda caso pensassem ter uma infecção sexualmente transmissível (IST), tendo respondido à questão 380/383 (99,2%) participantes (tabela 20).

A quem pediria ajuda?	♀ (%) (N=294)	♂ (%) (N=86)	χ^2	Global (%) (N=380)
Médico ginecologista	76,9	15,1	<0,001	63,0
Namorado(a)	47,5	46,5	0,877	47,2
Mãe	44,9	50,0	0,404	46,1
Médico de família	41,4	52,3	0,071	43,8
Médico particular	31,5	45,3	0,018	34,6
Amigos	29,8	31,4	0,781	30,2
Pai	19,0	37,2	<0,001	23,2
Irmã	12,2	7,0	0,173	11,0
Na farmácia	11,5	11,6	0,979	11,5
Enfermeiro	7,5	7,0	0,880	7,3
Irmão	5,1	10,5	0,174	6,3
Linha Telefónica	4,1	4,7	0,812	4,2
Professor	2,7	2,3	0,844	2,6
Outro Familiar	2,0	2,3	0,868 §	2,1
Outro	0,3	3,5	0,037 §	1,0
Padre/Grupo Religioso	0,7	1,2	0,537 §	0,8
Outro Profissional de Saúde	1,0	1,2	1,000 §	1,0

Tabela 20 – Frequência relativa por género e global relativamente à questão “Se pensar que tem uma IST, a quem pediria ajuda?”.

Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; χ^2 – valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste do qui-quadrado, § - valor de p para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste exacto de Fisher, aplicado por não se terem verificados os pressupostos de aplicação do teste do qui-quadrado para estas variáveis.

Para ambos os sexos a ajuda mais procurada seria o(a) namorado(a), a mãe e o médico de família. O médico ginecologista seria a ajuda mais procurada entre as participantes do sexo feminino e entre os participantes do sexo masculino a seguir às ajudas registadas como mais comuns, estes procurariam também o médico particular e o pai.

4.5. Conhecimento sobre *C. trachomatis*, questões relacionadas com infecções sexualmente transmissíveis e comportamentos associados

Para aferir os conhecimentos da população em estudo sobre a existência de infecção genital por *C. trachomatis*, sintomatologia associada, vias de transmissão e prevenção de infecções sexualmente transmissíveis (IST), foram analisadas as respostas dos participantes a 15 questões (tabela 21).

Questão	Género N= 383	Respostas correctas (%)	Global (%)
1. Reconhece clamidiose como IST?	♀	49,8	48,8
	♂	45,3	
2. Reconhece infertilidade como sequela de IST?	♀	50,8	50,7
	♂	50,0	
3. Reconhece dor de barriga como sintoma de IST?	♀	12,1	12,3
	♂	12,8	
4. Reconhece dor no fígado como sintoma de IST?	♀	19,8	13,1
	♂	11,1	
5. Reconhece ardor ao urinar como sintoma de IST?	♀	66,3	70,0
	♂	82,6	
6. Reconhece urinar às pinginhas como sintoma de IST?	♀	25,6	28,5
	♂	38,4	
7. Reconhece saída de líquido do pénis como sinal de IST?	♀	59,6	60,1
	♂	61,6	
8. Reconhece saída de líquido da vagina como sinal de IST?	♀	64,6	64,8
	♂	65,1	
9. As IST podem ser transmitidas por RS vaginal?	♀	98,0	98,2
	♂	98,8	
10. As IST podem ser transmitidas por RS oral ?	♀	84,2	84,9
	♂	87,2	
11. As IST podem ser transmitidas por RS anal?	♀	85,9	87,2
	♂	91,9	
12. O método mais eficaz para evitar IST é o preservativo?	♀	97,6	97,1
	♂	95,3	
13. Todas as IST têm cura?	♀	94,6	95,3
	♂	97,7	
14. As IST podem ser apanhadas mais do que uma vez?	♀	79,8	81,5
	♂	87,2	
15. Consigo saber se uma pessoa tem uma IST pelo seu aspecto?	♀	95,3	94,0
	♂	89,5	

Tabela 21 – Questões usadas para aferir o conhecimento sobre infecção por *C. trachomatis* e sobre sequelas, sinais, sintomas e transmissão de IST. Frequência relativa da distribuição de respostas correctas por género e global.
Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino;

A mediana de respostas correctas foi 10, com um desvio padrão de 2,646 (tabela 22). Para verificar se o conhecimento relativamente à questões anteriores era idêntico entre os géneros foram comparadas as medianas de respostas correctas para as 15 questões através do teste de Mann-Whitney, não tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas para o conhecimento entre os géneros ($p=0,123$).

Génro	Média	Mediana	N	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	<i>p</i>
♀	9,75	10	297	2,654	0	15	0,123
♂	10,23	11	86	2,594	1	15	
Total	9,86	10	383	2,646	0	15	

Tabela 22 – Medidas de tendência central e de dispersão, globais e por género para distribuição de respostas correctas. Legenda: ♂ - género masculino; ♀ - género feminino; valor de *p* para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste de Mann-Whitney.

Ainda para verificar se o conhecimento seria diferente entre os participantes que referem ter religião e os que referem não ter, compararam-se as medianas de respostas correctas entre as categorias da variável auxiliar *tem religião versus não tem religião*, também através do teste de Mann-Whitney, não tendo sido observadas diferenças estatisticamente significativas ($p=0,052$).

Em termos globais, 187/383 (48,8%) dos participantes reconheceram clamidiose como IST. A infertilidade como sequela de IST foi reconhecida por um número de participantes aproximado do anterior, 194/383 (50,7%). Relativamente ao reconhecimento de dor pélvica, dor hepática, disúria e poliúria como sintomas de IST, responderam afirmativamente 47/383 (12,3%), 50/383 (13,1%), 268/383 (70,0%) e 109/383 (28,5%) participantes, respectivamente. Relativamente ao reconhecimento de saída de líquido do pénis e da vagina como sinal de IST, responderam afirmativamente 230/383 (60,1%) e 248/383 (64,8%) participantes, respectivamente.

Em relação à possibilidade de transmissão das IST por via sexual vaginal, oral e anal, responderam afirmativamente 376/383 (98,2%), 325/383 (84,9%) e 334/383 (87,2%) participantes, respectivamente. Para as três últimas questões responderam

negativamente 1/383 (0,3%), 53/383 (13,8%) e 44/383 (11,5%) participantes, respectivamente, sendo que os restantes não sabiam ou não responderam.

Em relação ao método mais eficaz para evitar as IST, 372/383 (97,1%) participantes referiram ser a utilização do preservativo. De entre os 8/383 (2,1%) participantes que responderam não ser este o método mais eficaz para evitar IST, 5/383 (1,3%) referem ser a abstinência como o melhor método para evitar as IST.

Relativamente à possibilidade de re-infecção e à possibilidade de cura para todas as IST, responderam correctamente 312/383 (81,5%) e 365/383 (95,3%), respectivamente.

Para a questão “*consigo saber se uma pessoa tem uma IST pelo seu aspecto?*”, 360/383 (94,0%) responderam não ser possível, 11/383 (2,9%) dos participantes responderam afirmativamente e 12/383 (3,1%) não sabiam ou não responderam.

A distribuição de respostas correctas pelos diferentes anos académicos frequentados pelos participantes encontra-se representada no gráfico 13.

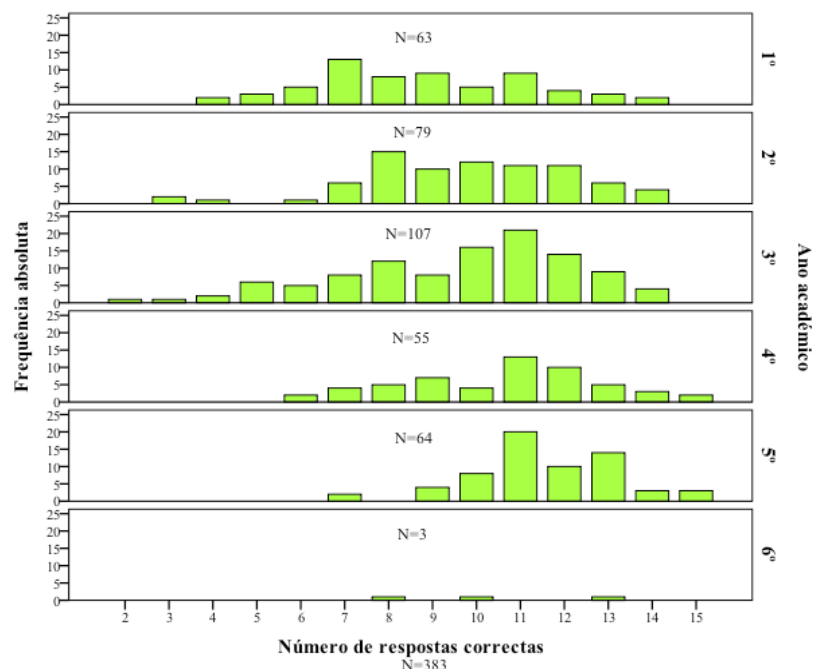


Gráfico 13 – Representação gráfica em frequência absoluta do número de respostas correctas segundo o ano académico.

Até ao 3º ano observa-se uma grande amplitude entre o número mínimo e máximo de questões correctamente respondidas pelos participantes (dois e 14, respectivamente),

sendo 9 a mediana de questões correctamente respondidas para o 1º ano e 10 para o 2º e 3º anos académico. A partir do 4º ano o número mínimo de respostas correctas aumentou, passando a ser de 6 questões correctas para o 4º ano e de 7 questões correctas para o 5º ano, e o número máximo de questões correctas se elevou para 15, tanto para o 4º como para o 5º ano académico. No 6º ano académico, que existe apenas no curso de Medicina, observou-se um aumento do número mínimo de questões correctas, passando a 8, embora a mediana seja igual à observada no 2º e 3º (todos os cursos, com mediana de 10 respostas correctas) e o número máximo de questões correctas (13) seja menor do que o observado no 4º e 5º ano. No entanto, só participaram três estudantes que frequentavam o 6º ano de medicina.

Apenas cinco participantes responderam correctamente às 15 questões utilizadas para aferir o conhecimento da população em estudo. Destes, três eram do curso de Medicina, um do 4º e dois do 5º ano e os outros dois participantes eram do curso de farmácia, um do 4º e o outro do 5º ano.

A distribuição do número de respostas correctas foi avaliada entre as diferentes licenciaturas (gráfico 14) frequentadas pelos participantes, através do teste de Kruskal-Wallis, tendo sido encontradas diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,001$). A mediana de respostas correctas é mais elevada nas licenciaturas em Medicina (11), em Farmácia (11) e em Enfermagem (10) do que nas licenciaturas em ACSP (8), em Radiologia (8) e em Fisioterapia (8). A análise questão a questão revelou, como esperado (tendo em conta o resultado anterior), a existência de diferenças estatisticamente significativas para várias questões. Na tabela 23 encontram-se enumeradas as 15 questões e as respectivas frequências registadas por curso, estando assinaladas a negrito as questões onde foram observadas diferenças estatisticamente significativas.

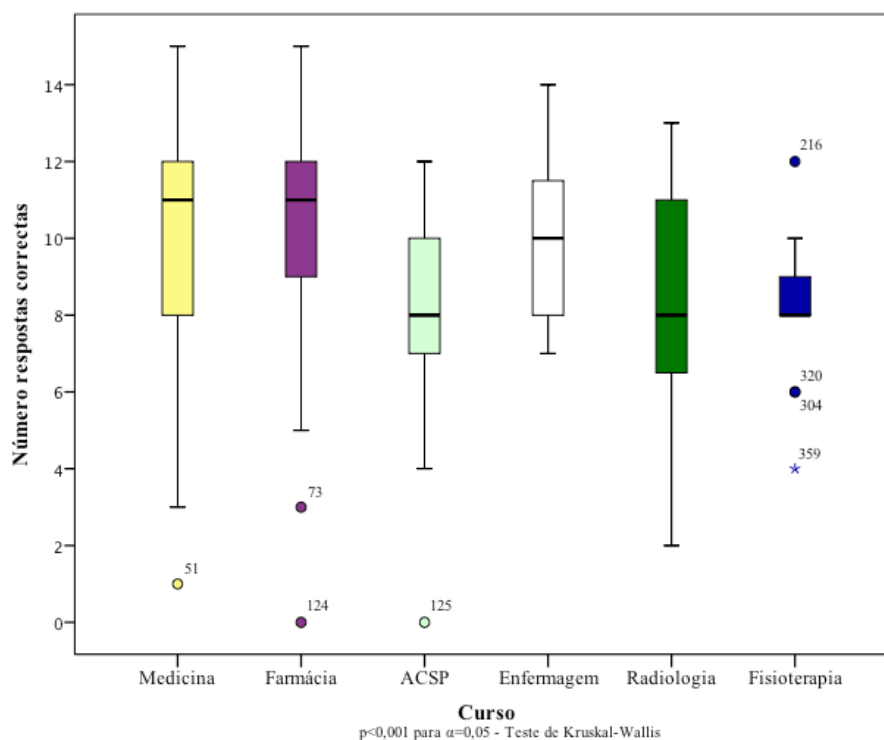


Gráfico 14 – Representação gráfica de caixas e bigodes para a distribuição das medianas de respostas correctas entre as diferentes licenciaturas frequentadas pelos participantes.

Questão	Frequência relativa de respostas correctas por curso (%)						p
	M N=165	F N=148	AC N=48	E N=7	R N=11	Fis N=14	
1. Reconhece clamidiose como IST?	55,2	55,4	23,7	42,9	9,1	7,1	<0,001
2. Reconhece infertilidade como sequela de IST?	46,1	61,5	26,3	85,7	27,3	57,1	<0,001
3. Reconhece dor de barriga como sintoma de IST?	10,9	15,5	7,9	14,3	18,2	0,0	0,399
4. Reconhece dor no fígado como sintoma de IST?	20,6	8,8	0,0	14,3	18,2	0,0	0,001
5. Reconhece ardor ao urinar como sintoma de IST?	67,9	75,7	57,9	71,4	63,6	71,4	0,326
6. Reconhece urinar às pinguinhas como sintoma de IST?	27,3	28,4	31,6	28,6	45,5	21,4	0,811
7. Reconhece saída de líquido do pénis como sinal de IST?	66,7	63,5	34,2	42,9	45,5	35,7	0,001
8. Reconhece saída de líquido da vagina como sinal de IST?	69,1	70,3	42,1	42,9	45,5	42,9	0,002
9. As IST podem ser transmitidas por relação sexual vaginal?	97,6	98,6	97,4	100	100	100	0,803
10. As IST podem ser transmitidas por relação sexual oral?	90,9	81,8	78,9	85,7	63,6	78,6	0,025
11. As IST podem ser transmitidas por relação sexual anal?	92,1	91,2	63,2	85,7	54,5	78,6	<0,001
12. O método mais eficaz para evitar IST é o preservativo?	98,2	97,3	89,5	100	100	100	0,188
13. Todas as IST têm cura?	96,4	96,6	92,1	100	81,8	85,7	0,074
14. As IST podem ser apanhadas mais do que uma vez?	87,3	84,5	63,2	100	54,5	42,9	<0,001
15. Consigo saber se uma pessoa tem uma IST pelo seu aspecto?	95,2	93,9	94,7	85,7	81,8	92,9	0,309

Tabela 23 – Frequência relativa de respostas correctas às 15 questões para aferir o conhecimento da população em estudo segundo a licenciatura.

Legenda: **M** – curso de medicina; **F** – curso de farmácia; **AC** – curso de análises clínicas e saúde pública; **E** – curso de enfermagem; **Fis** – curso de fisioterapia; valor de *p* para $\alpha=0,05$, obtido pelo teste exacto de Fisher.

As duas licenciaturas mais longas, Medicina e Farmácia, registaram percentagens de respostas que demonstraram o reconhecimento de *C. trachomatis* como agente de infecção genital em termos globais sobreponíveis ($\approx 55\%$), não tendo, no entanto, no 5º ano ultrapassado os 80% na licenciatura em Medicina e os 70% na licenciatura em Farmácia (tabela 24). A estes seguiram-se as licenciaturas em Enfermagem (42,9%) e em ACSP (23,7%). As licenciaturas em Radiologia e em Fisioterapia apresentaram percentagens de reconhecimento mais baixas, não ultrapassando os 10% (9,1% e 7,1%, respectivamente) (tabela 23 e 24).

Curso	"Reconhece clamidiose como IST?"						
	1º ano	2º ano	3º ano	4º ano	5º ano	6º ano	Global por curso
Medicina	35,1% (N=37)	50,0% (N=26)	63,6% (N=44)	65,0% (N=20)	77,8% (N=27)	66,7% (N=3)	55,2% (N=165)
Farmácia	30,0% (N=10)	45,0% (N=20)	45,7% (N=46)	70,6% (N=34)	67,6% (N=37)	- (N=0)	55,4% (N=148)
ACSP	11,1% (N=9)	23,5% (N=17)	36,4% (N=11)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	23,7% (N=48)
Enfermagem	- (N=0)	33,3% (N=6)	100% (N=1)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	42,9% (N=7)
Radiologia	0,0% (N=4)	33,3% (N=3)	0,0% (N=3)	0,0% (N=1)	- (N=0)	- (N=0)	9,1% (N=11)
Fisioterapia	33,3% (N=3)	0,0% (N=7)	0,0% (N=2)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	7,1% (N=14)
Global por ano	28,5% (N=63)	36,7% (N=79)	50,9% (N=107)	67,2% (N=55)	71,9% (N=64)	66,7% (N=3)	N=371

Tabela 24 – Frequência relativa do reconhecimento de *C. trachomatis* com agente de infecção genital na população em estudo, segundo a licenciatura e o ano académico frequentado.

Para a 2ª questão os estudantes da licenciatura em Enfermagem são os que apresentam a percentagem mais elevada de reconhecimento de infertilidade como sequela de IST (85,7%), seguida dos estudantes das licenciaturas em Farmácia (61,5%), Fisioterapia (57,1%) e Medicina (46,1%). Percentagens mais baixas ($\approx 26\%$) foram registadas entre os estudantes das licenciaturas em ACSP e em Radiologia (tabela 22).

O reconhecimento de dor no fígado como sintoma de IST não ultrapassou os 20,6%, sendo esta percentagem registada entre os estudantes da licenciatura em Medicina e por uma percentagem aproximada dos estudantes das licenciatura em Radiologia (18,2%) e

em Enfermagem (14,3%). Entre os participantes das licenciaturas em ACSP e em Fisioterapia nenhum participante reconheceu esta dor como sintoma de IST .

Curso	"Reconhece infertilidade como sequela de IST?"						Global por curso
	1º ano	2º ano	3º ano	4º ano	5º ano	6º ano	
Medicina	48,6% (N=37)	69,2% (N=26)	36,4% (N=44)	50,0% (N=20)	44,4% (N=27)	33,3% (N=3)	46,1% (N=165)
Farmácia	30,0% (N=10)	65,0% (N=20)	65,2% (N=46)	44,1% (N=34)	81,1% (N=37)	- (N=0)	61,5% (N=148)
ACSP	33,3% (N=9)	35,3% (N=17)	9,1% (N=11)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	26,3% (N=48)
Enfermagem	- (N=0)	83,3% (N=6)	100% (N=1)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	85,7% (N=7)
Radiologia	25,0% (N=4)	66,7% (N=3)	0,0% (N=3)	0,0% (N=1)	- (N=0)	- (N=0)	27,3% (N=11)
Fisioterapia	33,3% (N=3)	71,4% (N=7)	0,0% (N=2)	- (N=0)	- (N=0)	- (N=0)	57,1% (N=14)
Global por ano	41,3% (N=63)	62,0% (N=79)	44,9% (N=107)	45,5% (N=55)	65,6% (N=64)	33,3% (N=3)	N=371

Tabela 25 – Frequência relativa do reconhecimento de infertilidade como sequela de IST na população em estudo, segundo a licenciatura e o ano académico frequentado.

A saída de líquido do pénis é reconhecida como sinal de IST por percentagens sobreponíveis ($\approx 65\%$) de participantes que frequentam as licenciaturas em Medicina e em Farmácia, seguidos dos que frequentam as licenciaturas em Enfermagem e em Radiologia, os quais apresentam percentagens de reconhecimento de $\approx 44\%$, seguindo-se os que frequentam as licenciaturas em ACSP e em Fisioterapia com $\approx 35\%$ de participantes a reconhecem este sinal. Para a saída de líquido da vagina como sinal de IST as licenciaturas em Medicina e em Farmácia são as que apresentam a maiores percentagem de reconhecimento ($\approx 69\%$), sendo que as restantes licenciaturas apresentam percentagens de reconhecimento deste sinal mais baixas e sobreponíveis ($\approx 43\%$).

A via de transmissão de IST por relação sexual oral foi reconhecida, por ordem decrescente, por 90,9% dos alunos de Medicina, 85,7% dos alunos de Enfermagem, 81,8% dos alunos de Farmácia, 78,9% dos alunos de ACSP, 78,6% dos alunos de Fisioterapia e 63,6% dos alunos de Radiologia.

A via de transmissão de IST por relação sexual anal foi reconhecida, por ordem decrescente, por 92,1% dos alunos de Medicina, 91,2% dos alunos de Farmácia, 85,7% dos alunos de Enfermagem, 78,6% dos alunos de Fisioterapia, 63,2% dos alunos de ACSP e 54,5% dos alunos de Radiologia.

Para a questão relativa à possibilidade de re-infecção por uma IST, a última em que foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre as diferentes licenciaturas, registaram-se as seguintes taxas de respostas correctas por ordem decrescente: 100% na licenciatura em Enfermagem, 87,3% na licenciatura em Medicina, 84,5% na licenciatura em Farmácia, 63,3% na licenciatura em ACSP, 54,5% na licenciatura em Radiologia e 42,9% na licenciatura em Fisioterapia.

Entre as questões em que não se observou diferenças estatisticamente significativas, o reconhecimento de dor de barriga como sintoma de IST não ultrapassou os 18,2%, sendo esta a percentagem registada entre os participantes da licenciatura em Radiologia. As restantes licenciaturas registaram percentagens de reconhecimento entre os 7,9% e os 15,5% e na licenciatura em Fisioterapia nenhum participante reconheceu esta sintomatologia.

A disúria (ardor ao urinar) tem percentagens de reconhecimento como sintoma de IST entre os 57,9% e 75,7%, enquanto que a poliquiúria (“*urinar à pinguinhas*”) regista percentagens de reconhecimento mais baixas, entre os 21,4% e os 45,5%.

Relativamente à questão sobre a transmissão de IST através da relação sexual vaginal, as percentagens de reconhecimento variaram entre os 97,4% e os 100%. Quanto ao preservativo ser o método mais eficaz para evitar as IST, as percentagens de reconhecimento variaram entre 89,5% e os 100%.

Relativamente à questão “*todas as IST têm cura?*”, as percentagens de reconhecimento variaram de forma idêntica à registada para a questão anterior, entre os 81,8% e os 100%.

Para a última questão “*consigo saber se uma pessoas tem uma IST pelo seu aspecto?*” as percentagens de resposta negativa variaram entre os 95,2% e os 81,8%, registando-se percentagens de 2,9% (11) e de 3,1% (12) participantes que responderam afirmativamente e que responderam “*não sabe/não responde*”, respectivamente.

De forma a aferir se a utilização do preservativo era mais frequente entre os participantes que demonstraram ter mais conhecimentos e os que demonstraram ter menos conhecimentos, avaliou-se a distribuição de respostas correctas para as 15 questões através do teste de Krukall-Wallis entre as categorias de resposta “*nunca, raramente, às vezes, quase sempre e sempre*” para as questões “*quando tem uma relação sexual vaginal usa preservativo?*”; “*quando tem uma relação sexual oral usa preservativo?*”; “*quando tem uma relação sexual anal usa preservativo?*”. Verificou-se que a distribuição de respostas correctas é a mesma entre as cinco categorias para cada uma das três questões anteriores, pelo que não existem diferenças estatisticamente significativas para a utilização do preservativo entre os participantes que demonstraram ter mais conhecimentos e os que demonstraram ter menos conhecimentos ($p=0,382$, $p=0,501$ e $p=0,270$, respectivamente).

5. DISCUSSÃO

Neste estudo foi identificado apenas um caso de infecção por *Neisseria gonorrhoeae* não foram identificados casos de infecção activa por *Chlamydia trachomatis*. Situação idêntica é referida no estudo germânico-espanhol de Stock *et al.* (2001), onde é estudado o comportamento sexual e a prevalência de *C. trachomatis* de duas populações de estudantes, uma alemã (Universidade de Bielefeld) e outra espanhola (Universidade Pública de Navarra, Pamplona). À semelhança do que foi observado no presente estudo, na população de estudantes espanhóis não foram identificados casos de infecção por este agente, enquanto que na população de estudantes alemã os autores registaram uma prevalência de infecção por *C. trachomatis* de 4,8% entre participantes do sexo feminino e de 2,2% entre participantes do sexo masculino. Stock *et al.* monitorizaram os estudantes espanhóis durante os dois anos seguintes, e em 2003 descrevem os resultados obtidos no início e no final do estudo. A prevalência manteve-se inalterada, mesmo tendo sido registado um aumento significativo da actividade sexual destes estudantes, de 25,4% para 50,7%.

Relativamente aos resultados serológicos, uma pesquisa positiva de anticorpos anti-*C. trachomatis* não distingue entre uma infecção prévia e uma infecção activa, a não ser que o título seja muito elevado, pois os anticorpos desenvolvidos na altura da infecção genital por *C. trachomatis* são persistentes (Black, 1997). Assim, a sua presença na população deste estudo sugere que uma percentagem de 14,4% desses indivíduos já esteve em contacto com o agente, embora possa não corresponder a uma infecção actual. No entanto, 5,5% destes estudantes tiveram um título de anticorpos bastante elevado.

Não foram encontrados outros estudos em populações universitárias que tivessem efectuado a pesquisa de anticorpos anti-*C. trachomatis* nas populações que estudaram.

Mas, os títulos de anticorpos encontrados entre o sexo feminino (1:320 – 8,4%; 1:1000 – 5,0% e 1:10000 – 0,6%), têm sido descritos por vários autores em mulheres inférteis como associados a alterações das trompas. No estudo de Akende *et al.* em 2003, em 434 mulheres com estas alterações, 75% apresentavam um título reactivo de anticorpos anti-*C. trachomatis* da classe IgG igual ou superior a 1:128, sendo a mediana neste grupo o título 1:512. Em 225 mulheres com alteração severa das trompas, 75% possuíam um título igual ou superior a 1:256, sendo a mediana neste grupo o título 1:1024. Pelo que, a existência anticorpos anti-*C. trachomatis* parece ter como consequência um aumento do risco de infertilidade nas mulheres (Gijsen, *et al.*, 2001), situação presente em 13,9% das estudantes que participaram neste estudo.

As fontes de informação sobre sexualidade mais procuradas pelos participantes de ambos os géneros no presente estudo foram os amigos, os livros e as revistas e a Internet. No estudo de Greaves *et al.* em 2009, os participantes apontaram também os amigos e as revistas como fontes de informação sobre sexualidade, mas não procurados da mesma forma entre os géneros. Ao contrário do registado no presente estudo, no estudo inglês a Internet apresentou percentagens baixas de procura para este tipo de informação. Domeika *et al.*, em 2002, referem também que apenas 8% dos participantes referiram a escola como fonte de informação sexual e que 20% responderam ter sido “educados” pelos amigos. A idoneidade das fontes sobre sexualidade e saúde sexual mais procuradas pelos participantes é questionável, e a baixa procura do médico, dos professores e dos pais para obter informação sobre este tema, é talvez revelador da dificuldade destes jovens em falar sobre este tema.

A partir dos resultados obtidos relativamente às variáveis utilizadas para avaliar o comportamento sexual da população em estudo, registou-se uma percentagem de 89,6% de participantes que já tinha tido relações sexuais. Percentagens um pouco mais baixas mas na mesma ordem de grandeza, foram registadas no estudo de Muñoz-Silva, *et al.*,

publicado em 2009, onde os autores, no ano lectivo de 2005-2006, registaram na Universidade do Algarve e de Huelva percentagens de 86% e 87,6%, respectivamente, de estudantes que referiram já ter tido relações sexuais.

Para a percentagem de participantes que ainda não tinham iniciado a sua vida sexual (10,2%), não foram registadas diferenças estatisticamente significativas relativamente a este comportamento entre os géneros, nem entre o facto de os participantes terem ou não religião.

Em relação à idade em que acontece a primeira relação sexual, o padrão observado é idêntico ao referido no estudo *The Irish Survey of Sexual Health and Relationships* (2006), no qual os autores descrevem que o início da actividade sexual ocorre antes dos 17 anos para 22% das participantes do sexo feminino e para 31% dos participantes do sexo masculino. No entanto, no presente estudo as percentagens registadas são mais elevadas, 27% entre as participantes do sexo feminino e 43,4% entre os participantes do sexo masculino. O que é preocupante já que num estudo alargado realizado entre jovens portugueses sobre comportamento sexual, jovens entre os 13 e os 15 anos se observa que o conhecimento é escasso e que os comportamentos são de risco, mesmo entre jovens com mais de 16 anos, 23% refere não usar preservativo para evitar uma infecções sexualmente transmitidas (IST) (Matos, *et al.*, 2003). Num estudo mais recente, realizado em 2009 na Irlanda por O'Connell *et al.*, apenas entre estudantes do sexo feminino, a mediana registada pelos autores para a primeira relação sexual foi 17 anos. .

Não foram encontrados outros estudos que referissem o número de parceiros sexuais no mesmo período de tempo que o usado no presente trabalho (seis meses). No entanto, no estudo Stock *et al.* de 2001, entre os estudantes espanhóis o número de participantes com apenas um parceiro sexual nos últimos 12 meses era substancialmente superior relativamente ao registado entre os estudantes alemães. Apesar de no presente estudo ter

sido utilizado um período tempo de seis meses, observou-se que a maioria dos participantes referiam ter tido apenas um parceiro sexual, especialmente entre as participantes do sexo feminino.

No estudo de 2009 de Muñoz-Silva, *et al.*, no qual também foi utilizado um período de 12 meses para o número de parceiros sexuais, os autores não registaram diferenças entre os géneros na população de estudantes da Universidade do Algarve, tal como nos estudos de Zakher & Kang (2008), realizado em estudantes universitários australianos e no de Greaves *et al.* (2009), efectuado em estudantes universitários ingleses. Essas diferenças foram encontradas na população da Universidade de Huelva, assim como na do presente estudo, em que os participantes do sexo masculino foram identificados como tendo um número mais elevado de parceiros sexuais.

No presente trabalho observou-se ainda que os participantes que referiam ter religião tiveram menos parceiros sexuais nos últimos seis meses do que os que referiam não ter religião, pelo que o facto de ter religião parece não fazer diferença em relação à idade de início da vida sexual, mas pode, eventualmente, ter como consequência a diminuição do número de parceiros sexuais.

Relativamente ao uso do preservativo, o estudo de 2009 de Muñoz-Silva, *et al.* regista elevadas taxas de adesão à sua utilização, quer os participantes tenham parceiro fixo ou não (entre 66,7% e 97,9%), sendo essa taxa mais elevada entre a população espanhola do que entre a portuguesa, não tendo aqueles autores verificado diferenças entre os géneros relativamente a este comportamento. Na população deste estudo, a percentagem de participantes que referem usar “*sempre*” o preservativo durante as relações sexuais é baixa, não atingindo os 35%, situação também observada por Greaves, *et al.* (2009), assim como no estudo realizado entre estudantes universitários do sexo feminino na Nova Zelândia (Baker, *et al.*, 2005). Estes estudos referem percentagens de 29% e 24%, respectivamente, de participantes que responderam utilizar “*sempre*” o preservativo.

Muito embora o estudo neozelandês tenha sido realizado apenas entre o sexo feminino, um comportamento semelhante foi entre os participantes estudados, uma vez que aqueles autores verificaram que entre as participantes com dois ou mais parceiros sexuais nos últimos doze meses, a percentagem que refere usar “*sempre*” o preservativo é baixa, sendo de 21,3%, idêntica à global. No presente estudo, entre os participantes com dois ou mais parceiros sexuais nos últimos seis meses, também não se verificou elevação na frequência de utilização do preservativo, não existindo diferença quanto à frequência de utilização do preservativo entre os géneros, o que foi também observado por Greaves *et al.*, 2009 e por Zakher & Kang, 2008.

Deve também ter-se em atenção que tanto no presente estudo como no de Greaves *et al.*, 2009, os alunos que demonstraram ter mais conhecimentos não utilizam o preservativo mais frequentemente.

Ainda em relação a comportamentos sexuais de risco, verificou-se neste estudo: i) que apenas 70,0% dos participantes considera que deve fazer uso do preservativo quando tem relações sexuais orais e apenas 5,2% refere que o utiliza durante este tipo de relação sexual; ii) que $\approx 13,0\%$ dos participantes referem que as IST não são transmitidas por via sexual oral e anal; e iii) que 39,9% dos participantes já tiveram relações sexuais sob o efeito do álcool e 8,4% já tiveram relações sexuais sob o efeito de drogas, comportamentos que são significativamente menos observados entre as participantes do sexo feminino. A prática de relações sexuais sob o efeito destas substâncias é preocupante, pois está documentado por diferentes autores que entre 12,1% e 20% da taxa de não aderência à utilização do preservativo se prende com estes comportamentos (Baker, *et al.*, 2005; Layte, *et al.*, 2006; O'connell, *et al.*, 2009).

As observações anteriores sugerem que o comportamento sexual da população em estudo coloca-a em elevado risco de adquirir infecção por *Chlamydia trachomatis*, assim como outras IST, sendo preocupante que os indivíduos que mudam de parceiro

sexual com mais frequência não utilizem mais o preservativo. Seria interessante perceber o que faz com que os estudantes das Universidades do Algarve e sobretudo entre os da Universidade de Huelva, adiram mais à utilização do preservativo do que os estudantes das universidades participantes neste estudo e noutros anteriormente referenciados.

As observações registadas pelo presente trabalho em i) e ii) foram possíveis através da introdução de questões específicas para cada tipo de relação sexual, não tendo sido observadas em outros estudos consultados, pelo que os resultados obtidos revelaram a pertinência da inclusão deste tipo de questões.

Não foram também encontrados estudos que referissem a associação entre a presença de anticorpos anti-*C. trachomatis* e a utilização do preservativo. No presente trabalho não foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa entre a presença destes anticorpos e a utilização do preservativo, mas na análise da tabela de dupla entrada efectuada para aplicação do teste utilizado, verificou-se que para qualquer tipo de relação sexual a presença de qualquer título reactivo destes anticorpos é mais elevada entre os participantes que referem uma utilização inconsistente (“*nunca, raramente, às vezes e quase sempre*”) do preservativo do que entre os que referem usar sempre. Estatisticamente pode não ser significativo, tal pode dever-se ao facto de o número de participantes que efectuaram colheita de sangue para esta pesquisa ter sido reduzido (237), mas biologicamente parece existir uma relação entre estes dois factos.

Na avaliação do conhecimento da população em estudo sobre a existência de infecção genital por *C. trachomatis*, sintomatologia associada, vias de transmissão e prevenção de IST, não se verificou a existência de diferenças estatisticamente significativas entre os géneros, ao contrário do que foi registado em outros estudos, nos quais as participantes do sexo feminino demonstraram ter mais conhecimentos que os participantes do sexo masculino (Fayers, *et al.*, 2003; Greaves, *et al.*, 2009;

Kuhanendran & Oakeshott, 1999). Esta observação indica que no planeamento de uma eventual campanha de informação para uma população idêntica à deste estudo, as medidas a desenvolver deverão ser idênticas para os dois géneros. Também não foram observadas diferenças no conhecimento entre os participantes que referiram ter religião e os que referiram não ter religião.

No entanto, foram encontradas diferenças estatisticamente significativas em relação ao conhecimento entre as diferentes licenciaturas frequentadas pelos participantes. Essas diferenças residem no reconhecimento de *C. trachomatis* como agente de infecção genital, no reconhecimento da infertilidade como sequela de IST, no reconhecimento de alguns sinais e sintomas importantes no contexto das IST, como a saída de líquido das vias genitais, na possibilidade de re-infecção e na possibilidade de transmissão de IST através de relações sexuais orais e anais.

Dada a heterogeneidade das diferentes licenciaturas incluídas no presente estudo em termos de duração (Medicina – 6 anos, Farmácia – 5 anos, Análises Clínicas e Saúde Pública, Enfermagem, Radiologia e Fisioterapia – 4 anos), não é possível estabelecer uma comparação fidedigna entre os anos académicos. Em todo o caso, parece existir um aumento do conhecimento sobre IST à medida que os alunos progridem nos seus estudos (gráfico 13). No entanto, só responderam correctamente a todas as questões cinco alunos.

As percentagens de reconhecimento de *C. trachomatis* como agente de infecção genital registadas não são tão elevadas como se esperaria, visto os participantes serem alunos das áreas das ciências da saúde.

Em geral, apenas 48,8% dos participantes reconheceram este microrganismo como agente de infecção genital. Estudos realizados na comunidade como o *The Irish Survey of Sexual Health and Relationships*, descreve que na Irlanda 60% das mulheres e 37% dos homens têm um conhecimento correcto sobre *Chlamydia* e que 73% das mulheres e

54% dos homens já ouviu falar sobre *Chlamydia*. No estudo de Devonshire, *et al.*, 1999, no Reino Unido, numa clínica de medicina genito-urinária, os autores descrevem que 60% das mulheres e 51% dos homens já tinham “ouvido falar” neste agente.

Relativamente à licenciatura em Medicina em particular, a percentagem de alunos que já tinha ouvido falar deste agente (55,2%), é inferior à do estudo de Kuhanendran & Oakeshott em 1999, efectuado apenas em estudantes de Medicina do 1º e 2º ano, em que 66,6% dos alunos já tinham ouvido de *C. trachomatis*.

Não foram encontrados estudos do género deste realizados em Portugal e sendo esta amostra não aleatória e recolhida numa população específica, não é correcto extrapolar para a população portuguesa em geral, mas é consensual que os estudantes universitários, nomeadamente os destas áreas, possuem um conhecimento mais elevado que o resto da população. Esperar-se-ia que os alunos finalistas da licenciatura em Medicina apresentassem uma percentagem maior de reconhecimento deste agente, o que não se verifica. Outra licenciatura cujos alunos terão um importante papel no controlo desta infecção, a de Enfermagem, apresentou uma percentagem de reconhecimento de apenas 42,9% e a de ACSP, cujos alunos terão um importante papel no diagnóstico apresentou uma percentagem ainda mais baixa, de apenas 23,7%. As percentagens de reconhecimento deste agente entre os participantes das licenciaturas em Radiologia e em Fisioterapia, são preocupantemente ainda mais baixos, não atingindo os 10%. O que se passa entre os estudantes dessas licenciaturas, que por inerência se encontram mais afastados desta temática, parece ser indicador do que poderá ser encontrado na população em geral, embora algum cuidado deva ser tomado nesta interpretação, visto estas licenciatura terem tido um baixo número de participantes no estudo. Em todo o caso, a comparação em termos percentuais regista uma proximidade entre as licenciaturas em Radiologia e em Fisioterapia e uma grande discrepância entre estas e as restantes licenciaturas.

Relativamente ao reconhecimento de infertilidade como sequela de IST, entre as quais a infecção por *C. trachomatis*, no geral, apenas 50,7% dos participantes reconheceram que as IST podem dar origem a esta condição. No estudo de Greaves, *et al.* em 2009, os autores registam que uma percentagem de 84% de participantes sabiam que a infertilidade é uma complicação desta infecção. Deve notar-se que esta população era constituída por estudantes de Medicina, Geografia e Direito. Neste estudo, entre os alunos das diferentes licenciaturas, os de Enfermagem registam maior percentagem de reconhecimento (85,7%), seguidos dos de Farmácia (61,5%) e só depois dos de Medicina (57,1%).

A sintomatologia como a dor pélvica, a dor hepática e a poliúria associada a algumas infecções genitais, como as causadas por *C. trachomatis*, regista percentagens baixas de reconhecimento (entre os 0,0% e os 45%). A disúria é o sintoma mais reconhecido pelos participantes como sintoma de IST mas, ainda assim, as percentagens não ultrapassam os 75%. A saída de líquido das vias genitais como sinal de IST também apresenta percentagens de reconhecimento relativamente elevadas, registando-se diferenças entre os estudantes das diferentes licenciaturas, em maior percentagem os estudantes de Medicina e de Farmácia, entre os 63,5% e os 70,3%, respectivamente.

O reconhecimento da sintomatologia associada às IST, entre elas a infecção genital por *C. trachomatis* também não é tão elevada como se desejaria, mas mais preocupante é ainda o registo de alguns estudantes das licenciaturas de Medicina (2,4%), de Farmácia (1,4%) e de ACSP (2,6%) que não consideram que a relação sexual vaginal pode ser via de transmissão de IST. Em termos globais cerca de 14% dos participantes também não reconhecem a possibilidade de transmissão de IST através das relações sexuais orais e anais.

6. CONCLUSÃO

6.1. Limitações do estudo

O recrutamento de participantes através de voluntariado, pode ter favorecido a participação de estudantes mais atentos ou preocupados com as infecções sexualmente transmissíveis (IST). Desta forma poderá existir um viés sobrestimado dos resultados obtidos em relação ao conhecimento dos participantes, situação também descrita por outros autores (Fayers, *et al.*, 2003; Greaves, *et al.*, 2009; O'connell, *et al.*, 2009; Zakher & Kang, 2008), o que torna os resultados obtidos ainda mais preocupantes. Em todo o caso, estudos futuros serão necessários para esclarecer esta hipótese.

Da mesma forma, poderá ter ocorrido um viés relativamente aos resultados laboratoriais, uma vez que não foi identificado nenhum caso de infecção activa por *C. trachomatis*. A grande maioria dos participantes teve apenas um parceiro sexual nos últimos seis meses, à semelhança do que foi observado por Stock *et al.* em 2001 e 2003, numa população com baixa frequência de mudança de parceiro sexual, na qual também não foram identificados casos positivos para a infecção genital por *C. trachomatis*. Em todo o caso, os participantes no estudo de Stock *et al.* referiram uma elevada percentagem de utilização do preservativo, o que não foi observado entre a população deste estudo.

Sabendo-se que a mudança de parceiro sexual é mais frequente nesta altura da vida (Price *et al.*, 1992; Joffe, *et al.*, 1992; Madhok, *et al.*, 1993 & Parsons, *et al.*, 2000, citados por Greaves, *et al.*, 2009), este achado pode ser indicador de que a amostragem por voluntariado pode ter levado à participação de indivíduos que se consideram em menor risco, não reflectindo uma prevalência de infecção real ou próxima desta, já que estudos realizados por outros autores noutros países em populações idênticas revelam prevalências da infecção por *C. trachomatis* até desde 0% a 12% (Berry, *et al.*, 1995;

Hay, *et al.*, 2004; Rogstad, *et al.*, 2001; Stock, *et al.*, 2001; Stock, *et al.*, 2003) e estudos realizados na Unidade de Ensino e Investigação em Doenças Sexualmente Transmitidas em outras populações têm também mostrado taxas de infecção preocupantes como uma prevalência 10,2% da infecção em adolescentes grávidas (Costa, 2009).

A utilização de amostras de urina em vez de zaragatoas endovaginais colhidas pela própria entre as participantes do sexo feminino pode não ter sido a mais indicada, pois estas amostras podem conter inibidores, apesar de medidas terem sido tomadas para reduzir e detectar a sua presença. No entanto, optou-se pela utilização do tipo de amostra menos invasiva e que apesar deste problema tem apresentado boa sensibilidade. Uma população universitária também não é representativa da população em geral, pelo que os resultados obtidos não podem ser extrapolados para a segunda, embora neste caso se pretendesse saber o conhecimento dos estudantes universitários sobre esta temática, como anteriormente mencionado.

6.2. Conclusão e perspectivas futuras

As atitudes e práticas estão intimamente ligadas ao conhecimento, o qual assume maior importância quando se correm riscos cujas sequelas podem marcar de forma negativa a saúde física e emocional de uma vida. É esta consciência que nos faz transmitir esse conhecimento aos que nos rodeiam, sejam eles os nossos familiares, amigos, alunos ou os doentes com os quais lidam os profissionais de Saúde.

É consensual que os encarregados de educação, os professores e os profissionais de Saúde devem estar envolvidos no processo educativo para a sexualidade desde muito cedo na vida de cada indivíduo. A educação para a saúde, nomeadamente, a educação para a saúde sexual é um processo evolutivo que deverá iniciar-se na escola básica e acompanhar o indivíduo até à vida adulta. No entanto, entre a população deste estudo e à semelhança do que tem sido observado noutros estudos (Devonshire, *et al.*, 1999;

Greaves, *et al.*, 2009), verificou-se que estes jovens procuram pouco os pais, os professores ou os médicos para obter informação sobre a sexualidade, preferindo os amigos, os livros/revistas e a Internet, só depois procuram a mãe, estando a televisão em quinto lugar e só depois o médico, seguindo-se a este o(a) namorado(a) e finalmente o professor, seguido do pai em nono lugar. Por outro lado, o conhecimento dos pais sobre as questões da sexualidade e sobre as IST poderá não ser o mais exacto. Os indivíduos não podem saber o que ignoram ou não têm consciência, cabendo ao Estado identificar lacunas no conhecimento da população sobre temas que colocam em risco a sua saúde. Além das lacunas no conhecimento sobre esta temática entre encarregados de educação, é importante perceber se também os professores e profissionais de saúde se encontram preparados para transmitir esta informação de forma não só precisa, mas que verdadeiramente consciencialize os jovens.

Para que as políticas para a prevenção e controlo da infecção genital por *Chlamydia trachomatis* e outras IST, incluindo o vírus da imunodeficiência humana, tenham sucesso, é necessário saber quais as lacunas que existem na população onde se pretende actuar. Este estudo tentou produzir dados que auxiliem uma futura implementação de medidas preventivas e/ou de um programa de rastreio em Portugal, começando por averiguar o conhecimento sobre *C. trachomatis* em estudantes das áreas da Saúde que terão um papel relevante no controlo desta infecção.

Num estudo como este é sempre difícil medir o conhecimento, já que apenas um pequeno número de questões podem ser colocadas, sob pena de desistência do preenchimento do questionário por parte dos participantes e de este se tornar uma ferramenta intratável. No entanto, à semelhança de outros estudos, os estudantes que participaram no presente trabalho demonstram lacunas no seu conhecimento sobre *C. trachomatis* (como agente de infecção genital, sinais e sintomas) e sobre outras IST. É extremamente preocupante o número de estudantes que não reconhecem a via sexual,

seja ela vaginal, oral ou anal como via de transmissão de IST. Era esperado que entre esta população todos reconhecessem qualquer tipo de relação sexual como via de transmissão de IST, nomeadamente de infecção por *C. trachomatis*. Este facto, é só por si, indicador da urgência de uma campanha massiva e bem estruturada de informação da população, nomeadamente sobre as vias de transmissão das IST e do carácter assintomático que estas podem ter. Igualmente preocupante é o facto de apenas metade dos participantes reconhecer que a infertilidade pode ser uma sequela de IST, razão pela qual a infecção por *C. trachomatis* é considerada um problema de saúde pública por entidades como a *World Health Organization* (WHO, 2007), o *Center for Disease Control and Prevention* (CDC, 2009) e o *European Center for Disease Control and Prevention* (ECDC, 2009), sendo doença de declaração obrigatória em muitos países, como a Dinamarca, a Finlândia, a Irlanda, o Luxemburgo, a Suécia, a Estónia, a Hungria, a Lituânia, a Letónia, Malta, a Eslovénia, a Islândia, a Noruega, a Suíça, a Bélgica, a França, a Alemanha, a Grécia, a Itália, a Holanda, o Reino Unido, a Bulgária a República Checa, a Turquia (ECDC, 2008) e os Estados Unidos da América (Black, 1997). O seu tratamento é gratuito na Croácia, Eslovénia e República Checa, assim como na Lituânia, para pessoas com menos de 25 anos de idade (Domeika, *et al.*, 2002). As observações anteriores, associadas à baixa frequência e inconsistente utilização do preservativo para os diferentes tipos de relação sexual registada entre a população em estudo, sugerem uma percepção inadequada do risco pessoal face à infecção por *C. trachomatis* e suas consequências, assim como por outras IST. Apesar de não ter sido identificado nenhum caso de infecção activa, este risco é colocado em evidência pelas percentagens mais elevadas de participantes com títulos reactivos de anticorpos anti-*C. trachomatis* entre os que referem nunca usar preservativo ou referem uma utilização inconsistente.

As imprecisões de conhecimento registadas, não só colocam estes jovens em risco, como também os doentes que receberem os cuidados destes futuros profissionais de Saúde, caso esse conhecimento se mantenha inalterado. Há também a considerar que estes estudantes têm um papel importante como fonte de informação sobre saúde sexual da sua rede social, sendo senso comum e também defendido por alguns autores, que os estudantes destas áreas possuem um conhecimento sobre estas matérias mais elevado do que as restantes populações jovens, universitárias ou não universitárias. Este raciocínio conduz a duas hipóteses distintas: por um lado a ocorrência de dispersão de informação imprecisa entre a rede social destes jovens e, por outro, a possibilidade do conhecimento da população em geral ser ainda mais baixo do que o registado neste estudo.

Embora a população em estudo procure pouco os pais como fonte sobre informação sexual, a seguir aos médicos (ginecologista, de família ou particular), são a mãe e o namorado(a) que referem como pessoas a quem recorreriam caso pensassem estar infectados com uma IST, sendo depois o pai procurado mais pelos participantes do sexo masculino, assim como os amigos. Por isso, em situação de doença, supõe-se que entre esta população a ajuda poderá envolver diferentes pessoas da rede social destes jovens sociais: os pais, os médicos, o parceiro e os amigos, pelo que uma campanha de informação à população deverá ser direccionada não apenas aos jovens, mas também à geração anterior, de forma a que os pais consigam ajudar de forma eficaz e de modo a ser promovido o diálogo entre gerações sobre esta questão.

Tendo em conta o aparente entusiasmo pela Internet e a televisão entre esta população, uma campanha de informação poderá utilizar recursos inovadores para veicular essa informação de forma proactiva. Por exemplo, através da utilização das comunidades virtuais como é o caso do *Facebook* (onde podem ser solicitados pedidos de amizade direccionados para a faixa etária em risco em Portugal), através de uma página oficial de informação sobre saúde sexual onde sejam abordados com grande ênfase temas

como o carácter assintomático das IST, como é o caso da infecção por *C. trachomatis* e as consequências desta quando não tratada, veiculando ainda informação sobre os locais onde os jovens podem ter acesso a mais informação e onde poderão efectuar rastreio de IST. No entanto, para que isso se torne real e eficaz é necessário que os cuidados primários de saúde estejam preparados, que os profissionais de Saúde em geral e as especialidades médicas mais relacionados com esta problemática consigam encaminhar e aconselhar os seus utentes sobre esta infecção e que os meios auxiliares de diagnóstico estejam preparados para dar resposta, sendo extremamente importante a existência de um diagnóstico laboratorial correcto das IST.

A televisão poderá ser usada para chegar a outros segmentos da população, não só através das habituais campanhas de publicidade institucional, mas também recorrendo a séries e novelas onde podem ser criados argumentos ficcionais sobre a infecção por *C. trachomatis* e outras IST.

O baixo conhecimento registado entre esta população relativamente a esta temática, pode também ser indicador da necessidade de revisão dos programas curriculares das licenciaturas sobre saúde sexual e reprodutiva por parte das autoridades competentes, de forma a que o conhecimento destes profissionais se torne mais profundo, pois estes são seguramente a pedra basilar para travar a infecção por *C. trachomatis* e outras IST. Poderá ser igualmente importante a criação e o apoio a formações complementares ou avançadas que leccionem especificamente sobre esta matéria. Este tipo de formações serão importantes, não só para profissionais de Saúde, mas também para os intervenientes na aplicação da Lei 60/2009, de 6 de Agosto, os professores do ensino básico e secundário e psicólogos, por exemplo.

A preocupação sobre o problema de saúde pública que representa a infecção por *C. trachomatis* tem sido crescente, tendo o ECDC em menos de um ano publicado dois documentos especificamente sobre o tema, orientando os países da Comunidade

Europeia a tomar medidas para a detecção e controlo desta infecção. Sendo assim, a curto prazo em Portugal, é previsível que as autoridades de Saúde considerem a implementar de medidas ao nível da prevenção primária que incluem a educação e promoção da Saúde Sexual entre a população em geral e entre os profissionais da área (Domeika, *et al.*, 2002; ECDC, 2009), que devem passar por campanhas de consciencialização da população e acções de formação para profissionais, assim como a promoção da utilização do uso do preservativo. Em simultâneo, é necessário que os meios complementares de diagnóstico estejam dotados de testes capazes de efectuar um diagnóstico fiável e em tempo útil, de forma que seja possível realizá-lo por rotina, sendo necessária a organização de um sistema eficaz para vigilância epidemiológica e notificação do(s) parceiro(s).

No mínimo, a implementação de um teste oportunista em indivíduos na faixa etária de risco ou com comportamentos de riscos para IST seria desejável num futuro próximo. Para auxiliar no cálculo do custo-eficiência da introdução de um programa de rastreio, à semelhança do que se passa no Reino Unido e Holanda e a forma como poderá ser introduzido em Portugal, serão necessários mais estudos para se conhecer qual a prevalência da infecção por *C. trachomatis* na população portuguesa, os quais deverão ter como alvo populações distintas, com e sem comportamentos de risco, assim como de monitorização de resultados ao longo dos anos. Estes estudos permitirão estudar as atitudes, as práticas e o conhecimento das populações estudadas relacionado com as IST e conhecer os serovares de *C. trachomatis* circulantes entre a população portuguesa, o que é uma mais valia para o desenvolvimento de uma futura vacina.

7. BIBLIOGRAFIA

1. AGUIAR, P., 2007. *Guia Prático Climepsi de Estatística em Investigação Epidemiológica: SPSS (1ª Ed.)*, Climepsi, Lisboa. 237 pp.
2. AKANDE, V. A., HUNT, L. P., CAHILL, D. J., CAUL, E. O., FORD, W. C. & JENKINS, J. M., 2003. Tubal damage in infertile women: prediction using *Chlamydia* serology. *Human Reproduction*, **18**(9): 1841-1847.
3. BAEHR, W., ZHANG, Y. X., JOSEPH, T., SU, H., NANO, F. E., EVERETT, K. D. & CALDWELL, H. D., 1988. Mapping antigenic domains expressed by *Chlamydia trachomatis* major outer membrane protein genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of United States of America*, **85**(11): 4000-4004.
4. BAKER, M., ORTEGA-BENITO, J., GARRET, N., BROMHEAD, C., LESLIE, K., MACDONALD, J. & MCNICHOLAS, A., 2005. Prevalence and risk factors for *Chlamydia trachomatis* infection in female New Zealand university students. *The New Zealand Medical Journal*, **118**(1220): U1607.
5. BANDEA, C. I., DEBATTISTA, J., JOSEPH, K., IGIETSEME, J., TIMMS, P. & BLACK, C. M., 2008. *Chlamydia trachomatis* serovars among strains isolated from members of rural indigenous communities and urban populations in Australia. *Journal of Clinical Microbiology*, **46**(1): 355-356.
6. BANDEA, C. I., KOUMANS, E. H., SAWYER, M. K., DOVER, J., O'CONNOR, A., PAPP, J. R., UNGER, E. R., BRAXTON, J. & BLACK, C. M., 2009. Evaluation of the rapid BioStar optical immunoassay for detection of *Chlamydia trachomatis* in adolescent women. *Journal of Clinical Microbiology*, **47**(1): 215-216.
7. BÉBÉAR, C. & DE BARBEYRAC, B., 2009. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. *European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, **15**(1): 4-10.
8. BERRY, J., CROWLEY, T., HORNER, P., CLIFFORD, J., PAUL, I. D. & CAUL, E. O., 1995. Screening for asymptomatic *Chlamydia trachomatis* infection in male students by examination of first catch urine. *Genitourinary Medicine*, **71**(5): 329-331.

9. BIRKELUND, S. & STEPHENS, R. S., 1992. Construction of physical and genetic maps of *Chlamydia trachomatis* serovar L2 by pulsed-field gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, **174**(9): 2742-2747.
10. BLACK, C. M., 1997. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clinical Microbiology Reviews*, **10**(1): 160-184.
11. BRITO DE SÁ, A., GOMES, J. P., VIEGAS, S., FERREIRA, M. A., PAULINO, A. & CATRY MDOS, A., 2002. Genital infection by *Chlamydia trachomatis* in Lisbon: prevalence and risk markers. *Family Practice*, **19**(4): 362-364.
12. BRUNHAM, R. C. & REY-LADINO, J., 2005. Immunology of *Chlamydia* infection: implications for a *Chlamydia trachomatis* vaccine. *Nature Reviews | Immunology*, **5**(2): 149-161.
13. BUDAI, I., 2007. *Chlamydia trachomatis*: milestones in clinical and microbiological diagnostics in the last hundred years: a review. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, **54**(1): 5-22.
14. CARDER, C., MERCEY, D. & BENN, P., 2006. *Chlamydia trachomatis*. *Sexual Transmitted Infections*, **82 Suppl 4**: iv10-12.
15. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 1998. HIV prevention through early detection and treatment of other sexually transmitted diseases--United States. Recommendations of the Advisory Committee for HIV and STD prevention. *Morbidity and Mortality Weekly Report - Recommendations and Reports*, **47**(RR-12): 1-24. Disponível em URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00054174.htm>
16. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2002. Screening tests to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections - 2002. *Morbidity and Mortality Weekly Report - Recommendations and Reports*, **51**(RR-15): 1-38; quiz CE31-34. Disponível em URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/rr/rr5115.pdf>
17. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2006. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006. *Morbidity and Mortality Weekly Report - Recommendations and Reports*, **55**(RR-11): 1-94. Disponível em URL: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/rr5511a1.htm>

18. CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2009. *Chlamydia* screening among sexually active young female enrollees of health plans -United States, 2000-2007. *Morbidity and Mortality Weekly Report - Recommendations and Reports*, **58**(14): 362-365. Disponível em URL: http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5814a2.htm?s_cid=mm5814a2_e
19. CEVENINI, R., DONATI, M. & SAMBRI, V., 2002. *Chlamydia trachomatis* - the agent. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, **16**(6): 761-773.
20. CLYDE JR, W., KENNY, G. & SCHACHTER, J., 1984. *Cumitech 19 - Laboratorial Diagnosis of Chlamydial and Mycoplasmal Infection*, American Society for Microbiology, Washington. 19 pp.
211. COSTA, J. 2009. Infecções Sexualmente Transmissíveis em adolescentes: prevalência e associação com factores sócio-demográficos - Tese apresentada para a obtenção do grau de Doutor em Ciências Biomédicas, especialidade em Biologia Molecular em Medicina Tropical e Internacional. Pp. 177. *Unidade de Doenças Sexualmente Transmissíveis - Instituto de Higiene e Medicina Tropical*. Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.
22. DARVILLE, T., 2005. *Chlamydia trachomatis* infections in neonates and young children. *Seminars in pediatric infectious diseases*, **16**(4): 235-244.
23. DEN HARTOG, J. E., LAND, J. A., STASSEN, F. R., KESSELS, A. G. & BRUGGEMAN, C. A., 2005. Serological markers of persistent *C. trachomatis* infections in women with tubal factor subfertility. *Human Reproduction*, **20**(4): 986-990.
24. DEN HARTOG, J. E., LAND, J. A., STASSEN, F. R., SLOBBE-VAN DRUNEN, M. E., KESSELS, A. G. & BRUGGEMAN, C. A., 2004. The role of *Chlamydia* genus-specific and species-specific IgG antibody testing in predicting tubal disease in subfertile women. *Human Reproduction*, **19**(6): 1380-1384.
25. DEVONSHIRE, P., HILLMAN, R., CAPEWELL, S. & CLARK, B. J., 1999. Knowledge of *Chlamydia trachomatis* genital infection and its consequences in people attending a genitourinary medicine clinic. *Sexually Transmitted Infections*, **75**(6): 409-411.
26. DOMEIKA, M., HALLEN, A., KARABANOV, L., CHUDOMIROVA, K., GRUBER, F., UNZEITIG, V., PODER, A., DEAK, J., JAKOBSONE, I.,

- LAPINSKAITE, G., DAJEK, Z., AKOVBIAN, V., GOMBERG, M., KHRYANIN, A., SAVITCHEVA, A., TAKAC, I., GLAZKOVA, L., VINOGRAD, N. & NEDELJKOVIC, M., 2002. *Chlamydia trachomatis* infections in eastern Europe: legal aspects, epidemiology, diagnosis, and treatment. *Sexually Transmitted Infections*, **78**(2): 115-119.
27. DUNLOP, E. M., DAROUGAR, S. & TREHARNE, J. D., 1980. Epidemiology of infection by serotypes D to K of *Chlamydia trachomatis*. *The British Journal of Venereal Diseases*, **56**(3): 163-168.
28. EUROPEAN CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2007. *Annual Epidemiological Report on Communicable Diseases in Europe*, Euro Surveillance, Stockholm. Disponível em URL: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0812_SUR_Annual_Epidemiological_Report_2008.pdf
29. EUROPEAN CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2008. *Technical Report – Review of Chlamydia Control Activities in EU Countries*, Euro Surveillance, Stockholm. Disponível em URL: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0805_TER_Review_of_Chlamydia_Control_Activities.pdf
30. EUROPEAN CENTER FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. 2009. *Chlamydia control in Europe*, Euro Surveillance, Stockholm. Disponível em URL: http://ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/0906_GUI_Chlamydia_Control_in_Europe.pdf
31. ESSER, K., MARX, W. & LISOWSKY, T., 2006. MaxXbond: first regeneration system for DNA binding silica matrices. *Nature Methods*, **3**.
32. ESTADO PORTUGUÊS., Lei nº60/2009, de 6 de Agosto - Estabelece o regime de aplicação da educação sexual em meio escolar. *Diário da República, 1ª série - N°151-6 de Agosto de 2009*.
33. EVERETT, K. D., BUSH, R. M. & ANDERSEN, A. A., 1999. Emended description of the order *Chlamydiales*, proposal of *Parachlamydiaceae* fam. nov. and *Simkaniaceae* fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family *Chlamydiaceae*, including a new genus and five new species, and standards for the

- identification of organisms. *International Journal of Systematic Bacteriology*, **49 Pt 2**: 415-440.
34. FARENCENA, A., COMANDUCCI, M., DONATI, M., RATTI, G. & CEVENINI, R., 1997. Characterization of a new isolate of *Chlamydia trachomatis* which lacks the common plasmid and has properties of biovar trachoma. *Infection and Immunity*, **65**(7): 2965-2969.
35. FAYERS, T., CROWLEY, T., JENKINS, J. M. & CAHILL, D. J., 2003. Medical student awareness of sexual health is poor. *International Journal of STD & AIDS*, **14**(6): 386-389.
36. GIJSEN, A. P., LAND, J. A., GOOSSENS, V. J., LEFFERS, P., BRUGGEMAN, C. A. & EVERS, J. L., 2001. *Chlamydia pneumoniae* and screening for tubal factor subfertility. *Human Reproduction*, **16**(3): 487-491.
37. GONÇALVES, L., 2008. *Curso de Análise de Dados Biomédicos com o Apoio do Programa SPSS - Alguns Tópicos de Bioestatística (12ª Ed)*, Instituto de Higiene e Medicina Tropical - Unidade de Epidemiologia e Bioestatística, Lisboa. 111 pp.
38. GREAVES, A., LONSDALE, S., WHINNEY, S., HOOD, E., MOSSOP, H. & OLOWOKURE, B., 2009. University undergraduates' knowledge of *Chlamydia* screening services and chlamydia infection following the introduction of a National *Chlamydia* Screening Programme. *The European Journal of Contraception & Reproductive Health Care*, **14**(1): 61-68.
39. HADGU, A. & STERNBERG, M., 2009. Reproducibility and specificity concerns associated with nucleic acid amplification tests for detecting *Chlamydia trachomatis*. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, **28**(1): 9-15.
40. HAY, S., HAY, P. & OAKESHOTT, P., 2004. Feasibility of recruiting in a student bar for a trial of *Chlamydia* screening in young women. *Family Practice*, **21**(2): 223-224.
41. HERRMANN, B., 2008. Update on the new variant of *Chlamydia trachomatis*: prevalence and diagnostics. *Euro Surveillance*, **13**(26).
42. HICKS, D., 2008. *Complications of Chlamydia trachomatis infection in men*. Pp. 99-109 In. *International Handbook of Chlamydia - Moss, T. (3ª Ed)*. Euromed Communication, Haslemere, UK.

43. IMUDIA, A. N., DETTI, L., PUSCHECK, E. E., YELIAN, F. D. & DIAMOND, M. P., 2008. The prevalence of *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* infections, and the rubella status of patients undergoing an initial infertility evaluation. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, **25**(1): 43-46.
44. JOHNSON, L. F. & LEWIS, D. A., 2008. The effect of genital tract infections on HIV-1 shedding in the genital tract: a systematic review and meta-analysis. *Sexually Transmitted Diseases*, **35**(11): 946-959.
45. JONES, C. S., MAPLE, P. A., ANDREWS, N. J., PAUL, I. D. & CAUL, E. O., 2003. Measurement of IgG antibodies to *Chlamydia trachomatis* by commercial enzyme immunoassays and immunofluorescence in sera from pregnant women and patients with infertility, pelvic inflammatory disease, ectopic pregnancy, and laboratory diagnosed *Chlamydia psittaci/Chlamydia pneumoniae* infection. *Journal of Clinical Pathology*, **56**(3): 225-229.
46. KNOX, J., TABRIZI, S. N., MILLER, P., PETOUMENOS, K., LAW, M., CHEN, S. & GARLAND, S. M., 2002. Evaluation of self-collected samples in contrast to practitioner-collected samples for detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis* by polymerase chain reaction among women living in remote areas. *Sexually Transmitted Diseases*, **29**(11): 647-654.
47. KONEMAN, E., ALLEN, S., JANDA, W., SCHRECKENBERGER, P. & WINN JR., W., 1997. *Diagnosis of infections caused by virus, Chlamydia, Rickettsia, and related organisms*. Pp. 1260-1265 In. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology (5^a Ed.)*. Lippincott-Raven, Philadelphia.
48. KUHANENDRAN, D. & OAKESHOTT, P., 1999. Preclinical medical students' knowledge of *Chlamydia* infection. *The British Journal of General Practice*, **49**(444): 578-579.
49. KWIATKOWSKA, B. & FILIPOWICZ-SOSNOWSKA, A., 2009. Reactive arthritis. *Polskie Archiwum Medycyny WewnEtrznej*, **119**(1-2): 60-65.
50. LAYTE, R., MCGEE, H., QUAIL, A., RUNDELE, K., COUSINS, G., DONNELLY, C., MULCAHY, F. & CONROY, R., 2006. The Irish Survey of Sexual Health and Relationships. *Crisis Pregnancy Agency and Department Health &*

Children, Dublin. Disponível em URL:
<http://www.crisispregnancy.ie/pub/ISSHR%20Main%20Report.pdf>

51. LEVINE, W. C., POPE, V., BHOOMKAR, A., TAMBE, P., LEWIS, J. S., ZAIDI, A. A., FARSHY, C. E., MITCHELL, S. & TALKINGTON, D. F., 1998. Increase in endocervical CD4 lymphocytes among women with nonulcerative sexually transmitted diseases. *The Journal of Infectious Diseases*, **177**(1): 167-174.

52. LOW, N., 2004. Current status of *Chlamydia* screening in Europe. *Euro Surveillance*, **8**(41): 2566.

53. LYSS, S. B., KAMB, M. L., PETERMAN, T. A., MORAN, J. S., NEWMAN, D. R., BOLAN, G., DOUGLAS, J. M., JR., IATESTA, M., MALOTTE, C. K., ZENILMAN, J. M., EHRET, J., GAYDOS, C. & NEWHALL, W. J., 2003. *Chlamydia trachomatis* among patients infected with and treated for *Neisseria gonorrhoeae* in sexually transmitted disease clinics in the United States. *Annals of Internal Medicine*, **139**(3): 178-185.

54. MAGALHÃES SANTA' ANA, A., 2000. *Chlamydia*. Pp. 203-343 In. *Microbiologia Volume 2 - Canas Ferreira, W. & Sousa, J.* Lidel, Porto.

55. MAHONY, J., CHONG, S., JANG, D., LUINSTRA, K., FAUGHT, M., DALBY, D., SELLORS, J. & CHERNESKY, M., 1998. Urine specimens from pregnant and nonpregnant women inhibitory to amplification of *Chlamydia trachomatis* nucleic acid by PCR, ligase chain reaction, and transcription-mediated amplification: identification of urinary substances associated with inhibition and removal of inhibitory activity. *Journal of Clinical Microbiology*, **36**(11): 3122-3126.

56. MATOS, M., GONÇALVES, A., REIS, C., SIMÕES, C., SANTOS, D., DINIZ, J., LEBRE, P., DIAS, S., CARVALHOSA, S. & GASPAR, T., 2003. *Comportamentos Sexuais*. Pp. 245-264 In. *A Saúde dos Adolescentes Portugueses (quatro anos depois)*. Faculdade de Motricidade Humana, Lisboa.

57. MILLMAN, K., BLACK, C. M., JOHNSON, R. E., STAMM, W. E., JONES, R. B., HOOK, E. W., MARTIN, D. H., BOLAN, G., TAVARE, S. & DEAN, D., 2004. Population-based genetic and evolutionary analysis of *Chlamydia trachomatis* urogenital strain variation in the United States. *Journal Bacteriology*, **186**(8): 2457-2465.

58. MINITÉRIO DA SAÚDE. 2004. *Estratégias para obter mais saúde para todos - Abordagem à gestão integrada da doença*. Pp. 38-49 In. *Plano Nacional de Saúde 2004-2010: mais saúde para todos - Vol. II - Orientações estratégicas*. Direcção-Geral de Saúde, Lisboa. Disponível em URL: http://www.dgsaude.min-saude.pt/pns/media/pns_vol2.pdf
59. MOSS, T. & DAROUGAR, S., 2008. *Human genital infections with Chlamydia trachomatis - is there a role for serology?* Pp. 55-73 In. *International Handbook of Chlamydia - Moss, T. (3ª Ed)*. Haslmore, UK.
60. MOULDER, J., 1991. Interaction of chlamydiae and host cells in vitro. *Microbiology Reviews*, **55**(1): 143-190.
61. MOULDER, J., 1993. Why is *Chlamydia* sensitive to penicillin in the absence of peptidoglycan? *Infectious Agents and Disease*, **2**(2): 87-99.
62. MUÑOZ-SILVA, A., SANCHEZ-GARCIA, M., MARTINS, A. & CRISTINA, N., 2009. Gender differences in HIV-related sexual behavior among college students from Spain and Portugal. *The Spanish Journal of Psychology*, **12**(2): 485-495.
63. NAÇÕES UNIDAS. 2008. Millennium Development Goals Indicators. Disponível em URL: <http://mdgs.un.org/unsd/mdg/Host.aspx?Content=Indicators/OfficialList.htm>
64. NAHER, H. & PETZOLDT, D., 1991. Serovar distribution of urogenital *C. trachomatis* isolates in Germany. *Genitourin Medicine*, **67**(2): 114-116.
65. NATIONAL HEALTH SERVICE. 2009. The Bigger Picture - The National Chlamydia Screening Programme 2008/09 Annual Report. *National Chlamydia Screening Programme - Health Protection Agency Centre for Infections*, London. Disponível em URL: http://www.chlamydia-screening.nhs.uk/ps/assets/pdfs/publications/reports/NCSPa-rprt-08_09.pdf
66. NUNES, A., NOGUEIRA, P. J., BORREGO, M. J. & GOMES, J. P., 2008. *Chlamydia trachomatis* diversity viewed as a tissue-specific coevolutionary arms race. *Genome Biology*, **9**(10): R153.
67. O'CONNELL, E., BRENNAN, W., CORMICAN, M., GLACKEN, M., O'DONOVAN, D., VELLINGA, A., CAHILL, N., LYSAGHT, F. & O'DONNELL, J., 2009. *Chlamydia trachomatis* infection and sexual behaviour among female students

- attending higher education in the Republic of Ireland. *BioMed Central Public Health*, **9**: 397.
68. PAAVONEN, J. & EGGERT-KRUSE, W., 1999. *Chlamydia trachomatis*: impact on human reproduction. *Human Reproduction update*, **5**(5): 433-447.
69. PEELING, R. W., HOLMES, K. K., MABEY, D. & RONALD, A., 2006. Rapid tests for sexually transmitted infections (STIs): the way forward. *Sexually Transmitted Infections*, **82 Suppl 5**: v1-6.
70. PICKETT, M. A., EVERSON, J. S., PEAD, P. J. & CLARKE, I. N., 2005. The plasmids of *Chlamydia trachomatis* and *Chlamydophila pneumoniae* (N16): accurate determination of copy number and the paradoxical effect of plasmid-curing agents. *Microbiology*, **151**(Pt 3): 893-903.
71. RIPA, K. T., 1982. Microbiology Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infection. *Infection*, **10** Suppl 1: S19-24.
72. RIPA, T. & NILSSON, P., 2006. A variant of *Chlamydia trachomatis* with deletion in cryptic plasmid: implications for use of PCR diagnostic tests. *Euro Surveillance*, **11**(11): E061109 061102.
73. ROAN, N. R. & STARNBACH, M. N., 2008. Immune-mediated control of *Chlamydia* infection. *Cellular Microbiology*, **10**(1): 9-19.
74. ROGSTAD, K., 2008. *Complication in female and their mangement*. Pp. 111-121 In. *International Handbook of Chlamydia - Moss, T. (3^a Ed)*. Euromed Communication, Haslemere, UK.
75. ROGSTAD, K. E., BATES, S. M., PARTRIDGE, S., KUDESIA, G., POLL, R., OSBORNE, M. A. & DIXON, S., 2001. The prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in male undergraduates: a postal survey. *Sexually Transmitted Infections*, **77**(2): 111-113.
76. SCHACHTER, J. & STAMM, W., 1999. *Chlamydia*. Pp. 795-806 In. *Manual of Clinical Microbiology - Murray, P., Baron, E., Pfaller, M., Tenover, F. & Tenover, R. (7^a Ed)*. American Society for Microbiology, Washington.
77. SCHACHTER, J. & STEPHENS, R. S., 2008. *Biology of Chlamydia trachomatis*. Pp. 555-574 In. *Sexually Transmitted Diseases - Holmes, K., Sparling, P., Stamm, W., Piot, P., Wasserheit, J. N., Corey, L., Cohen, L. & Watts, D. (4^a Ed)*. Mc Graw Hill, Estados Unidos da America.

78. SHAFER, M. A., MONCADA, J., BOYER, C. B., BETSINGER, K., FLINN, S. D. & SCHACHTER, J., 2003. Comparing first-void urine specimens, self-collected vaginal swabs, and endocervical specimens to detect *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* by a nucleic acid amplification test. *Journal of Clinical Microbiology*, **41**(9): 4395-4399.
79. SINGH, V., SALHAN, S., DAS, B. C. & MITTAL, A., 2003. Predominance of *Chlamydia trachomatis* serovars associated with urogenital infections in females in New Delhi, India. *Journal of Clinical Microbiology*, **41**(6): 2700-2702.
80. SODERBLOM, T., BLAXHULT, A., FREDLUND, H. & HERRMANN, B., 2006. Impact of a genetic variant of *Chlamydia trachomatis* on national detection rates in Sweden. *Euro Surveillance*, **11**(12): E061207 061201.
81. SOUSA, J., PEIXE, L., FERREIRA, H., PINTO, M., NASCIMENTO, M., SOUSA, M. & CABRAL, M., 1998. *Antimicrobianos*. Pp. 271-284 In. *Microbiologia Volume 1 - Canas Ferreira, W. & Sousa, J.* Lidel, Porto.
82. STOCK, C., GUILLEN-GRIMA, F., PRUFER-KRAMER, L., SERRANO-MONZO, I., MARIN-FERNANDEZ, B., AGUINAGA-ONTOSO, I. & KRAMER, A., 2001. Sexual behavior and the prevalence of *Chlamydia trachomatis* infection in asymptomatic students in Germany and Spain. *European Journal of Epidemiology*, **17**(4): 385-390.
83. STOCK, C., KRAMER, A., AGUINAGA-ONTOSO, I., GUILLEN-GRIMA, F. & SAINZ-SUBERVIOLA, L., 2003. No incident cases of *Chlamydia trachomatis* infection in Spanish students after two years of follow-up. *European Journal of Epidemiology*, **18**(6): 589.
84. TAKAHASHI, S., YAMAZAKI, T., SATOH, K., INOUE, M., ISHIHARA, O., OKA, Y., HORIGUCHI, Y., OKUWAKI, Y., SUZUKI, S. & KISHIMOTO, T., 2007. Longitudinal epidemiology of *Chlamydia trachomatis* serovars in female patients in Japan. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **60**(6): 374-376.
85. THOMSON, N. R., HOLDEN, M. T., CARDER, C., LENNARD, N., LOCKEY, S. J., MARSH, P., SKIPP, P., O'CONNOR, C. D., GOODHEAD, I., NORBERTZCAK, H., HARRIS, B., ORMOND, D., RANCE, R., QUAIL, M. A., PARKHILL, J., STEPHENS, R. S. & CLARKE, I. N., 2008. *Chlamydia trachomatis*: genome sequence analysis of lymphogranuloma venereum isolates. *Genome Research*, **18**(1): 161-171.

86. VAN DE LAAR, M. J. & MORRE, S. A., 2007. *Chlamydia*: a major challenge for public health. *Euro Surveillance*, **12**(10): E1-2.
87. VAN DE LAAR, M. J., VAN DUYNHOVEN, Y. T., FENNEMA, J. S., OSSEWAARDE, J. M., VAN DEN BRULE, A. J., VAN DOORNUM, G. J., COUTINHO, R. A. & VAN DEN HOEK, J. A., 1996. Differences in clinical manifestations of genital chlamydial infections related to serovars. *Genitourinary Medicine*, **72**(4): 261-265.
88. VAN DER POL, B., 2008. *Chlamydia diagnostic methods*. Pp. 39-54 In. *International Handbook of Chlamydia (3^a Ed)*. Euromed Communications, Haslemere, UK.
89. VERHOEVEN, V., IEVEN, M., MEHEUS, A., AVONTS, D. & GOOSSENS, H., 2003. First, do not harm: also an issue in NAA assay diagnostics for chlamydial infection. *Sexually Transmitted Infections*, **79**: 76-77.
90. WAALBOER, R., VAN DER SNOEK, E. M., VAN DER MEIJDEN, W. I., MULDER, P. G. & OSSEWAARDE, J. M., 2006. Analysis of rectal *Chlamydia trachomatis* serovar distribution including L2 (lymphogranuloma venereum) at the Erasmus MC STI clinic, Rotterdam. *Sexually Transmitted Infections*, **82**(3): 207-211.
91. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2001. *Global Prevalence and Incidence of Selected Curabel Sexually transmitted Infections Overview and Estimates*, World Health Organization, Geneva. Disponível em URL: http://www.who.int/hiv/pub/sti/en/who_hiv_aids_2001.02.pdf
92. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2007. *Global strategy for the prevention and control of sexually transmitted infections: 2006–2015*, World Health Organization, Geneva. Disponível em URL: http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/RHR_06_10/en/index.html
93. WORLD HEALTH ORGANIZATION. 2001. Sexually Transmitted Diseases Diagnostics Initiative. World Health Organization, Geneva. Disponível em URL: http://www.who.int/std_diagnostics/index.htm
94. YAMAZAKI, T., HAGIWARA, T., KISHIMOTO, T., SASAKI, N., TAKAHASHI, S., ISHIHARA, O., WANGROONGSARB, P., KUSUM, M. & SIRIVONGRANGSAN, P., 2005. Distribution of *Chlamydia trachomatis* serovars

among female prostitutes and non-prostitutes in Thailand, and non-prostitutes in Japan during the mid-90s. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, **58**(4): 211-213.

95. YIN, Y. P., PEELING, R. W., CHEN, X. S., GONG, K. L., ZHOU, H., GU, W. M., ZHENG, H. P., WANG, Z. S., YONG, G., CAO, W. L., SHI, M. Q., WEI, W. H., DAI, X. Q., GAO, X., CHEN, Q. & MABEY, D., 2006. Clinic-based evaluation of Clearview *Chlamydia* MF for detection of *Chlamydia trachomatis* in vaginal and cervical specimens from women at high risk in China. *Sexually Transmitted Infections*, **82 Suppl 5**: v33-37.

96. ZAKHER, B. & KANG, M., 2008. Attitudes to *Chlamydia* screening in general practice among Australian university students: a pilot study. *Sexual Health*, **5**(4): 359-363.

ANEXOS

Anexo A – Consentimento informado

Consentimento informado



INFORMAÇÃO:

O Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), da Universidade Nova de Lisboa, com a colaboração da Associação de Estudantes da Universidade (...) está a realizar um estudo sobre Infecções Sexualmente Transmissíveis que compreende os conhecimentos e comportamentos dos alunos face a este tipo de infecções e o rastreio de algumas delas.

Para participar é necessário que preencha um **questionário** sobre conhecimentos e comportamentos de Saúde Sexual e Reprodutiva e Infecções Sexualmente Transmissíveis. Ser-lhe-á, também, pedido que faça uma **análise de urina** para o rastreio de algumas infecções sexualmente transmissíveis, pelo que terá que colher cerca de 10 ml de urina para um frasco que lhe será facultado na altura. Este procedimento não tem quaisquer efeitos secundários ou perigos para a sua saúde.

Os **dados** a obter através da aplicação do questionário e da análise de urina são **confidenciais**. Apenas a equipa de investigação do Instituto de Higiene e Medicina Tropical terá forma do(a) identificar, de modo a **proceder ao seu encaminhamento** para poder ser **tratado(a)**, no caso da análise ser positiva. A análise de urina será gratuita.

Os **resultados** obtidos através deste estudo serão utilizados para **informação dos órgãos nacionais competentes, elaboração de trabalhos científicos e publicação em revistas científicas**. Em qualquer destes procedimentos, **ninguém saberá em que local o estudo foi efectuado, nem será capaz de identificar as pessoas** que nele participaram.

Será possível, aos participantes, conhecerem os resultados utilizando, para tal, os contactos da equipa de investigação anexos a esta carta.

A **participação neste estudo é livre**. Qualquer pessoa que nele participe **pode abandoná-lo em qualquer altura** contactando, para tal, os investigadores.

Assim, precisamos que nos **autorize a aplicar o questionário e a fazer a análise de urina** preenchendo com o seu nome o consentimento que se segue e **assinando-o**.

Contactos da Equipa de Investigação

Responsável	Prof. Doutora Filomena Martins Pereira
Responsáveis pelo trabalho de campo	Mestre Inês Fronteira / Dr.ª Emília Prieto; Prof. Doutora Rita Castro Dra. Zúeca Magalhães
Morada	Instituto de Higiene e Medicina Tropical Rua da Junqueira n.º 96 1349 – 008 Lisboa / Portugal
Telefone	21 3652800

CONSENTIMENTO

Reconheço que os procedimentos de investigação descritos em carta anexa me foram explicados e que responderam de forma satisfatória a todas as minhas questões. Fui informado(a) sobre todas as possibilidades quanto à participação neste estudo, incluindo a inexistência de risco e de desconforto.

Compreendo que tenho o direito de colocar, agora e durante o desenvolvimento do estudo, qualquer questão sobre o mesmo, a investigação ou os métodos utilizados. Asseguraram-me que os aspectos que me dizem respeito serão guardados de forma confidencial e que nenhuma informação será publicada ou comunicada, incluindo a minha identidade, sem a minha permissão.

Compreendo que sou livre, a qualquer momento, de me retirar deste estudo.

Pelo presente documento, (preencha com o seu nome completo e assine a sua modalidade de participação):

Eu, _____ (nome) consinto participar neste estudo de livre e espontânea vontade, através do **preenchimento do questionário e da realização de uma análise de urina.**

ASSINATURA: _____

Eu, _____ (nome) consinto participar neste estudo de livre e espontânea vontade, através do **preenchimento do questionário, da realização de uma análise de urina, e colheita de sangue.**

ASSINATURA: _____

Eu, _____ (nome) consinto participar neste estudo de livre e espontânea vontade, **apenas através do preenchimento do questionário.**

ASSINATURA: _____

Eu, _____ (nome) consinto participar neste estudo **apenas através da realização de uma análise de urina.**

ASSINATURA: _____

DATA: ____/____/____

Anexo B – Inquérito

N.º _____



**Conhecimentos e
comportamentos dos
Alunos face a algumas
Infeções Sexualmente
Transmissíveis**



O Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT) da Universidade Nova de Lisboa, em conjunto com a Associação de Estudantes da Universidade (...) está a realizar um estudo sobre os conhecimentos e comportamentos dos alunos face a algumas Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs).

A sua participação é muito importante para descrever e compreender os **comportamentos e conhecimentos sobre as Infecções Sexualmente Transmissíveis** da comunidade em que se insere.

Para participar é necessário que preencha este **questionário**, o que demorará cerca de **15 minutos**. A sua participação é muito importante.

É livre de escolher **se quer ou não participar**. Pode igualmente, em qualquer momento, **abandonar este estudo** contactando para tal a equipa de investigação.

Não existem respostas certas ou erradas e ninguém vai saber a forma com respondeu. No final, quando os resultados forem conhecidos, **ninguém vai saber que respondeu a este questionário**.

Os **resultados** deste estudo ficam disponíveis em tempo oportuno no site do IHMT e serão utilizados para a **elaboração de teses de mestrado** e para **publicação em revistas científicas**. Poderá também conhecê-los contactando a equipa de investigação.

Obrigado pela sua atenção!

A equipa de investigação.

ASSINALE COM UM A SUA OPÇÃO:

- Quero** responder a este questionário. **AVANCE PARA A SECÇÃO 1.**
- Não quero** responder a este questionário.

SECÇÃO 1

(Não se esqueça de assinar o consentimento informado)

Nesta secção as questões incidem sobre algumas características sociodemográficas e familiares.

1.1. Sexo

- Masculino
 Feminino

1.2. Qual a sua data de nascimento? ___/___/___ (dia / mês/ ano)**1.3. Qual a sua nacionalidade?**

- Portuguesa
 Portuguesa e outra. Qual? _____
 Outra dupla nacionalidade. Qual? _____
 Outra nacionalidade. Qual? _____
 Não sei
 Não responde

1.4. Qual o seu estado civil?

- Solteiro(a)
 Casado(a) / Unido(a) de facto
 Viúvo(a)
 Separado(a) ou divorciado(a)
 Não sei
 Não responde

1.5. Qual o ano que frequenta? Indique o curso _____

- Frequento agora o 1.º ano
 Frequento agora o 2.º ano
 Frequento agora o 3.º ano
 Frequento agora o 4.º ano
 Não responde.

1.6. Tem algumas cadeiras em atraso?

- Sim.
 Não. AVANCE PARA 1.7
 Não responde. AVANCE PARA 1.7

1.6.1. Indique o ano ou anos das cadeiras que tem em atraso (assinale todos os que se aplicarem)

- 1º ano
 2º ano
 3º ano
 4º ano
 Não responde.

1.7. Já alguma vez teve um trabalho remunerado (receber dinheiro para realizar um trabalho)?

- Sim
 Não. AVANCE PARA A PERGUNTA 1.10.
 Não responde. AVANCE PARA A PERGUNTA 1.10.

1.8. Que idade tinha quando teve o primeiro trabalho remunerado? ___ Anos

- Não me lembro

1.9. Actualmente tem algum trabalho remunerado?

- Sim
 Não
 Não responde.

1.10. Com quem vive? (assinale todas as opções que se aplicarem):

- Mãe. Idade ____ anos
 Pai. Idade ____ anos
 Padrasto. Idade ____ anos
 Madrasta. Idade ____ anos
 Irmão. Idade ____ anos.
 Irmã. Idade ____ anos
 Filhos do padrasto. Idade ____ anos
 Filhos da madrasta. Idade ____ anos
 Avó. Idade ____ anos
 Avó. Idade ____ anos
 Outro familiar. Qual? _____. Idade ____ anos
 Sozinho.
 Não responde.

1.11. Qual a sua religião?

- Não tenho. **AVANCE PARA A SECÇÃO 2.**
 Católica
 Protestante
 Muçulmana
 Hindu
 Judaica
 Outra. Qual? _____
 Não responde. **AVANCE PARA A SECÇÃO 2.**

1.12. No último mês, quantas vezes foi a uma cerimónia religiosa? ____ vezes

SECÇÃO 2

(Não se esqueça de assinar o consentimento informado)

Nesta secção as questões incidem sobre alguns conhecimentos e comportamentos da sua sexualidade (vontade de comunicar e de obter contacto, prazer ou amor de outra pessoa que, às vezes, tem como finalidade a reprodução).

2.1. Qual é a sua principal fonte de informação sobre sexualidade?

- Pai
 Mãe
 Padrasto
 Madrasta
 Irmão
 Irmã
 Outro familiar. Qual? _____
 Namorado/namorada
 Amigos
 Professor
 Médico
 Enfermeiro
 Outro profissional de saúde. Qual? _____
 Padre/ Grupo religioso
 Livros e revistas
 Filmes e vídeos
 Televisão
 Rádio
 Internet
 Outra. Qual? _____

2.2. Considera que há **informação suficiente** que permita aos **jovens lidar de forma responsável e satisfatória com a sua sexualidade** (vontade de comunicar e de obter contacto, prazer ou amor de outra pessoa que, às vezes, tem como finalidade a reprodução)?

- Sim
- Não. **Porquê?** _____
- Não responde.

2.3. Considera **ter tido informação suficiente** que **lhe permita lidar de forma responsável e satisfatória com a sua sexualidade** (vontade de comunicar e de obter contacto, prazer ou amor de outra pessoa que, às vezes, tem como finalidade a reprodução)?

- Sim.
- Não. **Porquê** _____
- Se não** onde gostaria de obter essa informação _____
- Não responde.

2.4. Já **teve alguma relação sexual** (relação com parceiros do mesmo sexo ou de sexo diferente, que implique contacto entre pênis/vagina, boca/vagina, boca/pênis ou pênis/ânus)?

- Sim. Com que **idade** teve a sua **primeira relação sexual**? ____ Anos
- Não. **AVANCE PARA A SECÇÃO 3.**
- Não responde. **AVANCE PARA A SECÇÃO 3.**

2.5. Quantos **parceiros sexuais** teve nos **últimos 6 meses**? _____ Parceiros.

- Não responde.

2.6. Tem relações sexuais com **parceiros do mesmo sexo**?

- Sim. No **último mês**, **quantas relações sexuais** teve com **parceiros do mesmo sexo**? _____
Relações sexuais
- Não
- Não responde

2.7. Já teve uma **relação sexual vaginal** (contacto pênis/vagina)?

- Sim
- Não. **AVANCE PARA 2.9**
- Não responde. **AVANCE PARA 2.9**

2.8. Quando tem uma relação sexual vaginal (contacto pénis/vagina) utiliza preservativo?

- Nunca
- Raramente
- Às vezes
- Quase sempre
- Sempre
- Não responde

2.9. Já teve uma relação sexual oral (contacto boca/pénis ou boca/vagina)?

- Sim
- Não. **AVANCE PARA 2.11**
- Não responde. **AVANCE PARA 2.11**
- Não responde

2.10. Quando tem uma relação sexual oral (contacto boca/pénis ou boca/vagina) utiliza preservativo?

- Nunca
- Raramente
- Às vezes
- Quase sempre
- Sempre
- Não responde

2.11. Já teve uma relação sexual anal (contacto pénis/ânus)?

- Sim
- Não. **AVANCE PARA 2.13**
- Não responde. **AVANCE PARA 2.13.**

2.12. Quando tem uma relação sexual anal (contacto pénis/ânus) utiliza preservativo?

- Nunca
- Raramente
- Às vezes
- Raramente
- Sempre
- Não responde

2.13. Já teve relações sexuais sob influência do álcool?

- Sim
- Não
- Não responde

2.14. Já teve relações sexuais sob influência de drogas?

- Sim.
- Não. **AVANCE PARA A SECÇÃO 3**
- Não responde. **AVANCE PARA A SECÇÃO 3**

2.15. Costuma partilhar seringas?

- Sim
- Não
- Não responde

SECÇÃO 3

(Não se esqueça de assinar o consentimento informado)

Nesta secção as questões incidem sobre alguns conhecimentos e comportamentos acerca das Infecções Sexualmente Transmissíveis.

3.1. Indique quais dos seguintes problemas de saúde são Infecções Sexualmente Transmissíveis (assinale todas as opções que se aplicarem).

- Gonorréia
- Hepatite C
- Candidose
- Chatos
- Sífilis
- Tuberculose
- Clamídiase
- Tricomonose
- Hepatite B
- SIDA
- Sarna
- Doença do sono
- Herpes genital
- Infecção genital pelo Vírus do Papiloma Humano
- Vaginose bacteriana
- Não sabe
- Não responde

3.2. As Infecções Sexualmente Transmissíveis podem ser apanhadas através de (assinale todas as opções que se aplicarem):

- Carícias
- Beijos
- Abraços
- Relação sexual vaginal (contacto pénis/vagina)
- Relação sexual oral (contacto pénis/boca ou vagina/boca)
- Relação sexual anal (contacto pénis/ânus)
- Utilização de casas de banho públicas
- Partilha de pratos e talheres
- Partilha da escova de dentes
- Partilha de objectos cortantes (por exemplo, lâminas de barbear)
- Não sabe
- Não responde

3.3. As Infecções Sexualmente Transmissíveis podem dar origem a (assinale todas as opções que se aplicarem):

- Gravidez
- Esterilidade
- Enjoo/vômitos
- Dor de cabeça
- Dor de barriga
- Dor no fígado
- Dor durante as relações sexuais
- Saída de líquido do pénis
- Saída de líquido da vagina
- Comichão
- Feridas no pénis
- Feridas na vagina
- Verrugas no pénis
- Verrugas na vagina
- Pele amarela
- Ardor ao urinar
- Urinar às pinguihas
- Não sabe
- Não responde

3.4. Qual o método mais eficaz para não apanhar Infecções Sexualmente Transmissíveis?

(assinale todas as opções que se aplicarem)

- Coito interrompido
- Preservativo
- Dispositivo intra-uterino (DIU)
- Pílula
- Diafragma
- Método do Calendário
- Método das Temperaturas
- Espermicidas
- Outro. Qual? _____
- Não sabe
- Não responde

3.5. Assinale com um sim, não ou não sei em relação às seguintes afirmações:

	Sim	Não	Não sei
Algumas Infecções Sexualmente Transmissíveis podem ser evitadas através de vacinas.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Para além do HIV, existem outras Infecções Sexualmente Transmissíveis que podem provocar cancro.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Todas as Infecções Sexualmente Transmissíveis têm cura.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
As Infecções Sexualmente Transmissíveis podem ser apanhadas mais do que uma vez.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Conseguo saber se uma pessoa tem uma Infecção Sexualmente Transmissível pelo seu aspecto.	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

3.6. Indique com um qual a sua opinião em relação à seguinte afirmação: "Quando tenho uma relação sexual oral devo usar o preservativo."

- Discordo
- Não concordo nem discordo
- Concordo

3.7. Indique com um qual a sua opinião em relação à seguinte afirmação: "Quando tenho uma relação sexual anal devo usar o preservativo."

- Discordo
- Não concordo nem discordo
- Concordo

3.8. Indique com um qual a sua opinião em relação a seguinte afirmação: "Quando tenho uma relação sexual vaginal devo usar o preservativo."

- Discordo
- Não concordo nem discordo
- Concordo

3.9. Se pensar que tem uma Infecção Sexualmente Transmissível a quem pede ajuda? (assinale todas as opções que se aplicarem)

- Mãe
- Pai
- Padrasto
- Madrasta
- Irmão
- Irmã
- Outro familiar. Qual? _____
- Namorado/namorada
- Amigos
- Professor
- Farmacêutico/funcionário da Farmácia
- Médico família
- Médico particular
- Ginecologista/obstetra
- Enfermeiro
- Outro profissional de saúde. Qual? _____
- Padre /Grupo religioso
- Linha telefónica
- Outro. Qual? _____

3.10. Se pensar que tem uma Infecção Sexualmente Transmissível só procura tratamento se (assinale todas as opções que se aplicarem):

- Os pais não sabem
- Os amigos não sabem
- O parceiro ou a parceira não sabem
- Nenhuma das anteriores
- Não responde

3.11. Se pensar que tem uma Infecção Sexualmente Transmissível só vai a uma consulta se:

- Não pagar nada
- Pagar menos de 1 € pela consulta
- Pagar menos de 5 € pela consulta
- Pagar menos de 15 € pela consulta
- Nenhuma das anteriores
- Não responde

OBRIGADO PELA SUA COLABORAÇÃO

APÊNDICES

Apêndice A – Plano de operacionalização das variáveis

Descrição da Variável	Notação	Domínio	Tipo
Universidade	Universidade	1.U.Nova Lisboa	Qualita Nominal
		2.UATLA	
		3. U. Lisboa	
Curso	Curso	1.Medicina	Qualita Nominal
		2.Farmácia	
		3.ACSP	
		4.Enfermagem	
		5.Radiologia	
		6.Fisioterapia	
Identificação Lab	ID_Lab	Colocar nº	
Resultado PCR <i>Chlamydia trachomatis</i>	PCR_CT	0.Negativo	Binária
		1.Positivo	
Resultado PCR <i>N. gonorrhoeae</i>	PCR_NG	0.Negativo	Binária
		1.Positivo	
RFLP <i>N. gonorrhoeae</i>	RFLP_NG	0.Negativo	Binária
		1.Positivo	
Género	Género	1.Masculino	Qualita Nominal
		2.Feminino	
Idade	idade	Colocar DN	Quanti Contínua
Nacionalidade	nacionalidade	1.Portuguesa	Qualita Nominal
		2.Luso-alemã	
		3.Luso-angolana	
		4.Caboverdiana	
		5.Sao-tomense	
		6.Americana	
		7.Luso-espanhola	
		8.Luso-suiça	
		9.Luso-americana	
		10. Luso-caboverdiana	
		11.Luso-sulafricana	
		12.Moçambicana	
		13.Brasileira	
		14.Italiana	
Estado civil	et_civil	1.solteiro	Qualita Nominal
		2.cas/uni facto	
		3.viúvo	
		4.divorciado	
Que ano frequenta?	ano_freq	1.1º	Quanti Ordinal
		2.2º	
		3.3º	
		4.4º	
		5.5º	
		6.6º	
		7.pós graduação	

Descrição da Variável	Notação	Domínio	Tipo
Já teve algum trabalho remunerado?	Trab_renun	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Idade em que teve esse trabalho	Idade_Trab	Colocar idade	Contínua
Actualmente trabalha?	Actual_Trab	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Com quem vive?	vive_mae	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	vive_pai	1.Sim; 0.Nao	
	vive_padra	1.Sim; 0.Nao	
	vive_madra	1.Sim; 0.Nao	
	vive_irmao	1.Sim; 0.Nao	
	vive_irma	1.Sim; 0.Nao	
	vive_filho_padras	1.Sim; 0.Nao	
	vive_filho_madra	1.Sim; 0.Nao	
	vive_avo	1.Sim; 0.Nao	
	vive_avoh	1.Sim; 0.Nao	
	vive_outro	1.Sim; 0.Nao	
	vive_colegas	1.Sim; 0.Nao	
vive_so	1.Sim; 0.Nao		
Qual a sua religião?	Religio	1.Católica	Qualita Nominal
		2.Protestante	
		3.Muçulmana	
		4.Hindu	
		5.Judaica	
		6.outra	
		98. N tem	
Principal fonte de informação sobre sexualidade?	InfoSex_Pai	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	InfoSex_Mae	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Padras	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Madras	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Irmao	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Irma	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Out.Fami	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Namor	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Amigos	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Prof	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Medico	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_Enfer	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_OutProS au	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_PadreGr Rel	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_LivrosRe vis	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_FilmesVi deos	1.Sim; 0.Nao	
	InfoSex_TV	1.Sim; 0.Nao	
InfoSex_Radio	1.Sim; 0.Nao		
InfoSex_Internet	1.Sim; 0.Nao		
InfoSex_Outra	1.Sim; 0.Nao		
Já teve alguma relação sexual (RS)?	JaTeveRS	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Com que idade teve a primeira RS?	Idade1RS	Colocar idade	Contínua

Descrição da Variável	Notação	Domínio	Tipo
Qtos parceiros sex. teve nos últimos 6M?	Parceiros_6M	Colocar nº	Discreta
Já teve uma RS vaginal?	RS_vaginal	1.Sim; 0.Nao	Qualita Ordinal
Quando tem RS vaginal, utiliza preservativo?	Condom_vag	1. Nunca	Qualita Ordinal
		2.Rara	
		3.As vez	
		4.Quase sempre	
		5.Sempre	
Já teve uma RS oral?	RS_oral	1.Sim; 0.Nao	Qualita Ordinal
Quando tem RS oral, utiliza preservativo?	Condom_oral	1. Nunca	Qualita Ordinal
		2.Rara	
		3.As vez	
		4.Quase sempre	
		5.Sempre	
Já teve uma RS anal?	RS_anal	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Quando tem RS anal, usa preservativo?	Cond_anal	1. Nunca	Qualita Ordinal
		2.Rara	
		3.As vez	
		4.Quase sempre	
		5.Sempre	
Já teve RS sob a influência do álcool?	RS_alcool	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Já teve RS sob influencia de drogas?	RS_drug	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Costuma partilhar seringas?	Partilh_serg	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
Indique quais dos seguintes problemas de saúde são IST?	Gonorreia	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	Hepatite_C	1.Sim; 0.Nao	
	Candidose	1.Sim; 0.Nao	
	Chatos	1.Sim; 0.Nao	
	Sifilis	1.Sim; 0.Nao	
	Tuberculose	1.Sim; 0.Nao	
	Clamidiose	1.Sim; 0.Nao	
	Tricomonose	1.Sim; 0.Nao	
	Hepatite_B	1.Sim; 0.Nao	
	SIDA	1.Sim; 0.Nao	
	Sarna	1.Sim; 0.Nao	
	Doen_do_sono	1.Sim; 0.Nao	
	Herpes_genital	1.Sim; 0.Nao	
	Inf_gen_PVH	1.Sim; 0.Nao	
	Vaginose_bact	1.Sim; 0.Nao	
		2.Nao sabe/Não Responde	

Descrição da Variável	Notação	Domínio	Tipo
As IST podem ser apanhadas através:	Caricias	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	Beijos	1.Sim; 0.Nao	
	Abracos	1.Sim; 0.Nao	
	TransRS_Vaginal	1.Sim; 0.Nao	
	TransRS_Oral	1.Sim; 0.Nao	
	TransRS_Anal	1.Sim; 0.Nao	
	TransWC_Public	1.Sim; 0.Nao	
	Part_Prattalh	1.Sim; 0.Nao	
	Part_EscDent	1.Sim; 0.Nao	
	Part_Cortantes	1.Sim; 0.Nao	
		2.Não sabe/Não Responde	
As IST podem dar origem a:	Gravidez	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	Esterilidade	1.Sim; 0.Nao	
	EnjooVomito	1.Sim; 0.Nao	
	DorCabeça	1.Sim; 0.Nao	
	DorBarriga	1.Sim; 0.Nao	
	DorFigado	1.Sim; 0.Nao	
	DorDuranRS	1.Sim; 0.Nao	
	LiqPenis	1.Sim; 0.Nao	
	LiqVagina	1.Sim; 0.Nao	
	Comichao	1.Sim; 0.Nao	
	FeridaPenis	1.Sim; 0.Nao	
	FeridaVagina	1.Sim; 0.Nao	
	VerrugasPenis	1.Sim; 0.Nao	
	VerrugasVagina	1.Sim; 0.Nao	
	PeleAmarela	1.Sim; 0.Nao	
	ArdorUrina	1.Sim; 0.Nao	
UrinarPingas	1.Sim; 0.Nao		
	2.Não sabe/Não Responde		
Qual o método mais eficaz para não apanhar IST?	CoitoInterro	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	Preservativo	1.Sim; 0.Nao	
	DIU	1.Sim; 0.Nao	
	Pilula	1.Sim; 0.Nao	
	Diafragma	1.Sim; 0.Nao	
	MetCalend	1.Sim; 0.Nao	
	Met.Temp	1.Sim; 0.Nao	
	Espermicidas	1.Sim; 0.Nao	
	OutroAbstinencia	1.Sim; 0.Nao	
	Outro	1.Sim; 0.Nao	
	2.Nao sabe/Não Responde		
Algumas IST podem ser evitadas... Vacinas.	IST_Vacinas	1.Sim	Qualita Nominal
		0.Não	
		2.Nao Sei	
Para além do HIV, existem outras IST...cancro	IST_Cancro	1.Sim	Qualita Nominal
		0.Não	
		2.Nao Sei	

Descrição da Variável	Notação	Domínio	Tipo
Todas as IST têm cura.	IST_Cura	1.Sim	Qualita Nominal
		0.Não	
		2.Não Sei	
As IST podem ser apanhadas mais q 1x	IST_Mais1vz	1.Sim	Qualita Nominal
		0.Não	
		2.Não Sei	
Consgo saber se... tem uma IST...aspecto.	IST_peloAspec	1.Sim	Qualita Nominal
		0.Não	
		2.Não Sei	
"Qdo tenho uma RS oral devo usar preserv."	OpCondomOral	1.Discordo	Quanti. Ordinal
		2.Não concordo, nem discordo	
		3.Concordo	
"Qdo tenho uma RS anal devo usar preserv."	OpCondomAnal	1.Discordo	Quanti. Ordinal
		2.Não concordo, nem discordo	
		3.Concordo	
"Qdo tenho uma RS Vagi. devo usar preserv."	OpCondomVag	1.Discordo	Quanti. Ordinal
		2.Não concordo, nem discordo	
		3.Concordo	
Se pensar q tem uma IST, a quem pede ajuda?	AjudaPai	1.Sim; 0.Nao	Qualita Nominal
	AjudaMae	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaPadras	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaMadras	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaIrmao	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaIrma	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaOut.Fami	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaNamor	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaAmigos	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaProf	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaFarma	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaMedFami	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaMedPart	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaMedGinObs	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaEnfer	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaOut_ProSau	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaPadre_GrRel	1.Sim; 0.Nao	
	AjudaLinhaTelf	1.Sim; 0.Nao	
AjudaOutro	1.Sim; 0.Nao		

Apêndice B – Permissão concedida pelo Dr. Robert Brunham, primeiro autor do artigo “*Immunology of Chlamydia infection: implications for a Chlamydia trachomatis vaccine*”, Nature Reviews | Immunology, 2005, para utilização das imagens apresentadas nas figuras 1, 2 e 3 do presente trabalho.



Apêndice C – Permissão concedida pela Prof. Dr. Nicola Low, primeiro autor dos artigos "*Current status of Chlamydia screening in Europe*" e "*Publication report on Chlamydia control activities in Europe*", para utilização dos gráficos desta publicações apresentados nos gráficos 2 e 3 do presente trabalho.



Apêndice D – Permissão concedida pelo Prof. Dr. Thomas Lisowsky, autor do artigo “*MaxXbond: first regeneration system for DNA binding silica matrices*”, Nature Reviews | Immunology, 2006, para utilização da imagem apresentada na figura 5 do presente trabalho.

