

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ANÁLISES CLÍNICAS
CURSO DE GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA

Julia Kinetz Wachter

Detecção de *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras detectadas e não detectadas para HPV provenientes de mulheres vivendo com HIV no Brasil

Florianópolis

2023

Julia Kinetz Wachter

Detecção de *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras detectadas e não detectadas para HPV provenientes de mulheres vivendo com HIV no Brasil

Trabalho de Conclusão de Curso submetido ao curso de Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Luiza Bazzo.

Florianópolis

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Wachter, Julia Kinetz

Detecção de Mycoplasma genitalium, Neisseria gonorrhoeae, Chlamydia trachomatis e Trichomonas vaginalis em amostras detectadas e não detectadas para HPV provenientes de mulheres vivendo com HIV no Brasil / Julia Kinetz Wachter ; orientadora, Maria Luiza Bazzo, 2023.

76 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2023.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Mulheres vivendo com HIV. 3. HPV. 4. Mycoplasma genitalium. 5. Coinfecção. I. Bazzo, Maria Luiza. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Julia Kinetz Wachter

Detecção de *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras detectadas e não detectadas para HPV provenientes de mulheres vivendo com HIV no Brasil

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do título de Bacharel em Farmácia e aprovado em sua forma final pelo Curso de Farmácia.

Florianópolis, 22 de junho de 2023.

Coordenação do Curso

Banca examinadora

Prof.a Maria Luiza Bazzo, Dr.a

Orientador(a)

Prof. Alexandre Sherlley Casimiro Onofre, Dr.

Universidade Federal de Santa Catarina

Jéssica Motta Martins, Me

Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 2023

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Elaine e Roberto, e meu irmão, Renan, por me darem toda a base para ser quem sou hoje, por todo o amor e carinho. Foram muitas noites chegando tarde em casa dos estágios e vocês sempre me proporcionaram tudo. Amo vocês.

Ao Henrique Grisard, que, seja na vida pessoal ou profissional, sempre me apoia e contribui para que eu melhore cada dia mais, seu incentivo durante a trajetória foi imprescindível. Que o amor sempre nos guie.

À minha orientadora, Profa. Maria Luiza Bazzo, por me oferecer a oportunidade de explorar diferentes áreas em seu laboratório e poder aprofundar meus conhecimentos na biologia molecular; sua expertise e orientação foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

Aos colegas do LBMMS, que, faça chuva ou faça sol, sei que vou encontrá-los na copa todos os dias com as conversas mais diversas. Todos me ensinaram algo e contribuíram para que eu me tornasse uma profissional melhor. Em especial, agradeço ao Marcos André Schörner e ao Fernando Hartmann Barazzetti por me auxiliarem no trabalho.

Aos colegas do LVA, mesmo que eu não faça mais parte do dia a dia de vocês, as manhãs, tardes e noites fazendo PEG e extração nunca serão esquecidas; agradeço também à Profa. Gislaïne Fongaro por me abrir os braços em meio a pandemia e me ensinar tanto.

Às minhas amigas de graduação, Christinni, Maria Eduarda, Júlia Azevedo, Júlia Rozicki, Maria Julia, Laís e Anna Giulia, sentirei saudades de encontrá-las pela UFSC; guardarei com carinho os momentos que passamos juntas. Chris, você foi “amizade à primeira vista” desde o bar de calouros, sou grata por todo o companheirismo.

À Elisa Boff, por ter feito parte da minha construção como pessoa e ser minha amiga de mais longa data.

À todos os profissionais que me guiaram nos cinco anos de graduação, em especial professores do curso e os servidores do ULAC/HU/UFSC.

RESUMO

As infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) podem ser causadas por mais de 30 tipos de microrganismos, entre eles *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Trichomonas vaginalis* (TV), *Mycoplasma genitalium* (MG), Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV) e Papilomavírus Humano (HPV). HPV, envolvido com casos de câncer cervical, facilita a aquisição e transmissão do HIV, e HIV, por sua vez, contribui com a persistência do HPV no organismo. CT, NG, MG e TV são responsáveis por causar desde infecções assintomáticas até potenciais complicações se não diagnosticados e tratados, além disso aumentam o risco de aquisição e/ou transmissão de HIV, podendo interagir também em diferentes níveis com HPV. MG naturalmente apresenta resistência aos antimicrobianos beta-lactâmicos, mas também possuem padrões de resistência a outros antimicrobianos utilizados no tratamento da infecção, sendo de suma importância estimar a resistência a fluoroquinolonas e macrolídeos por meio da detecção dos polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), nos genes *parC*, *gyrA* e na subunidade 23S do RNA ribossomal (RNAr) respectivamente. Atualmente, a forma mais sensível para diagnosticar e compreender grande parte das ISTs é por meio dos testes de amplificação de ácidos nucleicos, especialmente a reação em cadeia da polimerase (PCR), que foi utilizada neste estudo. Ao todo, 355 amostras de conteúdo vaginal provenientes de mulheres vivendo com HIV (MVHIV) foram submetidas a PCR em tempo real para detecção de CT, NG, MG e TV e, das amostras com MG detectado, uma *Nested* PCR foi realizada para amplificar genes associados à resistência aos antimicrobianos macrolídeos e fluoroquinolonas, seguida por sequenciamento tipo Sanger para pesquisar SNPs nos genes alvos. Utilizando o software *Statistical Package for Social Science* (SPSS) para a análise estatística, foi visto que CT, NG e TV apresentaram alta prevalência (10,1%, 7,9% e 13,0%, respectivamente), MG uma prevalência de 2,8%. Coinfecções também foram detectadas, dessas CT e MG com 1,4% de prevalência, MG e TV com 0,6%, NG, MG e CT com 0,3%, NG e TV com 1,1% e CT e TV com 2,5%. Ademais, uma comparação de resultados entre dois testes moleculares foi avaliada, sendo eles *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®) e *RealTime CT/NG Assay* (Abbott®), o grau de concordância obtido pelo coeficiente Kappa foi 0,736, considerado muito bom. Infecção por NG foi associada significativamente com HPV de baixo risco. Não foram encontradas SNPs em posições que predizem a resistência para MG nos alvos 23S do RNAr, *gyrA* e *parC* nas 10 amostras detectadas. As prevalências altas de CT, NG e TV podem estar associadas pela coinfecção HIV-HPV e à possível imunossupressão das participantes. A prevalência de MG foi condizente com a literatura assim como os dados de coinfecções entre estes patógenos. Por se tratar do primeiro dado, até o momento, do perfil de resistência de MG aos antimicrobianos no Brasil em MVHIV. Resultados nacionais para MVHIV corroboram para a o cenário epidemiológico brasileiro e podem auxiliar gestores públicos a embasar decisões diagnósticas e de tratamento das ISTs.

Palavras-chave: ISTs; *Mycoplasma genitalium*; HIV; HPV; coinfecção; resistência.

ABSTRACT

Sexually transmitted infections (STIs) can be caused by more than 30 microorganisms, including *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT), *Trichomonas vaginalis* (TV), *Mycoplasma genitalium* (MG), Human Immunodeficiency Virus (HIV), and Human Papillomavirus (HPV). HPV, involved in cases of cervical cancer, facilitates HIV acquisition and transmission, whilst HIV contributes to the persistence of HPV infection. CT, NG, MG, and TV are responsible for causing asymptomatic infections but if not diagnosed and treated can cause complications; in addition, they can increase the risk of acquiring and/or transmitting HIV, and may also interact at different levels with HPV. MG is naturally resistant to beta-lactam antimicrobials but can also be resistant to other antimicrobials used in treatment, and it is of great importance to estimate MG resistance to fluoroquinolones and macrolides through the detection of single nucleotide polymorphisms (SNPs) in *parC*, *gyrA*, and 23S ribosomal RNA (RNAr) subunit genes respectively. Currently, the most sensitive way to diagnose and understand most STIs is through nucleic acid amplification tests, especially the polymerase chain reaction (PCR), which was used in this study. In all, 355 vaginal samples from women living with HIV (MVHV) were subjected to real-time PCR for CT, NG, MG, and TV detection, and from MG detected samples, a Nested PCR was performed to amplify genes associated with macrolide and fluoroquinolone resistance, followed by Sanger sequencing to search for SNPs in target genes. Using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS) software for statistical analysis, it was observed that CT, NG, and TV had a high prevalence (10.1%, 7.9%, and 13.0%, respectively), MG had a 2.8% prevalence. Coinfections were also detected, such as CT and MG with 1.4% prevalence, MG and TV with 0.6%, NG, MG and CT with 0.3%, NG and TV with 1.1 % and CT and TV with 2.5%. In addition, a comparison between the results of two molecular tests was performed, them being Allplex CT/NG/MG/TV Assay (Seegene®) and RealTime CT/NG Assay (Abbott®), being the agreement degree obtained via Kappa coefficient was 0.736, considered very good. Infection by NG was significantly associated with low-risk HPV. No SNPs were found in positions that predict MG resistance in the 23S rRNA, *gyrA*, and *parC* targets in the 10 detected samples. The high prevalence of CT, NG, and TV may be associated with the HIV-HPV coinfection and the immunosuppression of the participants. MG prevalence was consistent with the literature, as well as data on co-infections between these pathogens. As it is the first data so far on the profile of MG resistance to antimicrobials in MVHIV living in Brazil. National results for MVHIV corroborate the Brazilian epidemiological scenario and can help governmental institutions to support diagnostic and treatment decisions for STIs.

Keywords: STIs; *Mycoplasma genitalium*; HIV; HPV; coinfection; resistance.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 Representação de uma amplificação por PCR em tempo real.	19
Figura 2 Esquema do ensaio de clivagem e extensão de oligonucleotídeos de marcação (TOCE™).	21
Figura 3 Microscopia de transmissão eletrônica de <i>Mycoplasma genitalium</i> corado com molibdato de amônio, mostrando seu formato de garrafa.	27
Figura 4 Mapa do Brasil indicando os municípios/estados participantes do projeto.	33
Figura 5 Amostras detectadas por PCR em tempo real para os patógenos CT, NG, MG e TV utilizando o kit <i>CT/NG/MG/TV Assay</i> (Seegene®).....	38
Figura 6 Mapa e relação das amostras conforme as regiões brasileiras e estados participantes do estudo.....	43
Figura 7 Comparação de cada patógeno com amostras com HPV de alto, baixo risco e sem HPV detectado.	44
Figura 8 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo <i>parC</i> para as 10 amostras analisadas.	50
Figura 9 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo <i>gyrA</i> para as 10 amostras analisadas.	50
Figura 10 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo 23S RNAr para as 10 amostras analisadas.....	51

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 Relação dos iniciadores empregados para amplificação de 23S do RNAr, <i>gyrA</i> e <i>parC</i> nas reações de <i>Nested</i> PCR.....	35
Tabela 2 Distriuição de variáveis de acordo com a detectção de CT, NG, MG e TV.....	40
Tabela 3 Resultados de CT, NG, MG e TV dentro dos critérios de escolha das amostras.	45
Tabela 4 Distribuição das variáveis estudadas de acordo com a presença ou não de infecção de HPV de alto e baixo risco, além de coinfeção por CT, NG, MG e/ou TV no estudo.....	46
Tabela 5 Concordância entre o kit <i>Allplex CT/NG/MG/TV Assay</i> da Seegene e o <i>Abbott® RealTime CT/NG Assay</i>	52

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CDC	do inglês, <i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
Cq	Ciclo de quantificação
CT	<i>Chlamydia trachomatis</i>
DNA	do inglês, <i>DeoxyriboNucleic Acid</i>
dNTP	do inglês, deoxynucleotide triphosphates
DPO™	do inglês, <i>Dual Priming Oligonucleotide</i>
HIV	do inglês, <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
HPV	do inglês, <i>Human PapillomaVirus</i>
ISTs	Infecções Sexualmente Transmissíveis
LBMMS	Laboratório de Biologia Molecular, Microbiologia e Sorologia
MG	<i>Mycoplasma genitalium</i>
MS	Ministério da Saúde do Brasil
MuDT™	do inglês, <i>Multiple Detection Temperatures</i>
MVHIV	Mulheres vivendo com HIV
NAAT	do inglês, <i>Nucleic Acid Amplification Tests</i>
NG	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
NGS	do inglês, <i>Next Generation Sequencing</i>
NIC	Neoplasia Intraepitelial Cervical
OMS	Organização Mundial da Saúde
PCDT	Protocolos Clínicos e Diretrizes Terapêuticas
PCR	do inglês, <i>Polymerase Chain Reaction</i>
RNAr	RNA ribossômico
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeos únicos
Taq	do inglês, <i>Thermus aquaticus</i>
TARV	Terapia Antirretroviral
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TOCE™	do inglês, <i>Tagging Oligonucleotide Cleavage and Extension</i>
TV	<i>Trichomonas vaginalis</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

® Marca registrada

μ Micro

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DA LITERATURA	18
2.1 MÉTODOS MOLECULARES	18
2.1.1 Sequenciamento de material genético	19
2.1.2 Novas tecnologias moleculares	20
2.2 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA.....	22
2.3 PAPILOMAVÍRUS HUMANO	22
2.4 <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i>	24
2.5 <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i>	25
2.6 <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i>	25
2.7 <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i>	26
2.8 TRATAMENTO DE <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS.....	28
3 JUSTIFICATIVA	30
4 OBJETIVOS	31
4.1 OBJETIVO GERAL.....	31
4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	31
5 MATERIAIS E MÉTODOS	32
5.1 COMITÊ DE ÉTICA.....	32
5.2 LOCAL DE ESTUDO E AMOSTRAGEM.....	32
5.3 PCR EM TEMPO REAL.....	33
5.4 AMPLIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E PURIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DE PCR	34
5.5 SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER	35
5.6 ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER	36
5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	36
6 RESULTADOS	37
6.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO.....	37
6.2 DETECÇÃO DE <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> , <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> , <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i> E <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i>	37
6.2 HPV, COINFECCÕES E VARIÁVEIS	43
6.4 SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER	51

6.5 COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS	52
7 DISCUSSÃO	53
8 CONCLUSÃO.....	57
REFERÊNCIAS	58
ANEXO A – CARTA DE MANIFESTAÇÃO DE CONCORDÂNCIA.....	65
ANEXO B – QUADRO COM RESULTADOS DE DETECÇÃO DE <i>CHLAMYDIA TRACHOMATIS</i> , <i>NEISSERIA GONORRHOEAE</i> , <i>MYCOPLASMA GENITALIUM</i> , <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i> E HPV	67

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), é estimado que mais de 1 milhão de Infecções Sexualmente Transmissíveis (ISTs) são adquiridas por dia no mundo, podendo ser causadas por mais de 30 tipos de bactérias, vírus e parasitos conhecidos. As ISTs podem ser transmitidas por contato sexual vaginal, oral e/ou anal, ou ainda verticalmente durante a gestação, parto e amamentação. A maneira mais efetiva de evitar a transmissão é pelo uso de preservativos, que além de prevenir infecções, ainda protegem contra gravidez indesejada (WHO, 2021a).

Dentre os microrganismos envolvidos nas ISTs, os mais comuns são *Treponema pallidum* (TP), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Trichomonas vaginalis* (TV), que estão relacionados a 7, 82, 128 e 156 milhões de novos casos a cada ano, respectivamente (WHO, 2021c). CT e NG são bactérias comuns no desenvolvimento de cervicite e uretrite, entretanto muitas vezes estas manifestações clínicas podem ser causadas por outros patógenos, como *Mycoplasma genitalium* (MG) (ANAGRIUS; LORÉ; JENSEN, 2005). Já dentre os vírus envolvidos com ISTs, em 2021, estimou-se que 38,4 milhões de pessoas estavam vivendo com a infecção causada pelo Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, do inglês *Human Immunodeficiency Virus*) no mundo (UNAIDS, 2021) e 291 milhões de mulheres vivendo com Papilomavírus Humano (HPV, do inglês *Human Papillomavirus*), comumente associado a câncer genital (WHO, 2021c).

O diagnóstico das ISTs varia conforme cada patógeno, sendo que nos últimos anos os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT, do inglês *Nucleic Acid Amplification Tests*) vêm sendo utilizados para a detecção de CT, NG, MG, TV e HPV (WHO, 2021b), por conta de sua rapidez e capacidade de detectar o material genético de diferentes patógenos simultaneamente, além da dificuldade de cultivo desses microrganismos. Apenas a detecção do microrganismo pode ser insuficiente, necessitando, muitas vezes, de outras metodologias para avaliar a presença de alterações genômicas que possam prever resistência aos antimicrobianos (WHO, 2021d).

Em muitos casos, não é feita a testagem etiológica relacionada à ISTs, e sim um tratamento sintomático, principalmente em países em desenvolvimento. Desde 1993, o tratamento sintomático é recomendado no Brasil para pessoas que apresentem sintomas compatíveis com ISTs (MOHERDAUI *et al.*, 1998). Entretanto, atualmente a OMS recomenda que, com o tempo, a abordagem sintomática passe a ser uma vigilância etiológica, e recomenda-

se que, ao passar dos anos, os países que usam o manejo sindrômico devem realizar uma avaliação etiológica para atualizar as recomendações de tratamento (WHO, 2016).

No presente estudo, os materiais genéticos de CT, NG, MG e TV foram pesquisados em amostras de mulheres vivendo com HIV (MVHIV) provenientes de um projeto de âmbito nacional de implantação de uma rede de serviços para acesso a testes de biologia molecular para detecção de HPV; e ainda foi realizada a avaliação de resistência de MG a antimicrobianos de escolha no tratamento.

2 REVISÃO DA LITERATURA

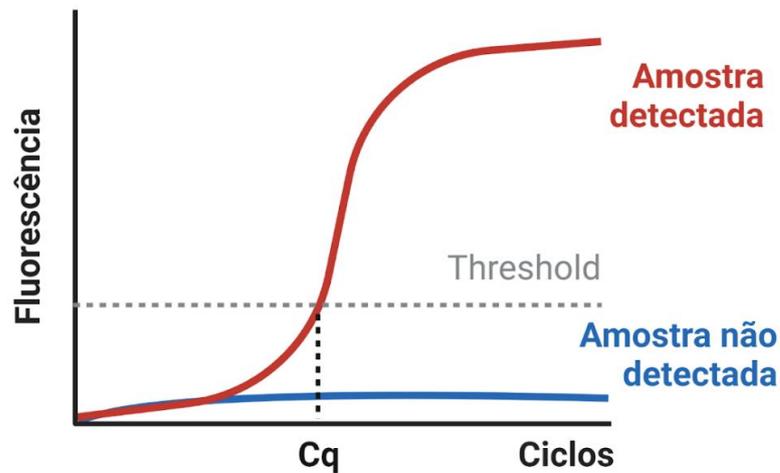
2.1 MÉTODOS MOLECULARES

Criada na década de 1980, a reação em cadeia da polimerase (PCR, do inglês *Polymerase Chain Reaction*) é uma técnica de biologia molecular comumente utilizada para amplificação exponencial *in vitro* de um segmento de determinado material genético de interesse. Os componentes necessários básicos para a reação ocorrer são DNA polimerase, desoxinucleotídeos de cada base (dNTPs), o DNA alvo e os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), que são submetidos a três etapas principais da reação: desnaturação, hibridização e extensão, que são repetidas a temperaturas específicas em um termociclador. Na PCR convencional, os produtos de PCR, ou amplicons, ainda precisam ser analisados por outra metodologia, usualmente a eletroforese em gel de agarose juntamente com algum intercalante para visualização dos produtos gerados na PCR (CANENE-ADAMS, 2013).

Com o tempo, a PCR foi ganhando variações, uma delas a *Nested* PCR, utilizada quando é preciso uma maior sensibilidade e/ou especificidade da reação. Nela, são feitas duas rodadas de PCR, com dois pares de iniciadores diferentes em cada. A segunda PCR utiliza o produto da primeira amplificação como DNA alvo (GREEN; SAMBROOK, 2019). Por aumentar o risco de contaminação do ambiente laboratorial, a *Nested* PCR é utilizada com muita parcimônia e observando-se cuidados especiais.

Outro tipo de reação é a PCR em tempo real, que permite analisar e quantificar os produtos da PCR durante o processo de amplificação. Para que isso seja possível, é necessário que componentes fluorescentes estejam presentes na reação e que esta fluorescência seja excitada durante a amplificação e identificada pelo termociclador. Assim, é possível reconhecer o aumento da fluorescência ao longo dos ciclos, sendo que a reação tem um limiar de detecção (ou *threshold*) do qual a intensidade do sinal luminoso precisa ultrapassar para determinar, em uma amostra na qual ocorreu a amplificação, o ciclo de quantificação (Cq) (Figura 1). Quanto menor o Cq, maior o número de cópias iniciais de DNA (KALTENBOECK; WANG, 2005).

Figura 1 Representação de uma amplificação por PCR em tempo real.



Fonte: Imagem de autoria própria (imagem gerada no programa Bio Render®).

A PCR pode possuir dois ou mais pares de iniciadores simultaneamente amplificando e detectando dois ou mais alvos no mesmo poço, caracterizando assim uma PCR multiplex. No caso da PCR em tempo real, isso é possível pois diferentes fluoróforos marcam cada sonda, sendo diferenciados pela plataforma de PCR em tempo real (KALTENBOECK; WANG, 2005).

Ainda, os métodos moleculares podem ser executados de forma automatizada, possuindo diversas vantagens, como a redução do tempo de execução do teste e a padronização do procedimento. Empresas como Cepheid® e Abbott® desenvolveram equipamentos automatizados, sendo eles GeneXpert e *m2000*, respectivamente, envolvidos no diagnóstico de ISTs. O *m2000* (Abbott®), por exemplo, executa desde a extração do material genético até o preparo das reações em placa de PCR, sendo apto a processar 96 amostras por vez, além de ser capaz de analisar 186 amostras e seis controles num período de aproximadamente oito horas (WHO, 2013).

2.1.1 Sequenciamento de material genético

Sequenciamento genômico é usado para determinar a ordem de bases nitrogenadas de uma fita de material genético (NIH, 2022), podendo ser do genoma completo ou apenas de porções dele. No sequenciamento do tipo Sanger, um sequenciamento de primeira geração, o material genético amplificado é anelado a um iniciador e estendido pela enzima DNA polimerase, que incorpora ou uma mistura de dNTPs ou ddNTPs, onde a incorporação seletiva de ddNTPs determinam a extensão de cada molécula, gerando fragmentos de DNA de diferentes

tamanhos. É um tipo de sequenciamento muito utilizado para o monitoramento de resistências a antimicrobianos e análises filogenéticas (CROSSLEY *et al.*, 2020).

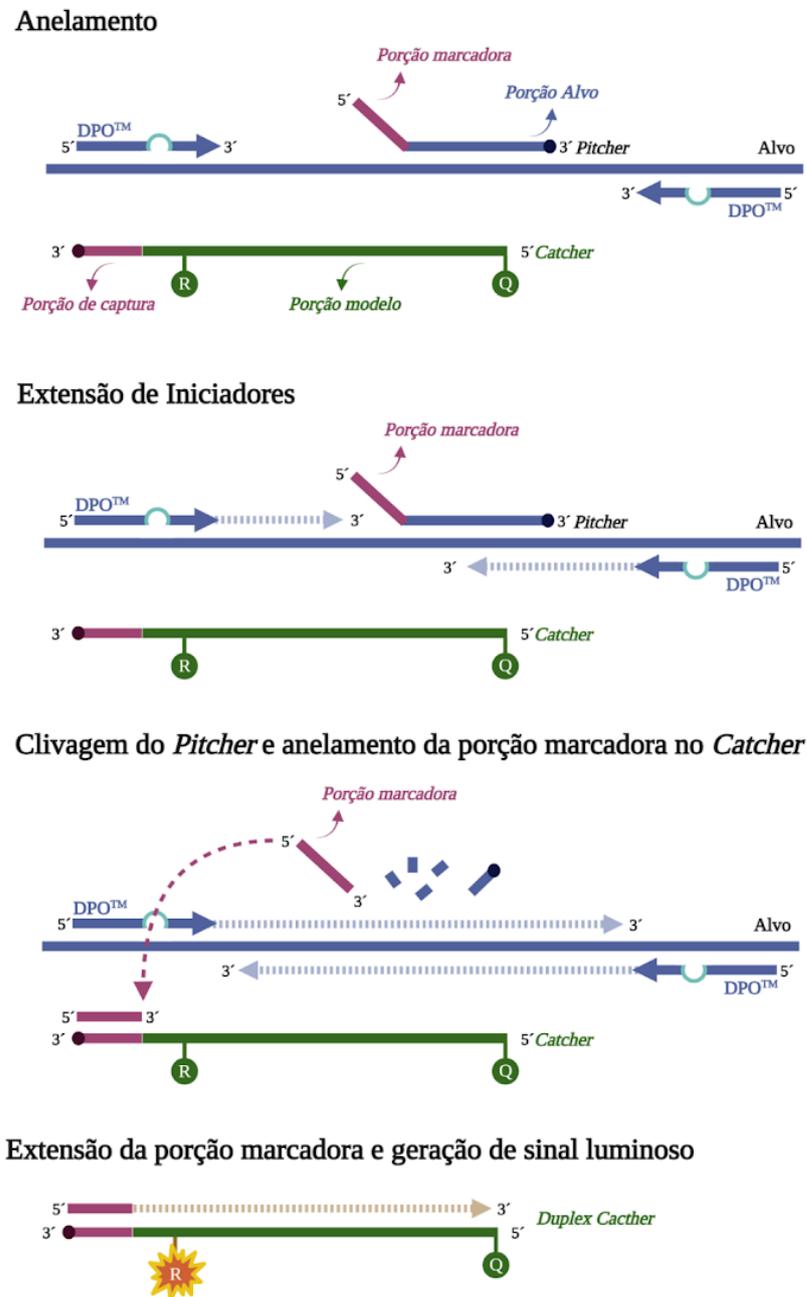
A era do NGS (do inglês, *Next Generation Sequencing*) iniciou nos anos 2000, com os sequenciadores de segunda geração, com uma maior eficiência e menor tempo de trabalho quando comparado ao sequenciamento tipo Sanger, sendo exemplos de sequenciadores de segunda geração as plataformas *Illumina*[®] e *Ion Torrent* (Thermo Fischer[®]). Essas plataformas realizam diversas leituras curtas do material genético, sendo muito preciso para regiões menores do genoma (250 – 800pb), mas para longos trechos acaba trazendo desafios na montagem da sequência. Já no sequenciamento de terceira geração, ou de longas leituras, utilizando as plataformas *PacBio*[®] e *Oxford Nanopore*[®], supera-se essas dificuldades encontradas em sequenciadores de segunda geração quando convém a análises de genoma completo. Mas vale lembrar que para análise de regiões menores ainda é recomendado o uso de plataformas de segunda geração ou até de primeira geração, sendo que o sequenciamento do tipo Sanger o mais recomendado para a avaliação de SNPs, como no presente trabalho (BANSAL *et al.*, 2010; HU *et al.*, 2021).

2.1.2 Novas tecnologias moleculares

Aliadas à PCR em tempo real, novas tecnologias vêm surgindo no mercado para melhorar qualidade e velocidade da reação. Como exemplo, a empresa Seegene[®] desenvolveu a tecnologia MuDT[™], que possibilita a detecção de múltiplos alvos em um único canal de fluorescência sem análise de curva de dissociação. Esta tecnologia é combinada com DPO[™] e TOCE[™]. A tecnologia TOCE[™] possui três componentes chaves: pares de iniciadores DPO[™], *Pitchers* e *Catchers*. Os pares de iniciadores DPO[™] fazem a amplificação específica da região alvo, enquanto o *Pitcher* é um oligonucleotídeo de fita simples composto por uma porção de marcação adjacente a uma porção de direcionamento que pode hibridizar especificamente com a região alvo de interesse; já o *Catcher* é um molde artificial duplamente marcado por um reportador fluorescente e um *quencher* (LEE, 2012).

A reação inicia com a hibridização dos iniciadores DPO[™] senso e antissenso e do *Pitcher*, seguido da extensão pela enzima Taq DNA polimerase e clivagem do *Pitcher*, liberando a porção de marcação. Esta porção se hibridiza ao *Catcher*, induz a sua extensão e leva à criação do *Duplex Catcher*, resultando na geração de um sinal fluorescente (Figura 2) (LEE, 2012).

Figura 2 Esquema do ensaio de clivagem e extensão de oligonucleotídeos de marcação (TOCE™).



Fonte: Adaptado de Lee, 2012.

Em suma, a intensidade dos sinais de fluorescência dos alvos com diferentes perfis de T_m (do inglês, *melting temperature*) pode ser verificada controlando as temperaturas de detecção pela tecnologia de análise de dados MuDT™, permitindo com que os alvos sejam distinguidos uns dos outros sem a análise da curva de dissociação (LEE; KIM; LEE; CHUN, 2014).

2.2 VÍRUS DA IMUNODEFICIÊNCIA HUMANA

HIV é um membro do gênero *Lentivirus* e da família Retroviridae, e pode ser dividido em dois tipos com base em suas características genéticas, HIV-1 e HIV-2, sendo HIV-1 mais prevalente no mundo e HIV-2 restrito a algumas regiões da África (FANALES-BELASIO *et al.*, 2010). É um vírus envelopado com genoma constituído por duas fitas simples de RNA idênticas e três principais genes: *env*, *gag* e *pol*, responsáveis por codificar proteínas do envelope, estruturais e enzimas, como a transcriptase reversa, responsável pela transcrição reversa de RNA viral em DNA complementar (LI *et al.*, 2015; SEITZ, 2016). Esse vírus é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Humana Adquirida (aids), possuindo tropismo por células do sistema imune que apresentam receptores CD4+ e correceptores CCR5 ou CXCR4, podendo levar à imunossupressão. É importante salientar que o paciente estar infectado pelo HIV, mas não ter desenvolvido aids, já que isto depende das propriedades do vírus e do sistema imune do hospedeiro (BRASIL, 2017; FANALES-BELASIO *et al.*, 2010) e mais recentemente pela estratégia de testar e tratar para preservar o sistema imune da pessoa vivendo com HIV e diminuir o risco de transmissão em virtude da supressão viral obtida com a terapia antirretroviral (OKOLI *et al.*, 2020).

A infecção pelo HIV não tem cura (BRASIL, 2017). Entretanto, com os avanços na terapia antirretroviral (TARV) é possível reduzir a carga viral até que ela se torne indetectável e intransmissível, aumentando a qualidade de vida da pessoa vivendo com HIV. Este coquetel de medicamentos deve ser tomado durante toda a vida concomitantemente com o acompanhamento da infecção por meio de exames periódicos, como a contagem de células CD4+ e a carga viral (BRASIL, 2017). O Ministério da Saúde do Brasil (MS) disponibiliza o Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas (PCDT) para o Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos, que abrange todos os aspectos da infecção, desde os sintomas, diagnóstico, tratamento até o suporte ao paciente. Cabe ressaltar que é fundamental que o indivíduo tenha adesão ao tratamento proposto com os antirretrovirais, respeitando as doses, horários e outras indicações (BRASIL, 2018).

2.3 PAPILOMAVÍRUS HUMANO

HPV é um vírus de DNA de fita dupla circular, classificado em tipos de alto e baixo risco. Os de baixo risco oncogênico podem gerar verrugas anogenitais e em outros sítios anatômicos, majoritariamente benignas, que podem se resolver dentro de seis meses, com ou

sem tratamento. Os de alto risco oncogênico estão relacionados, principalmente, com câncer anogenital e de cabeça e pescoço. HPVs podem infectar diversas espécies de animais, porém são espécie-específica. Existem mais de 200 tipos de HPV, com base em diferenças genômicas, sendo que apenas 30 estão relacionados com infecções genitais em humanos, sendo divididos em dois grupos de acordo com o potencial oncogênico: de baixo e alto risco. A maioria das infecções são benignas, porém 15 destes tipos de HPV são classificados como de alto risco e associados a maior risco de desenvolvimento de câncer cervical sendo eles 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68, 73 e 82. (CDC, 2021d).

Ao todo, a infecção por HPV resulta em 570 mil casos de câncer cervical por ano (WHO, 2021c), no entanto, a infecção por HPV de alto risco precisa ser persistente para ter esse desfecho. Além disso, a infecção ainda pode ter alguns cofatores associados, como múltiplos parceiros sexuais, uso de contraceptivos orais, tabagismo e/ou infecções por NG, CT e TV (ADEBAMOWO *et al.*, 2017; RIBEIRO *et al.*, 2015). Algumas outras interações ainda são pouco conhecidas, como a infecção por MG e seu possível papel na aquisição de HPV e desenvolvimento de câncer cervical.

No Brasil rastreamento do câncer cervical, ainda, é realizado de maneira periódica por rastreio com o exame citopatológico, que deve ser cumprido anualmente em mulheres com idade entre 25 e 60 anos; e a cada três anos, após dois exames anuais consecutivos negativos. Em países onde este rastreamento é realizado a cada três a cinco anos, e tem cobertura superior a 50%, são vistas taxas inferiores a três mortes a cada 100 mil mulheres por ano (INCA, 2016). No entanto, este exame tem suas limitações, como a maior chance de produzir resultados falso-negativos. Com isso, dada a associação entre HPV de alto risco e câncer cervical, os métodos moleculares podem ser usados como ferramenta diagnóstica para detectar o material genético do vírus e ainda ter a possibilidade de diferenciar os genótipos, contando com um melhor custo-benefício e sensibilidade (KIM; WRIGHT; GOLDIE, 2005; LEVI *et al.*, 2019). Em 2021, a OMS ratificou a recomendação para que os países adotem o rastreio com testes para detecção de HPV, no documento “*New recommendations for screening and treatment to prevent cervical cancer*”, reservado a citologia esfoliativa para os casos que necessitem acompanhamento da infecção (WHO, 2021e).

Em relação a outras infecções, a pré-existência de infecção pelo HPV no organismo humano pode facilitar a aquisição de HIV, possivelmente porque HPV causa uma lesão de continuidade em mucosas. A perturbação da integridade da mucosa pelo HPV e a sua prevalência, podem estar relacionadas a essa aquisição e transmissão de HIV (DREYER, 2018). Por outro lado, a infecção por HIV e o comprometimento do sistema imune podem aumentar a

chance de infecção por HPV, assim como sua prevalência, persistência e progressão até formas mais graves, como a neoplasia intraepitelial cervical (NIC) 2, NIC 3 e câncer cervical (CLIFFORD; TULLY; FRANCESCHI, 2017; DREYER, 2018), sendo que a chance de desenvolver câncer é seis vezes maior para mulheres vivendo com HIV quando comparado a mulheres sem HIV (WHO, 2020) e quando associado a tipos de HPV mais agressivos, como 16 e 18. Importante ressaltar que todos estes fatores dependem também do estágio da doença, estado do sistema imune e o tipo de HPV associado (DREYER, 2018).

2.4 *Neisseria gonorrhoeae*

Neisseria gonorrhoeae é um diplococo Gram negativo e parasita obrigatório do ser humano, capaz de infectar diferentes mucosas, como da uretra, faringe e reto (HILL; MASTERS; WACHTER, 2016). Em mulheres, a infecção é frequentemente assintomática ou causa poucos sintomas; no entanto, pode levar a complicações, como a doença inflamatória pélvica, cervicite e uretrite (BRASIL, 2022a; CDC, 2021b), no qual cerca de 3% das mulheres desenvolvem estas formas mais graves da infecção. Se não tratada, ou tratada de forma inadequada, pode gerar consequências como esterilidade, gravidez ectópica, artrite séptica e/ou morte (HILL; MASTERS; WACHTER, 2016).

O diagnóstico laboratorial de gonorreia pode decorrer por metodologias distintas para identificação do diplococo dependendo do tipo de amostra (urogenital, retal, líquido sinovial, orofaríngea e de secreção ocular). A microscopia de esfregaço usando coloração de Gram é uma boa opção para homens com corrimento uretral, porém a sensibilidade do teste cai para amostras endocervicais. Outra opção é a cultura bacteriana (a única que permite fazer teste para verificar resistência aos antimicrobianos), sendo mais apropriada para amostras endocervicais e de secreção ocular, mas não para urina e swab vaginal. Ainda, podem ser utilizados os NAATs, que são recomendados para indivíduos sintomáticos e assintomáticos, apesar de que resultados detectados em métodos moleculares são encorajados a ter a cultura do diplococo para detectar possíveis resistências bacterianas (UNEMO *et al.*, 2020).

Mesmo sendo uma das ISTs mais comuns no mundo, a infecção por NG possui alguns fatores de risco associados, como ter mais de um parceiro sexual, uso inconsistente de preservativos, ISTs prévias e atuação como profissional do sexo (CDC, 2021b). Assim como ocorre com outras ISTs, a infecção por NG é um importante fator de risco para facilitar a infecção por HIV, já que aumenta a aquisição e transmissão do vírus por meio de múltiplos

mecanismos envolvidos no processo infeccioso, como pelo recrutamento de células do sistema imune, inclusive CD4+ (JARVIS; CHANG, 2012).

2.5 *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis é uma bactéria intracelular obrigatória com um ciclo de vida dividido em dois estágios: forma infectante de corpo elementar e forma de multiplicação de corpo reticular (COSSÉ; HAYWARD; SUBTIL, 2018). Ainda, pode entrar em um terceiro estágio quando exposta a antimicrobianos, por exemplo, quando continua metabolicamente ativa, porém não se multiplica ou aumenta de tamanho, chamado de corpo aberrante (WYRICK, 2010). Esta bactéria é responsável por uma das principais ISTs do mundo, vinculada a casos de cervicite e uretrite, podendo ainda levar a complicações em mulheres como doença inflamatória pélvica, gravidez ectópica e infertilidade (BRASIL, 2022a; CDC, 2021a). Apesar disso, casos assintomáticos são comuns tanto em homens quanto em mulheres (CDC, 2021a).

Por depender da célula hospedeira para o desenvolvimento do seu ciclo biológico, é possível cultivar essa bactéria apenas em cultura celular. Além de que não é possível visualizar este microrganismo por microscopia corada com Gram. Pelas dificuldades do cultivo celular, a cultura não é mais utilizada na rotina de diagnóstico laboratorial, sendo os NAATs os testes adotados e recomendados para amostras cervicais, vaginais, uretrais e de urina de primeiro jato, possuindo alta sensibilidade (CDC, 2021a).

A patogênese de CT, assim como a de outros microrganismos, pode alterar de acordo com a coinfeção com outros patógenos, a exemplo da coinfeção por CT e HIV que pode aumentar a transmissão de HIV, já que aumenta a carga viral na secreção genital (GHYS *et al.*, 1997). Em adição, a combinação de CT e NG pode aumentar a susceptibilidade a complicações a longo prazo, e ainda, a infecção por NG consegue reativar infecções latentes por CT (SEO; CHOI; LEE, 2019).

2.6 *Trichomonas vaginalis*

O protozoário flagelado *Trichomonas vaginalis* é responsável por uma das mais frequentes ISTs no mundo, da qual grande parte dos casos são assintomáticos. Em mulheres com sintomas, os mais comuns são corrimento vaginal, disúria e dor abdominal. Posto isso, a falta de tratamento pode acarretar infertilidade, desfechos adversos no parto e risco aumentado de aquisição e transmissão de HIV (KISSINGER, 2015; VAN GERWEN; MUZNY, 2019),

sendo que a infecção pode persistir por longos períodos, de meses até anos, se não tratada (KISSINGER, 2015).

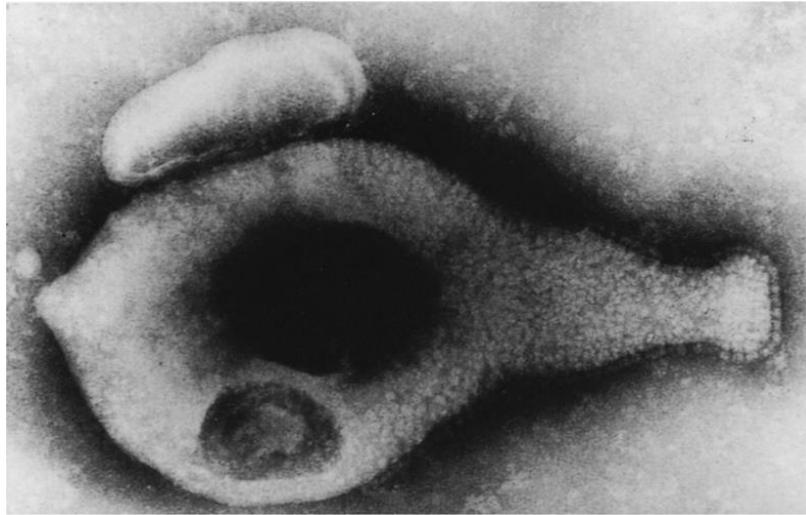
Em áreas onde há alta prevalência concomitante de TV e HIV, como a África Sub-Saariana, é demonstrado que TV é um importante fator de risco para a aquisição de HIV, aumentando a probabilidade de aquisição de HIV em 50% (MASHA et al., 2019). Isso se sucede pela resposta inflamatória gerada pela infecção por TV e migração de células alvo de HIV, além de alterações na microbiota vaginal podendo torná-la mais permissiva para vaginose bacteriana, que, por sua vez, também pode aumentar o risco de aquisição do HIV (KISSINGER, 2015). O diagnóstico e tratamento precoce de TV são ferramentas que podem reduzir novas infecções por HIV.

O diagnóstico clínico de tricomoníase é baseado no odor, qualidade e quantidade do corrimento vaginal, entretanto, pela grande quantidade de casos assintomáticos, apenas se guiar por sinais clínicos não é suficiente (WHO, 2013). Baseando-se no diagnóstico laboratorial, o exame a fresco para visualização do parasita ao microscópio é preconizado pelo MS, assim como esfregaço corado com Gram e a cultura em casos de difícil diagnóstico (BRASIL, 2022a). A microscopia é uma ótima primeira linha de diagnóstico, porém resultados falsos-negativos podem ser comuns, já que TV é altamente sensível a temperatura e perde sua motilidade, além disso seu tamanho é semelhante ao de leucócitos (comumente presentes na resposta inflamatória da infecção), podendo mascarar a presença do parasita. Por fim, a carga parasitária muitas vezes pode estar abaixo do limite de detecção para microscopia, levando também a resultados falso-negativos (WHO, 2013). A opção mais atual são os NAATs, que detectam com uma maior especificidade o parasito, sem necessitar que esteja viável (WHO, 2013).

2.7 *Mycoplasma genitalium*

Mycoplasma genitalium é uma bactéria fastidiosa pertencente à classe Mollicutes, que possui um formato aberrante de garrafa (Figura 3) e um genoma reduzido de 580 kb, sendo o menor organismo conhecido capaz de se replicar por fissão binária independente do hospedeiro (FRASER et al., 1995; TAYLOR-ROBINSON; JENSEN, 2011). Sua transmissão ocorre por contato sexual e o patógeno pode ser encontrado em amostras urogenitais, respiratórias e retais (TAYLOR-ROBINSON; JENSEN, 2011).

Figura 3 Microscopia de transmissão eletrônica de *Mycoplasma genitalium* corado com molibdato de amônio, mostrando seu formato de garrafa.



Fonte: TAYLOR-ROBINSON; JENSEN, 2011.

Isolado pela primeira vez em 1980 a partir da uretra de homens, o microrganismo pode colonizar o trato genital e levar a uretrites nestes indivíduos. Em mulheres, está associado a cervicite, doença inflamatória pélvica, aborto espontâneo e infertilidade (LIS; ROWHANI-RAHBAR; MANHART, 2015; ONA; MOLINA; DIOUF, 2016). Entretanto, algumas vezes o quadro pode ser assintomático, tanto em homens quanto em mulheres (ANAGRIUS; LORÉ; JENSEN, 2005). Alguns fatores de risco associados à infecção são: múltiplos parceiros sexuais, idade jovem, relacionamentos de curta duração, tabagismo e vaginose bacteriana (CAZANAVE; MANHART; BÉBÉAR, 2012). Junto a isso, infecções por outros microrganismos, como NG, CT e TV, também podem ser um fator de risco associado (CAMPOS *et al.*, 2015).

Em 1990, MG foi identificado no sangue de um indivíduo com aids, sendo o primeiro relato da coinfeção entre MG e HIV (MAVEDZENGE; WEISS, 2009) e, desde então, diferentes teorias foram postuladas a respeito da origem desta coinfeção. A primeira delas sugere que MG cause uma infecção oportunista em indivíduos imunocomprometidos previamente infectados pelo HIV (MAVEDZENGE; WEISS, 2009); e a segunda hipótese sugere que a resposta inflamatória gerada por MG pode aumentar a susceptibilidade e/ou a transmissão do HIV, já que pode gerar dano no tecido genital e levar a uma secreção de citocinas pró-inflamatórias (MAVEDZENGE *et al.*, 2012; MAVEDZENGE; WEISS, 2009). Essa relação ficou sob o holofote da ciência, sendo que a prevalência de MG em indivíduos vivendo com HIV pode ser observada em alguns estudos, variando entre 1% e 17% (MANHART *et al.*,

2008; GATSKI *et al.*, 2011; MADSEN *et al.*, 2017). Essa variação pode ser vista entre países desenvolvidos e em desenvolvimento, principalmente na região da África Subsaariana, onde ocorre uma maior prevalência (MAVEDZENGE; WEISS, 2009).

Devido a sua natureza fastidiosa, o isolamento de MG em meio de cultura a partir de amostras clínicas é lento, podendo levar meses (MCGOWIN; TOTTEN, 2017). Diante disso, os NAATs são as principais ferramentas diagnósticas, tendo a PCR como o método de escolha para a detecção do material genético da bactéria (DE CARVALHO; PALÚ; WITKIN, 2020). Inclusive já existindo kits comerciais disponíveis que detectam o patógeno e as mutações que inferem a resistência aos antimicrobianos macrolídeos e fluoroquinolonas.

Em 2021, o Centro de Controle e Prevenção de Doenças/Atlanta (CDC, do inglês *Centers for Disease Control and Prevention*) recomendou que mulheres com cervicite recorrente ou com doença inflamatória pélvica devem ser testadas para MG e, se possível, verificar se há resistência aos antimicrobianos macrolídeos e fluoroquinolonas. Porém, o rastreio de indivíduos assintomáticos não é recomendado, mesmo se o indivíduo se enquadrar em um ou mais fatores de risco (CDC, 2021c).

Em agosto de 2022, o MS atualizou o PCDT para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis, nesse documento, MG é citado como possível agente etiológico para cervicites, uretrites e doença inflamatória pélvica, sendo mencionado caso o laboratório opte por usar um kit de biologia molecular que detecte mais patógenos simultaneamente, entre eles MG. É recomendado, também, o tratamento com azitromicina em casos de uretrite por MG. O PCDT informa que existem casos de resistência em outros países, mas não há nenhum dado nacional, enfatizando a necessidade de vigilância deste patógeno no Brasil (BRASIL, 2022a).

2.8 TRATAMENTO DE *Mycoplasma genitalium* E RESISTÊNCIA AOS ANTIMICROBIANOS

Durante a infecção, MG é encontrado no núcleo da célula hospedeira, fazendo com que possa estar inacessível ao sistema imune e aos antimicrobianos (UENO *et al.*, 2008; VAN DER SCHALK; BRAAM; KUSTERS, 2020). MG é um microrganismo desprovido de parede celular, sendo intrinsecamente resistente aos antimicrobianos que atuam nesta estrutura bacteriana, como os beta-lactâmicos. Com isso, no Brasil, o MS preconiza a azitromicina como opção terapêutica, já na diretriz europeia de manejo da infecção por MG, a primeira opção terapêutica consiste no uso de azitromicina e o moxifloxacino como segunda opção (BRASIL,

2022a; JENSEN et al., 2022). Entretanto existe a preocupação a respeito da administração desses antimicrobianos devido a falhas terapêuticas devido a grande capacidade do microrganismo de desenvolver resistência aos macrolídeos e às fluoroquinolonas, já havendo o constante aumento de resistência a eles (HORNER; BLEE; ADAMS, 2014; RIVAYA et al., 2022).

A resistência aos macrolídeos é ocasionada por mutações na região V da subunidade 23S do RNA ribossômico (RNAr) nas posições 2058 ou 2059 (numeração de *Escherichia coli*). Já a resistência à fluoroquinolonas é desenvolvida por mutações na topoisomerase IV (codificada pelo gene *parC*) ou na subunidade da DNA girase (codificada pelo gene *gyrA*) (TAGG et al., 2013), embora mutações em *gyrA* sozinhas não levem necessariamente a falha no tratamento, mas podem potencializar o efeito da resistência por mutações em *parC* (JENSEN et al., 2022; RIVAYA et al., 2022). O Protocolo Europeu para o Manejo de Infecções por MG de 2021, recomenda que todas as amostras detectadas com MG devem passar por testes capazes de avaliar a resistência a macrolídeos para evitar falhas terapêuticas (JENSEN et al., 2022).

Considerando que a resistência em MG raramente é identificada fenotipicamente, esses perfis de resistência podem ser detectados a partir de sequenciamento genético, como por exemplo o sequenciamento tipo Sanger, verificando polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs, do inglês *Single Nucleotide Polymorphisms*) na subunidade 23S do RNAr, e nos genes *parC* e/ou *gyrA*. Estudos como o de Twin e colaboradores (2012), utilizando amostras pré e pós-tratamento, mostram que é possível identificar a presença de SNPs após tratamento com antimicrobianos, indicando que a pressão seletiva do próprio tratamento pode selecionar microrganismos resistentes.

3 JUSTIFICATIVA

O estudo “Implantação da rede de serviços para acesso a testes de biologia molecular para detecção de Papilomavírus em mulheres vivendo com o HIV no âmbito do SUS”, do qual as amostras são provenientes, teve seu foco na detecção de HPV em MVHIV por métodos moleculares e, a partir dos resultados obtidos, se observou a oportunidade de se conhecer nessa população os dados de coinfeção por outros patógenos responsáveis por causar as ISTs mais comuns. Diante do cenário apresentado, CT, NG e TV são responsáveis pelas ISTs mais comuns no mundo e apresentam-se como importantes fatores de risco de aquisição e transmissão de HIV. Em contrapartida, MG é um microrganismo pouco estudado, não tendo seu diagnóstico bem estabelecido no país e sem dados nacionais de perfil de resistência aos antimicrobianos. Visto a crescente importância de MG em outros países, sendo detectado em diferentes populações e ainda apresentando resistência aos antimicrobianos (RIVAYA *et al.*, 2022), os resultados do presente estudo têm potencial de entregar importantes resultados para a saúde pública brasileira.

4 OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GERAL

Detectar *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* em amostras de conteúdo vaginal detectadas e não detectadas para HPV provenientes de mulheres vivendo com HIV no Brasil.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar a prevalência de *Mycoplasma genitalium*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* e *Trichomonas vaginalis* nas amostras do estudo.
- Determinar a presença de coinfeção de HIV-HPV com *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis* em MVHIV no Brasil, correlacionando com fatores de risco.
- Avaliar a presença de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) em genes que predizem resistência aos antimicrobianos macrolídeos e fluoroquinolonas em amostras detectadas para *Mycoplasma genitalium*.
- Comparar duas metodologias de PCR em tempo real para detecção de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae*.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 COMITÊ DE ÉTICA

O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH/UFSC) sob número de protocolo CAAE 64909422.0.0000.0121.

Conforme documento Anexo A (CARTA DE MANIFESTAÇÃO DE CONCORDÂNCIA), o Ministério da Saúde autoriza e estimula a execução do presente estudo.

5.2 LOCAL DE ESTUDO E AMOSTRAGEM

O estudo foi realizado no Laboratório de Biologia Molecular, Microbiologia e Sorologia (LBMMS/CCS/UFSC), localizado no Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago da Universidade Federal de Santa Catarina (HU/UFSC/EBSERH). As amostras foram provenientes do projeto “Implantação da rede de serviços para acesso a testes de biologia molecular para detecção de Papilomavírus em mulheres vivendo com o HIV no âmbito do SUS” sob número de protocolo CAAE: 43223521.7.2001.0121. sob número de protocolo CAAE: 43223521.7.2001.0121 e possuíam volume suficiente para o presente estudo.

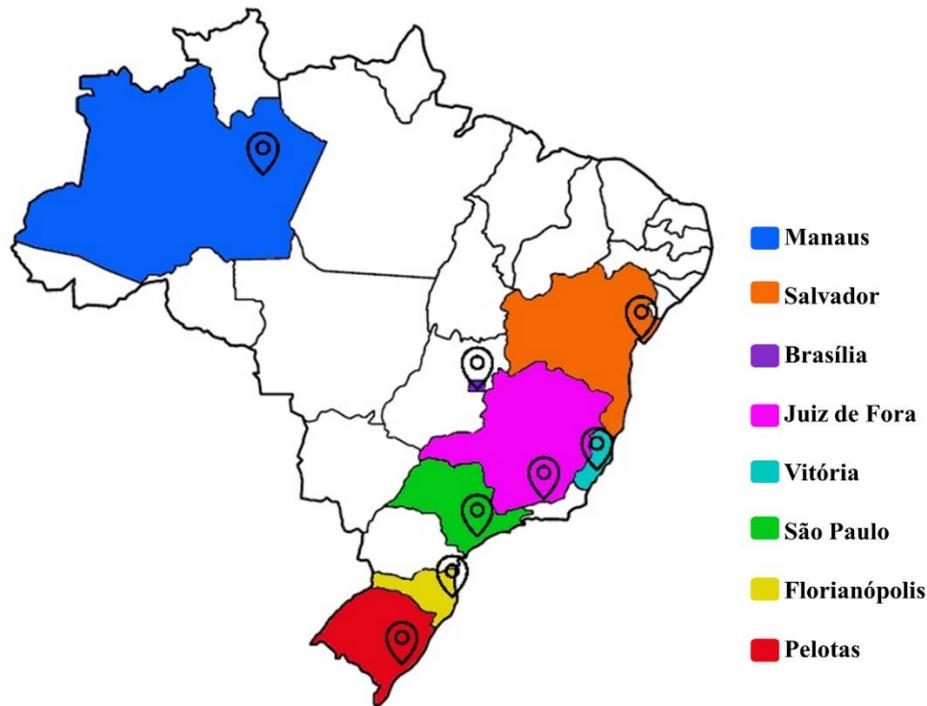
Ao todo, 355 amostras, que já possuíam o material genético extraído e detecção de HPV realizada, foram contempladas do total de amostras coletadas no estudo de âmbito nacional, com uma distribuição selecionada da seguinte maneira:

1. 188 Amostras com HPV de alto risco detectadas no estudo nacional;
2. 72 Amostras com HPV de baixo risco detectadas no estudo nacional;
3. 95 Amostras com HPV não detectado no estudo nacional.

Em 45 das 188 amostras com HPV de alto risco, ainda há coinfeção com HPV de baixo risco. Todas as amostras foram codificadas e desvinculadas de qualquer identificação da paciente e são provenientes de MVHIV, com idade entre 18 e 64 anos e que já tiveram relações sexuais. Estas mulheres eram assintomáticas, em uso de TARV e realizam acompanhamento da infecção por HIV em serviços de saúde ambulatoriais de oito municípios/estados brasileiros participantes, sendo eles: São Paulo/São Paulo, Vitória/Espírito Santo, Brasília/Distrito Federal,

Manaus/Amazonas, Florianópolis/Santa Catarina, Salvador/Bahia, Juiz de Fora/Minas Gerais e Pelotas/Rio Grande do Sul (Figura 4). Ainda, as amostras foram separadas por região geográfica brasileira, sendo 82 da região sul, 83 da região sudeste, 58 da região centro-oeste, 63 da região nordeste e 69 da região norte.

Figura 4 Mapa do Brasil indicando os municípios/estados participantes do projeto.



Fonte: Imagem de autoria própria.

5.3 PCR EM TEMPO REAL

Para a detecção de *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* e *Trichomonas vaginalis* foi realizada PCR em tempo real com o kit comercial *Allplex™ CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®) conforme instruções do fabricante. As reações foram conduzidas utilizando o termociclador em tempo real *CFX96™ IVD Real-time PCR System* (Bio-Rad®), e o resultado foi visualizado utilizando o programa *Seegene Viewer* (Seegene®).

O kit *Abbott RealTime CT/NG Assay* (Abbott®) teve os resultados de *Chlamydia trachomatis* e *Neisseria gonorrhoeae* utilizados no presente estudo, porém foi executado em outra ocasião, na plataforma automatizada *m2000*.

5.4 AMPLIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA A ANTIMICROBIANOS E PURIFICAÇÃO DOS PRODUTOS DE PCR

Nas amostras em que MG foi detectado na PCR em tempo real, foi realizada uma *Nested* PCR convencional para amplificação dos alvos *gyrA*, *parC* e 23S do RNAr, com iniciadores (Tabela 1) e protocolo previamente adaptado pelo grupo de pesquisa do LBMMS, conforme o trabalho de Pitt e colaboradores (2018), visando a análise dos genes que predizem a resistência aos antimicrobianos. O master-mix da primeira etapa da PCR para amplificação do 23S do RNAr com volume final de 25 μ L continha 0,4 μ M de cada iniciador, 2 mM MgCl₂, 5 μ L de tampão Taq polimerase (Promega®), 200 μ M de cada dATP, dTTP, dCTP e dGTP, 3,75 U Taq DNA polimerase (Promega®) e 5 μ L de DNA. Para amplificação foi utilizado, em todas as etapas, o termociclador *Applied Biosystems*TM 2720 (Thermo Fisher Scientific®), com o seguinte protocolo para 23S do RNAr: 3 minutos a 94 °C, 35 ciclos nas temperaturas 94 °C, 55 °C e 72 °C durante 1 minuto, 30 segundos e 1 minuto, respectivamente, e um ciclo final de 72 °C por 10 minutos.

O master-mix para a primeira etapa da PCR para amplificação de *gyrA* e *parC* continha 0,3 μ M de cada iniciador, 2 mM MgCl₂, 5 μ L de tampão Taq polimerase (Promega®), 200 μ M de cada dATP, dTTP, dCTP e dGTP, 1,25 U Taq DNA polimerase (Promega®) e 5 μ L de DNA para um volume final de 25 μ L. A programação dos ciclos ocorreu da seguinte forma: 1 minuto a 94 °C, 40 ciclos nas temperaturas 94 °C, 57 °C e 72 °C durante 30 segundos, 30 segundos e 1 minuto, respectivamente, e um ciclo final de 72 °C por 10 minutos.

Para amplificação, na segunda etapa, do alvo 23S do RNAr, o master-mix continha 0,5 μ M de cada iniciador, 2 mM MgCl₂, 5 μ L de tampão Taq polimerase (Promega®), 200 μ M de cada dATP, dTTP, dCTP e dGTP, 3,75 U Taq DNA polimerase (Promega®) e 1 μ L de amplicon da primeira PCR para um volume final de 20 μ L. A programação no termociclador foi: 3 minutos a 95 °C, 40 ciclos nas temperaturas 95 °C, 60 °C e 72 °C durante 15 segundos, 15 segundos e 10 segundos, respectivamente, e um ciclo final de 72 °C por 10 minutos.

Para amplificação, na segunda etapa, do alvo *parC*, o master-mix continha 0,2 μ M de cada iniciador, 2 mM MgCl₂, 5 μ L de tampão Taq polimerase (Promega®), 200 μ M de cada dATP, dTTP, dCTP e dGTP, 1,25 U Taq DNA polimerase (Promega®) e 1 μ L de amplicon da primeira PCR para um volume final de 25 μ L. Por fim, para amplificação, na segunda etapa, do alvo *gyrA* visando volume final de 25 μ L, o master-mix continha 0,3 μ M de cada iniciador, 2 mM MgCl₂, 5 μ L de tampão Taq polimerase (Promega®), 200 μ M de cada dATP, dTTP, dCTP

e dGTP, 1,25 U Taq DNA polimerase (Promega®) e 1 µL de amplicon da primeira PCR. Estas duas últimas com o mesmo protocolo no termociclador, com a seguinte programação: 1 minuto a 94 °C, 40 ciclos de 94 °C, 57 °C e 72 °C durante 30 segundos, 30 segundos e 1 minuto, respectivamente, e um ciclo final de 72 °C por 10 minutos.

Tabela 1 Relação dos iniciadores empregados para amplificação de 23S do RNAr, *gyrA* e *parC* nas reações de *Nested* PCR.

Genes	Iniciadores	Descrição	Sequência 5' – 3'	Tamanho dos produtos (pb)
23S RNAr	23Snest F	23S rRNA round 1 F	AGTGAACGAGTGATCAAGTAG C	785
	23Snest R	23S rRNA round 1 R	TCTAAATACGATTTCCAAC CG	
	F1-Mg	23S rRNA round 2 F	GAAGGAGGTTAGCAATTTATTGC	266
	R1-Mg	23S rRNA round 2 R	TTCTCTACATGGTGGTGTTTTG	
<i>gyrA</i>	GyrA nest F	<i>gyrA</i> round 1 F	GCTAGAGATGGACTTAAACCAG	251
	GyrA nest R	<i>gyrA</i> round 1 R	TGTGCAGCAGGTCTATCACC	
	GyrA F	<i>gyrA</i> round 2 F	TATGGTGCTTATATTGGTGGC	151
	GyrA R	<i>gyrA</i> round 2 R	ATCTTAATG AAA AGT CTTGAG CC	
<i>parC</i>	ParC nest F	<i>parC</i> round 1 F	CTTTACCTGATCTAAGAGATGGG	251
	ParC nest R	<i>parC</i> round 1 R	ATTATCCCCATCCACTGAACC	
	ParC F	<i>parC</i> round 2 F	GCTTAAAACCCACCACTCC	139
	ParC R	<i>parC</i> round 2 R	GTTGTTTCAGTTGTTCTTTCAGC	

pb: pares de base

Após esta etapa, os produtos de PCR foram purificados utilizando o kit de purificação *High Pure Product Purification Kit* (Roche®) conforme instruções do fabricante, e posteriormente visualizados por meio de gel de agarose 1,5% corado com brometo de etídio no transiluminador *ImageQuant™ LAS 500* (GE Healthcare Bio-Sciences AB®), seguido pela quantificação do produto amplificado que foi realizada no espectrofotômetro *NanoVue Plus™* (General Electric®).

5.5 SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER

O sequenciamento tipo Sanger foi realizado pela empresa ACTGene Análises Moleculares LDTA (Rio Grande do Sul - Brasil), utilizando a plataforma ABI 3.500 (Applied Biosystems®). Para o envio do material, as amostras foram distribuídas em uma placa de 96 poços, sendo que para cada alvo foram utilizados dois poços, um para o iniciador senso e outro para o antissenso. Em cada poço foram adicionados entre 30 e 100 ng do produto de PCR

purificado e 2,5 pmol de iniciador senso ou antisenso. Em seguida, a placa foi selada e preparada para transporte até a empresa.

5.6 ANÁLISE DO SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER

A qualidade do sequenciamento foi avaliada utilizando o programa Chromas (Technelysium; disponível em: <http://technelysium.com.au/wp/chromas/>). Regiões com baixa qualidade no início e final das leituras (qualidade Phred abaixo de 20) foram retiradas utilizando este mesmo programa. A montagem dos *contigs* (união das sequências senso e antissenso) foi realizada utilizando o programa CAP3 (disponível em: <http://doua.prabi.fr/software/cap3>). Ao final, a sequência contínua resultante da montagem das leituras foi alinhada com uma sequência de referência de *Mycoplasma genitalium* (GenBank: L43967.2) utilizando o programa MEGA (disponível em: <https://www.megasoftware.net/>) para identificação visual dos SNPs nos genes *parC* nos nucleotídeos nas posições 247, 248 e 259, *gyrA* nas posições 267, 277, 285 e 295, e na subunidade 23S do RNAr nas posições 2058 e 2059.

5.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As análises estatísticas foram realizadas utilizando o Software IBM SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*, versão 29). As variáveis nominais “idade” “raça/cor”, “escolaridade”, “tabagismo”, “número de parceiros sexuais no último ano”, “número de parceiros sexuais durante a vida”, “relação sexual no último mês” e “vive com o companheiro/a” foram sumarizadas como números absolutos e percentuais; já as variáveis numéricas como idade foram sumarizadas como frequências. A associação entre as variáveis foi analisada pelo teste de qui quadrado em um nível de significância de 95%.

A determinação da concordância entre os resultados de CT e NG com os kits *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* e *Abbott RealTime CT/NG Assay* foi avaliada pelo coeficiente de Kappa. O índice de concordância de Kappa é uma medida entre dois ou mais avaliadores, ou métodos, que mensura o grau de concordância entre os resultados, corrigida ainda pela frequência com que os métodos podem concordar ao acaso.

6 RESULTADOS

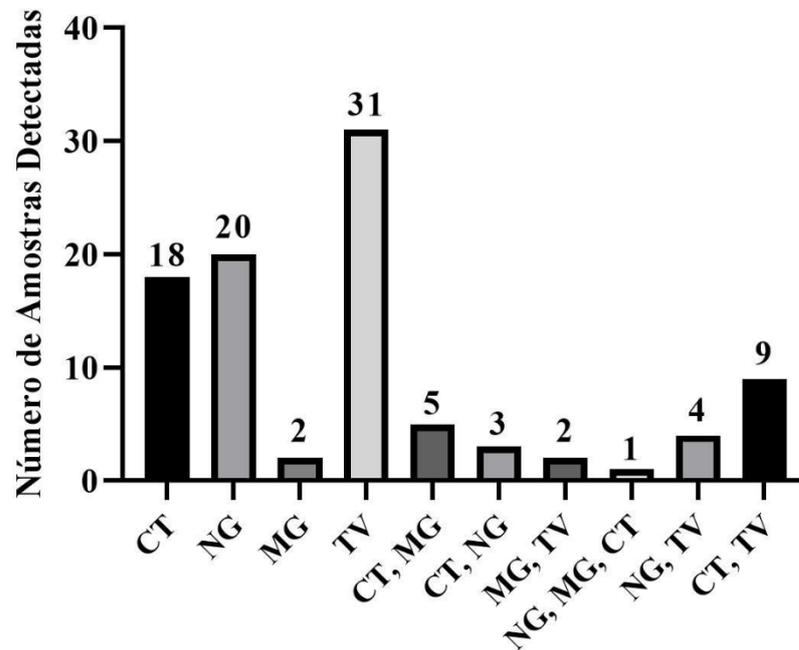
6.1 CARACTERÍSTICAS DA POPULAÇÃO

Dentre as 355 amostras de conteúdo vaginal de 355 MVHIV, a média de idade foi de 45 anos (19 - 67 anos), sendo que a faixa etária de 36 a 50 anos representou 45,3% do total de amostras. Declaram ter cursado ensino médio completo 33,0% delas, 44,5% se autodeclararam pardas. Quanto ao tabagismo, 49,8% nunca fumaram. Sobre os fatores de risco a maioria (55,7%) declarou que teve de um a cinco parceiros sexuais durante a vida, e 59,1% das participantes relataram apenas um parceiro sexual no último ano; 53,2% responderam que mantiveram relações sexuais no último mês, e 54,6% não vivem com um companheiro, por diferentes motivos (solteira, viúva ou divorciada).

6.2 DETECÇÃO DE *Mycoplasma genitalium*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* E *Trichomonas vaginalis*

Todas as amostras de conteúdo vaginal foram amplificadas por PCR em tempo real. Os resultados detectados obtidos utilizando o kit *CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®) podem ser visualizados na Figura 5, na qual as infecções e coinfeções estão evidenciadas. Das 355 amostras, 260 foram não detectadas (73,2%), 18 com CT detectado (5,1%), 20 com NG detectado (5,6%), duas com MG detectado (0,6%), 31 com TV detectado (8,6%), cinco com CT e MG detectados (1,4%), duas com MG e TV detectados (0,6%), uma com NG, MG e CT detectados (0,3%), quatro com NG e TV detectados (1,1%) e nove com CT e TV detectados (2,5%).

Figura 5 Amostras detectadas por PCR em tempo real para os patógenos CT, NG, MG e TV utilizando o kit *CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®)



Comparação do resultado das amostras detectadas para cada patógeno e coinfeções. CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis* (imagem gerada no programa GraphPad Prism 8).

Em nosso estudo, foi encontrada uma alta prevalência de TV, CT e NG, sendo que, desconsiderando coinfeções entre CT, NG, MG e TV, o patógeno com maior prevalência foi TV (13,0%), seguido por CT (10,1%), NG (7,9%) e MG (2,8%). É importante lembrar que as participantes do estudo eram assintomáticas, em uso de TARV e provavelmente algumas em profilaxia com antimicrobianos.

No quadro apresentado no Anexo B é possível observar os resultados obtidos na PCR em tempo real com os respectivos valores de C_q nas amostras detectadas. As variáveis de cada participante foram analisadas e comparadas de acordo com o resultado encontrado na PCR em tempo real para detecção de CT, NG, MG e TV e podem ser observadas na Tabela 2.

Observa-se que CT foi mais comum em mulheres de 26 a 35 anos ($n = 13/36$, $P < 0,001$), pardas ($n = 14/36$, $P = 0,745$), solteiras ($n = 18/36$, $P = 0,074$), com ensino médio completo ($n = 15/36$, $P = 0,773$) e que nunca fumaram ($n = 20/36$, $P = 0,456$). Além disso, CT também foi mais comum em mulheres que possuíam apenas um parceiro sexual no último ano ($n = 22/36$,

$P = 0,013$) e entre um e cinco parceiros sexuais durante a vida ($n = 17/36$, $P = 0,232$), com a maioria relatando relações sexuais no último mês ($n = 23/36$, $P = 0,177$).

NG foi mais comum em mulheres com mais de 50 anos ($n = 12/28$, $P < 0,001$), pardas ($n = 15/28$, $P = 0,819$), que vivem com o companheiro/a ($n = 12/28$, $P = 0,804$), com ensino médio completo ($n = 11/28$, $P = 0,630$) e que nunca fumaram ($n = 16/28$, $P = 0,733$). Também, foi mais comum em mulheres que possuíam apenas um parceiro sexual no último ano ($P = 0,623$) e entre um e cinco parceiros sexuais durante a vida ($n = 17/28$, $P = 0,356$), com a maioria relatando ter mantido relações sexuais no último mês ($n = 16/28$, $P = 0,666$).

MG foi detectado mais comumente em mulheres de 26 a 35 anos ($n = 8/10$, $P < 0,001$), pardas ($n = 5/10$, $P = 0,961$), solteiras ($n = 6/10$, $P = 0,181$) e que nunca fumaram ($n = 5/10$, $P = 0,705$). Metade das mulheres com MG detectado possuíam apenas um parceiro sexual e metade possuíam dois ou mais ($P = 0,002$) e entre um e cinco parceiros sexuais durante a vida ($n = 6/10$, $P = 0,318$), com a maioria relatando relações sexuais no último mês ($n = 8/10$, $P = 0,085$).

TV foi encontrado mais regularmente em mulheres de 36 a 50 anos ($n = 23/46$, $P = 0,098$), pardas ($n = 25/45$, $P = 0,113$), que vivem com o companheiro/a ($n = 22/46$, $P = 0,452$), com ensino fundamental incompleto ($n = 15/46$, $P = 0,137$) e ex-fumantes ($n = 21/46$, $P = 0,029$). Ademais, foi mais visto em mulheres que possuíam apenas um parceiro sexual no último ano ($P = 0,101$) e entre 1 e 5 parceiros sexuais durante a vida ($n = 22/46$, $P = 0,109$), ainda com a maioria relatando ter mantido relações sexuais no último mês ($n = 30/46$, $P = 0,081$).

Tabela 2 Distribuição de variáveis de acordo com a detecção de CT, NG, MG e TV.

Variáveis	Total (355)	CT	Não detectado	NG	Não detectado	MG	Não detectado	TV	Não detectado
Idade									
≤25 anos (%)	17	6 (16,7)	11 (3,5)	6 (21,6)	11 (3,4)	1 (10,0)	16 (4,7)	0 (0,0)	17 (5,5)
26 e 35 anos (%)	48	13 (36,1)	35 (11,0)	1 (3,6)	47 (14,4)	8 (80,0)	40 (11,6)	10 (21,7)	38 (12,3)
36 e 50 anos (%)	161	11 (30,6)	150 (47,2)	9 (32,1)	152 (46,6)	1 (10,0)	160 (46,5)	23 (50,0)	138 (44,8)
>50 anos (%)	128	6 (16,7)	122 (38,4)	12 (42,9)	116 (35,6)	0 (0,0)	128 (37,2)	13 (28,3)	115 (37,3)
P			<0,001		<0,001		<0,001		0,098
Raça/cor									
Preta (%)	87	12 (33,3)	75 (23,6)	7 (25,0)	80 (24,5)	3 (30,0)	84 (24,4)	14 (31,1)	73 (23,6)
Branca (%)	106	10 (27,8)	96 (30,2)	6 (21,4)	100 (30,7)	2 (20,0)	104 (30,2)	6 (13,3)	100 (32,4)
Parda (%)	158	14 (38,9)	144 (45,3)	15 (53,6)	143 (43,9)	5 (50,0)	153 (44,5)	25 (55,6)	133 (43,0)
Amarela (%)	2	0 (0,0)	2 (0,6)	0 (0,0)	2 (0,6)	0 (0,0)	2 (0,6)	0 (0,0)	2 (0,6)
Indígena (%)	1	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)	0 (0,0)	1 (0,3)
P			0,745		0,819		0,961		0,113
Escolaridade									
Ensino fundamental incompleto (%)	110	9 (25,0)	101 (31,7)	6 (21,4)	104 (31,8)	2 (20,0)	108 (31,3)	15 (32,6)	95 (30,7)
Ensino fundamental completo (%)	45	4 (11,1)	41 (12,9)	2 (7,1)	43 (13,1)	1 (10,0)	44 (12,8)	6 (13,0)	39 (12,6)
Ensino médio incompleto (%)	18	3 (8,3)	15 (4,7)	3 (10,7)	15 (4,6)	1 (10,0)	17 (4,9)	4 (8,7)	14 (4,5)

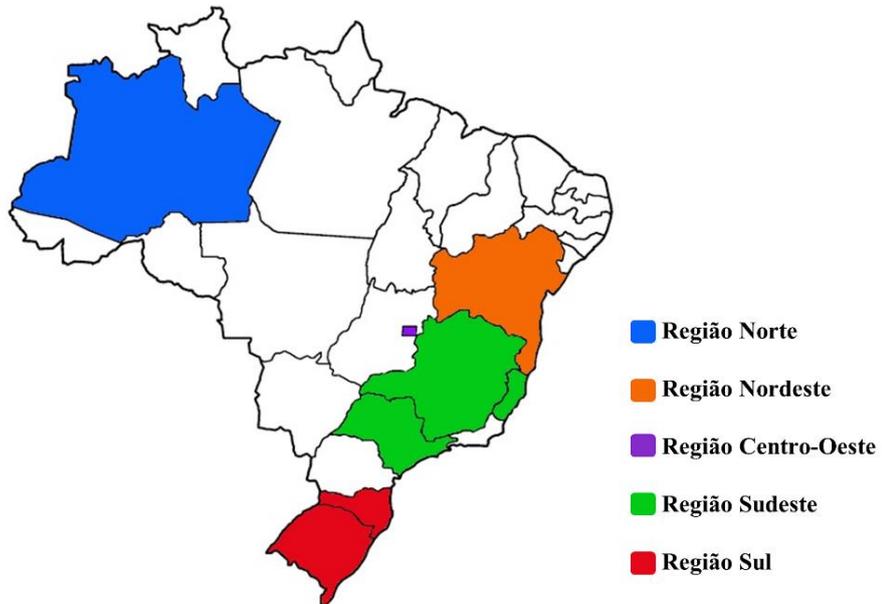
Variáveis	Total (355)	CT	Não detectado	NG	Não detectado	MG	Não detectado	TV	Não detectado
Ensino médio completo (%)	117	15 (32,0)	102 (32,0)	11 (39,3)	106 (32,4)	2 (1,7)	115 (33,3)	11 (23,9)	106 (34,3)
Graduação (%)	25	3 (8,3)	22 (6,9)	2 (7,1)	23 (7,0)	2 (20,0)	23 (6,7)	1 (2,2)	24 (7,8)
Curso técnico (%)	12	1 (2,8)	11 (3,4)	1 (3,6)	11 (3,4)	1 (10,0)	11 (3,2)	1 (2,2)	11 (3,6)
Pós-graduação (%)	12	0 (0,0)	12 (3,8)	2 (7,1)	10 (3,1)	0 (0,0)	12 (3,5)	3 (6,5)	9 (2,9)
Não respondeu (%)	16	1 (2,8)	15 (4,7)	1 (3,6)	15 (4,6)	1 (10,0)	15 (4,3)	5 (10,9)	11 (3,6)
P			0,773		0,630		0,505		0,137
Tabagismo									
Fumante atual (%)	74	8 (20,9)	66 (20,7)	5 (17,9)	69 (21,2)	3 (30,0)	71 (20,6)	8 (17,4)	66 (21,4)
Nunca fumou (%)	177	20 (57,1)	157 (49,2)	16 (57,1)	161 (49,4)	5 (50,0)	172 (50,0)	17 (37,0)	160 (51,9)
Ex-fumante (%)	103	7 (20,0)	96 (30,1)	7 (25,0)	96 (29,4)	2 (20,0)	101 (29,4)	21 (45,7)	82 (26,6)
P			0,456		0,733		0,705		0,029
Número de parceiros sexuais no último ano									
Um	210	22 (61,1)	188 (60,3)	14 (51,9)	196 (61,1)	5 (50,0)	205 (60,7)	26 (60,5)	184 (60,3)
Dois ou mais	49	10 (27,8)	39 (12,5)	5 (18,5)	44 (13,7)	5 (50,0)	44 (13,0)	10 (23,3)	39 (12,8)
Nenhum	89	4 (11,1)	85 (27,2)	8 (29,6)	81 (25,2)	0 (0,0)	89 (26,3)	7 (16,3)	82 (26,9)
P			0,013		0,623		0,002		0,101
Número de parceiros sexuais durante a vida									
Entre 1 e 5 (%)	198	17 (47,2)	181 (56,7)	17 (60,7)	181 (55,4)	6 (60,0)	192 (55,7)	22 (47,8)	176 (57,0)

Variáveis	Total (355)	CT	Não detectado	NG	Não detectado	MG	Não detectado	TV	Não detectado
Entre 6 e 10 (%)	74	10 (27,8)	64 (20,1)	3 (10,7)	71 (21,7)	1 (10,0)	73 (21,2)	11 (23,9)	63 (20,4)
Entre 11 e 20 (%)	32	2 (5,6)	30 (9,4)	2 (7,1)	30 (9,2)	1 (10,0)	31 (9,0)	1 (2,2)	31 (10,0)
Entre 21 e 50 (%)	18	2 (5,6)	16 (5,0)	2 (7,1)	16 (4,9)	0 (0,0)	18 (5,2)	4 (8,7)	14 (4,5)
Entre 51 e 100 (%)	5	2 (5,6)	3 (0,9)	0 (0,0)	5 (1,5)	1 (10,0)	4 (1,2)	2 (4,3)	3 (1,0)
Mais que 100 (%)	7	0 (0,0)	7 (2,2)	0 (0,0)	7 (2,1)	0 (0,0)	7 (2,0)	1 (2,2)	6 (1,9)
Não respondeu (%)	21	3 (8,3)	18 (5,6)	4 (14,3)	17 (5,2)	1 (10,0)	20 (5,8)	5 (10,9)	16 (5,2)
P			0,232		0,356		0,318		0,109
Relação sexual no último mês									
Sim (%)	189	23 (63,9)	166 (52,0)	16 (57,1)	173 (52,9)	8 (8,0)	181 (52,5)	30 (65,2)	159 (51,5)
Não (%)	166	13 (36,1)	153 (48,0)	12 (42,9)	154 (47,1)	2 (2,0)	64 (47,5)	16 (34,8)	150 (48,5)
P			0,177		0,666		0,085		0,081
Vive com o companheiro/a									
Não – Separada/ Divorciada (%)	53	2 (5,6)	51 (16,0)	5 (17,9)	48 (14,7)	0 (0,0)	53 (15,4)	6 (13,0)	47 (15,2)
Não – Solteira (%)	114	18 (50,0)	96 (30,1)	10 (35,7)	104 (31,8)	6 (60,0)	108 (31,3)	17 (37,0)	97 (31,4)
Não – Viúva (%)	27	2 (5,6)	25 (7,8)	1 (3,6)	26 (8,0)	0 (0,0)	27 (7,8)	1 (2,2)	26 (8,4)
Sim (%)	161	14 (38,9)	147 (46,1)	12 (42,9)	149 (45,6)	4 (40,0)	157 (45,5)	22 (47,8)	139 (45,0)
P			0,074		0,804		0,181		0,452

CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis*. Valor de P para teste de Qui-quadrado.

Ademais, os resultados de CT, NG, MG e TV foram analisados conforme a região geográfica do Brasil: norte, nordeste, centro-oeste, sudeste e sul (Figura 6). A região norte teve a maior porcentagem de TV (26,1%), já a região nordeste a maior porcentagem de CT (15,9%) e MG (4,8%), e a região sudeste a maior porcentagem de NG (12,0%).

Figura 6 Mapa e relação das amostras conforme as regiões brasileiras e estados participantes do estudo.



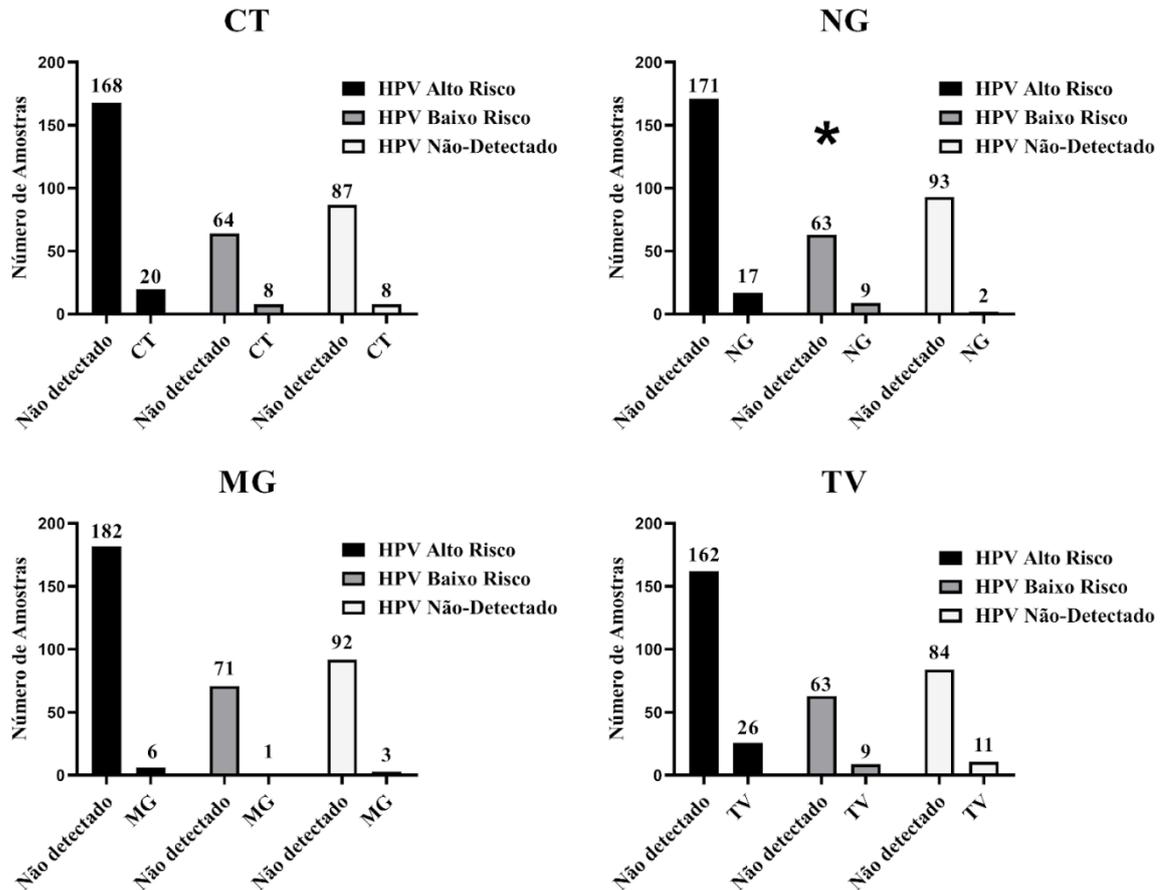
Região Norte	Região Nordeste	Região Centro-Oeste	Região Sudeste	Região Sul
CT 4,3% (3/69)	CT 15,9% (10/63)	CT 6,9% (4/58)	CT 12,0% (10/83)	CT 11,0% (9/82)
NG 10,1% (7/69)	NG 9,5% (6/63)	NG 1,7% (1/58)	NG 12,0% (10/83)	NG 4,9% (4/82)
MG 1,4% (1/69)	MG 4,8% (3/63)	MG 1,7% (1/58)	MG 3,6% (3/83)	MG 2,4% (2/82)
TV 26,1% (18/69)	TV 12,7% (8/63)	TV 1,7% (1/58)	TV 9,6% (8/83)	TV 13,4% (11/82)

Distribuição dos resultados de PCR em tempo real em relação às regiões brasileiras e seus estados participantes do estudo. Valores de *P* para teste de qui-quadrado não significativos. Imagem de autoria própria.

6.2 HPV, COINFECÇÕES E VARIÁVEIS

Como o estudo de âmbito nacional abrangeu e proporcionou resultados moleculares de HPV e seus subtipos, viu-se a oportunidade de aliar os dados de amostras com HPV não detectado, HPV de alto e baixo risco com os resultados de CT, NG, MG e TV. Primeiramente, comparando a detecção de cada patógeno (CT, NG, MG e TV) em amostras HPV não detectado, HPV alto risco detectado ou HPV baixo risco detectado (Figura 7).

Figura 7 Comparação de cada patógeno com amostras com HPV de alto, baixo risco e sem HPV detectado.



Os patógenos CT, NG, MG e TV foram analisados individualmente comparando com HPV de alto risco, baixo risco detectados e amostras sem HPV detectado. Valores de P para teste de qui-quadrado. Diferença significativa representada por * $P = 0,033$. CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis*. (imagem gerada no programa GraphPad Prism 8).

Dentro das amostras analisadas, CT teve positividade em 10,6% das amostras com HPV de alto risco, 11,1% com HPV de baixo risco e 8,4% sem HPV detectado ($P = 0,805$); NG foi detectada em 9,0% das amostras com HPV de alto risco, 12,5% das amostras com HPV de baixo risco e 2,1% nas amostras não detectadas para HPV ($P = 0,033$); MG teve positividade em 3,2% das amostras com HPV de alto risco, 1,4% das amostras com HPV de baixo risco e 3,4% nas amostras não detectadas para HPV ($P = 0,714$); TV foi detectado em 13,8% das amostras com HPV de alto risco, 12,5% das amostras com HPV de baixo risco e 11,6% nas amostras não detectadas para HPV ($P = 0,861$).

Considerando os três critérios de escolha do estudo (188 amostras com HPV alto risco detectado, 72 com HPV baixo risco detectado e 95 com HPV não detectado), os resultados de CT, NG, MG e TV foram dispostos na Tabela 3.

Tabela 3 Resultados de CT, NG, MG e TV dentro dos critérios de escolha das amostras.

	Não detectado	CT	NG	MG	TV
HPV alto risco (188)	134	20	17	6	26
HPV baixo risco (72)	51	8	9	1	9
HPV não detectado (95)	75	8	2	3	11

CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis*.

Após isso, CT, NG, MG e TV foram considerados como “coinfecções”, em relação ao HIV, já que o estudo se dá em MVHIV, e foram comparados com HPV não detectado, HPV alto risco detectado e HPV baixo risco detectado. Assim, foi possível avaliar as características das participantes do estudo em relação a estas variáveis (Tabela 4).

Tabela 4 Distribuição das variáveis estudadas de acordo com a presença ou não de infecção de HPV de alto e baixo risco, além de coinfeção por CT, NG, MG e/ou TV no estudo.

Variáveis	Total (355)	Sem HPV e sem coinfeção	Sem HPV e com coinfeção	HPV de alto risco com coinfeção	HPV de alto risco sem coinfeção	HPV de baixo risco com coinfeção	HPV de baixo risco sem coinfeção	<i>P</i>
Idade								
≤25 anos (%)	17	1 (1,3)	0 (0,0)	8 (15,1)	4 (3,0)	1 (4,5)	3 (6,0)	<0,001
26 e 35 anos (%)	48	6 (7,9)	6 (30,0)	14 (26,4)	17 (12,8)	2 (9,1)	3 (6,0)	
36 e 50 anos (%)	161	38 (50,0)	11 (55,0)	16 (30,2)	68 (51,1)	8 (36,4)	20 (40,0)	
>50 anos (%)	128	21 (40,8)	3 (15,0)	15 (28,3)	44 (33,1)	11 (50,0)	24 (48,0)	
Raça/cor								
Preta (%)	87	13 (17,1)	12 (60,0)	12 (22,6)	36 (26,9)	4 (19,0)	10 (20,0)	0,023
Branca (%)	106	28 (36,8)	3 (15,0)	12 (22,6)	41 (30,6)	6 (28,6)	16 (32,0)	
Parda (%)	158	34 (44,7)	5 (25,0)	29 (54,7)	56 (41,8)	11 (52,4)	23 (46,0)	
Amarela (%)	2	1 (1,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (2,0)	
Indígena (%)	1	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (0,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Não respondeu (%)	1	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (4,5)	0 (0,0)	
Escolaridade								
Ensino fundamental incompleto (%)	110	26 (34,2)	5 (25,0)	13 (24,5)	43 (32,1)	8 (36,4)	15 (30,0)	0,850
Ensino fundamental completo (%)	45	11 (14,5)	2 (10,0)	11 (20,8)	15 (11,2)	0 (0,0)	6 (12,0)	

Variáveis	Total (355)	Sem HPV e sem coinfeção	Sem HPV e com coinfeção	HPV de alto risco com coinfeção	HPV de alto risco sem coinfeção	HPV de baixo risco com coinfeção	HPV de baixo risco sem coinfeção	<i>P</i>
Ensino médio incompleto (%)	18	3 (3,9)	2 (10,0)	2 (3,8)	5 (3,7)	3 (13,6)	3 (6,0)	
Ensino médio completo (%)	117	22 (28,9)	7 (35,0)	17 (32,1)	48 (35,8)	8 (36,4)	15 (30,0)	
Graduação (%)	25	5 (6,6)	2 (10,0)	2 (3,8)	10 (7,5)	1 (4,5)	5 (10,0)	
Curso técnico (%)	12	2 (2,6)	0 (0,0)	1 (1,9)	5 (3,7)	1 (4,5)	3 (6,0)	
Pós-graduação (%)	12	2 (2,6)	1 (5,0)	3 (5,7)	2 (1,5)	1 (4,5)	3 (6,0)	
Não respondeu (%)	16	5 (6,6)	1 (5,0)	4 (7,5)	6 (4,5)	0 (0,0)	0 (0,0)	
Tabagismo								
Fumante atual (%)	74	16 (21,1)	6 (30,0)	9 (17,0)	25 (18,7)	4 (19,0)	14 (28,0)	0,846
Nunca fumou (%)	177	41 (53,9)	9 (45,0)	25 (47,2)	71 (53,0)	10 (47,6)	21 (42,0)	
Ex-fumante (%)	103	19 (25,0)	5 (25,0)	19 (35,8)	38 (28,4)	7 (33,3)	15 (30,0)	
Número de parceiros sexuais no último ano								
Um	210	47 (63,5)	15 (75,0)	29 (56,9)	82 (61,7)	11 (55,0)	26 (52,0)	0,183
Dois ou mais	49	7 (9,5)	4 (20,0)	12 (23,5)	16 (12,0)	4 (20,0)	6 (12,0)	
Nenhum	89	20 (27,0)	1 (5,0)	10 (19,6)	35 (26,3)	5 (25,0)	18 (36,0)	
Número de parceiros sexuais durante a vida								
Entre 1 e 5 (%)	198	43 (56,6)	9 (45,0)	31 (58,5)	77 (57,5)	12 (54,5)	26 (52,0)	0,256
Entre 6 e 10 (%)	74	14 (18,4)	4 (20,0)	11 (20,8)	29 (21,6)	5 (22,7)	11 (22,0)	

Variáveis	Total (355)	Sem HPV e sem coinfeção	Sem HPV e com coinfeção	HPV de alto risco com coinfeção	HPV de alto risco sem coinfeção	HPV de baixo risco com coinfeção	HPV de baixo risco sem coinfeção	<i>P</i>
Entre 11 e 20 (%)	32	7 (9,2)	1 (5,0)	3 (5,7)	17 (12,7)	0 (0,0)	4 (8,0)	
Entre 21 e 50 (%)	18	6 (7,9)	2 (10,0)	3 (5,7)	2 (1,5)	2 (9,1)	3 (6,0)	
Entre 51 e 100 (%)	5	0 (0,0)	2 (10,0)	0 (0,0)	2 (1,5)	1 (4,5)	0 (0,0)	
Mais que 100 (%)	7	2 (2,6)	0 (0,0)	1 (1,9)	1 (0,7)	0 (0,0)	3 (6,0)	
Não respondeu (%)	20	4 (5,3)	2 (10,0)	4 (7,5)	6 (4,5)	1 (4,5)	3 (6,0)	
Relação sexual no último mês								
Sim (%)	189	38 (50,0)	17 (85,0)	32 (60,4)	70 (52,2)	12 (54,5)	20 (40,0)	0,022
Não (%)	166	38 (50,0)	3 (15,0)	21 (39,6)	64 (47,8)	10 (45,5)	30 (60,0)	
Vive com o companheiro/a								
Não – Separada/ Divorciada (%)	53	10 (13,2)	1 (5,0)	8 (15,1)	23 (17,2)	2 (9,1)	9 (18,0)	0,537
Não – Solteira (%)	114	22 (28,9)	7 (35,0)	22 (41,5)	43 (32,1)	9 (40,9)	11 (22,0)	
Não – Viúva (%)	27	6 (7,9)	0 (0,0)	2 (3,8)	10 (7,5)	2 (9,1)	7 (14,0)	
Sim (%)	161	38 (50,0)	12 (60,0)	21 (39,6)	58 (43,3)	9 (40,9)	23 (46,0)	

CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis*. Valor de *P* para teste de Qui-quadrado.

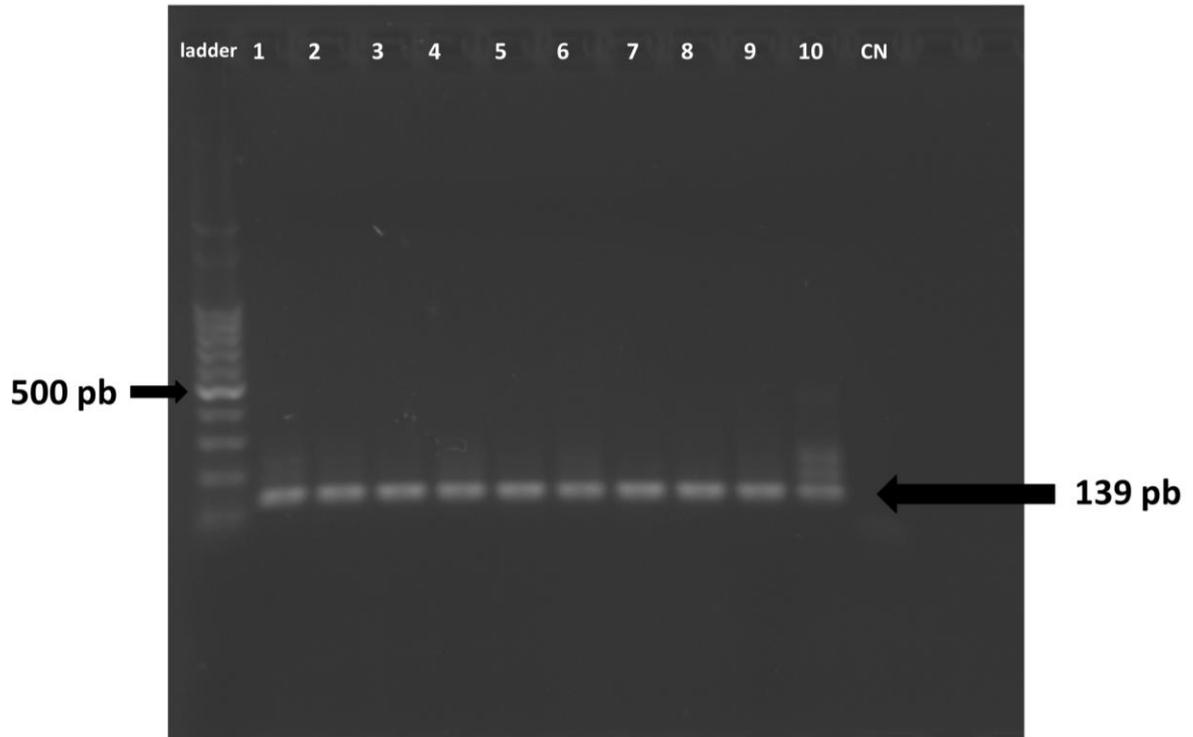
Nos grupos “sem HPV e sem coinfeções”, “sem HPV e com coinfeção”, “HPV de alto risco com coinfeção”, “HPV de alto risco sem coinfeção”, a faixa etária mais comum foi de 36 a 50 anos, pelas características populacionais do estudo. Já nos grupos “HPV de baixo risco com coinfeção” e “HPV de baixo risco sem coinfeção” a faixa etária mais comum foi > 50 anos. Em todos os grupos a maior prevalência foi em mulheres pardas, menos no grupo “sem HPV e com coinfeção”, sendo mais comum mulheres pretas.

Os grupos apresentaram maior prevalência de mulheres com ensino médio completo (menos os grupos “sem HPV e sem outras coinfeções” e “HPV de baixo risco sem coinfeção”, sendo ensino fundamental incompleto mais comum), que vivem com seu companheiro/a (menos o grupo “HPV de alto risco com coinfeção”, sendo mulheres solteiras mais prevalente), que nunca fumaram, um a cinco parceiros sexuais durante a vida, um parceiro sexual no último ano e mantiveram relações sexuais no último mês (menos o grupo “HPV de baixo risco sem coinfeção”, que declararam não ter relações sexuais no último mês).

6.3 AMPLIFICAÇÃO DOS GENES DE RESISTÊNCIA DE *Mycoplasma genitalium*

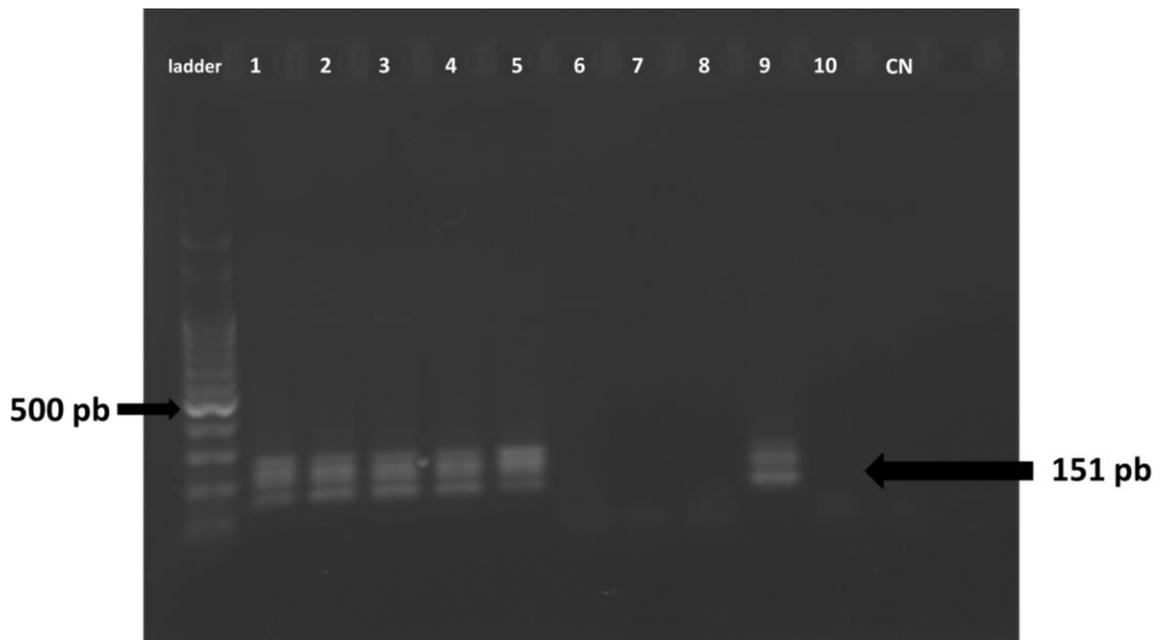
MG foi detectado na PCR em tempo real em 10 amostras, sendo assim para essas amostras foi realizada a *Nested* PCR visando amplificar os alvos *parC*, *gyrA* e 23S do RNAr. As figuras 8, 9 e 10 mostram os géis de agarose contendo os fragmentos amplificados após a *Nested* PCR.

Figura 8 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo *parC* para as 10 amostras analisadas.



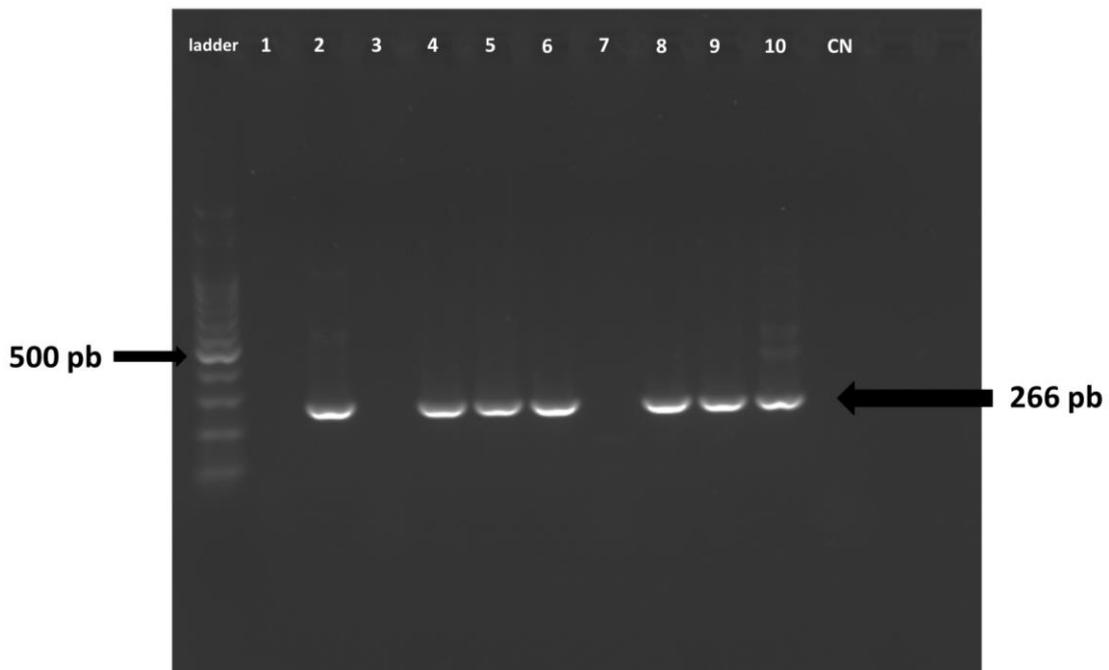
Legenda: pb: pares de bases; *ladder*: marcador de tamanho molecular 100pb. 1: PEL174; 2: PEL215; 3: SAO228; 4: BRA140; 5: SAL085; 6: MAN007; 7: SAL216; 8: JUI113; 9: JUI088; 10: SAL042.

Figura 9 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo *gyrA* para as 10 amostras analisadas.



Legenda: pb: pares de bases; *ladder*: marcador de tamanho molecular 100pb; CN: Controle negativo. 1: PEL174; 2: PEL215; 3: SÃO228; 4: BRA140; 5: SAL042; 6: SAL216; 7: MAN007; 8: JUI113; 9: JUI088; 10: SAL085.

Figura 10 Gel de agarose com os produtos da PCR do alvo 23S RNAr para as 10 amostras analisadas.



Legenda: pb: pares de bases; *ladder*: marcador de tamanho molecular 100pb. 1: SAL216; 2: PEL174; 3: BRA140; 4: SAL085; 5: MAN007; 6: SAO228; 7: JUI113; 8: PEL215; 9: JUI088; 10: SAL042.

Analisando a figura 8, é visto que para as 10 amostras o alvo *parC* foi amplificado; na figura 9, em seis amostras o alvo *gyrA* amplificou; e na figura 10, vemos que para sete amostras o alvo 23S RNAr foi amplificado. Dado que todas as amostras amplificaram o gene *parC*, deu-se continuidade ao sequenciamento.

6.4 SEQUENCIAMENTO TIPO SANGER

Neste estudo, todas as amostras detectadas para MG continham os genes *gyrA*, *parC* e 23S do RNAr selvagens, sem apresentar SNPs nas regiões associadas à resistência aos antimicrobianos macrolídeos e fluoroquinolonas.

6.5 COMPARAÇÃO DE METODOLOGIAS

Como já mencionado, o presente trabalho foi realizado com a metodologia de PCR em tempo real com o kit *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®). Entretanto, antes deste estudo, as mesmas amostras haviam sido testadas com o kit *RealTime CT/NG Assay* (Abbott®) na plataforma automatizada *m2000*, que só detecta dois dos quatro patógenos analisados no estudo, NG e CT. Assim, foi possível comparar a concordância entre as duas metodologias (Tabela 5).

Tabela 5 Concordância entre o kit *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* da Seegene e o Abbott® *RealTime CT/NG Assay*

Teste de Kappa Seegene X Abbott	
Valor de Kappa (IC 95%)	0,736 (0,637-0,815)
<i>P</i>	<0,001
Concordância	Muito boa

Valor de *P* para teste de Kappa

O kit da Seegene® detectou CT e/ou NG em 60 amostras, já o kit a Abbott® detectou CT e/ou NG em 76 amostras. Destes resultados, 52 deles coincidiram. Comparando com o Teste de Kappa, gerou um valor de 0,736.

Os valores de Kappa variam de 0 a 1, sendo uma concordância ruim os valores de Kappa entre 0,00 - 0,20; concordância razoável valores entre 0,20 - 0,40; concordância boa valores entre 0,40 - 0,60; concordância muito boa valores entre 0,60 - 0,80 e concordância excelente valores entre 0,80 - 1,00 (LANDIS; KOCH, 1977). Posto isto, um valor de Kappa de 0,736 é considerado uma concordância muito boa.

7 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo mostram uma alta prevalência de CT (10,1%), NG (7,9%) e TV (13,0%), e uma prevalência mais baixa de MG (2,8%) em MVHIV. Os dados na literatura a respeito de prevalência variam de acordo com a população analisada (LOWE *et al.*, 2019; BOLDRINI *et al.*, 2020; MANHART *et al.*, 2008; LEWIS *et al.*, 2012). Como este projeto compreende MVHIV, o fato de o vírus afetar diretamente o sistema imune do hospedeiro pode alterar as infecções por outros microrganismos, tornando-as mais persistentes e/ou graves (COHN; CLARK, 2003).

Em geral, a prevalência de CT pode ser comparada com a encontrada por Srifeungfung e colaboradores (2009), que detectaram 9,7% de CT em MVHIV na Tailândia por metodologia molecular, assim foi possível observar que a prevalência encontrada no presente estudo coincide com a relatada na Tailândia, que é um país em desenvolvimento assim como o Brasil. Porém, a prevalência observada em outros estudos é mais baixa, como o estudo de Silva e colaboradores (2012), realizado na cidade de Manaus, Brasil, que detectou 4,3% de CT e o estudo de Low e colaboradores (2014), que detectou 1,7% de CT em MVHIV em Burkina Faso, ambos estudos também em países em desenvolvimento.

Em uma revisão sistemática Naldini e colaboradores (2019) observaram que na coinfeção HPV-CT, mecanismos de modulação imune podem estar envolvidos com aumento de casos de CT em mulheres com HPV. Além disso, CT facilita a entrada e persistência do vírus na célula epitelial cervical, enquanto pode causar danos na mucosa e desempenhar um papel em perturbar e modular a resposta imune envolvida na eliminação do HPV. O risco de infecção por CT é aumentado em mulheres com HPV, especialmente naquelas com menos de 36 anos (NALDINI *et al.*, 2019), situação que coincide com os achados do presente estudo. Abreu e colaboradores (2016) observaram em seu estudo que coinfeção HPV-CT pode aumentar a carcinogênese cervical do HPV em até cinco vezes (ABREU *et al.*, 2016).

NG também teve prevalência alta, tendo resultados semelhantes aos encontrados por Boldrini e colaboradores (2020), em um estudo realizado na cidade de Vitória, Brasil, com MVHIV, em uma população com uma média de idade de 41 anos e com acompanhamento de rastreio de câncer cervical, detectando HPV de alto risco em 46,3% das mulheres. Contudo, a prevalência para TV e CT encontrada em Vitória, 5,0% e 3,0%, respectivamente, mais baixa que a do presente estudo. O estudo de Miranda e colaboradores (2017) traz uma prevalência

menor de 0,9% em MVHIV no Brasil, associando ainda que seria possível que as participantes do estudo fossem mais sujeitas a utilizar prescrições com antimicrobianos, por conta da infecção pelo HIV. De forma semelhante à CT, os casos de infecção por NG podem estar aumentados pelo fato de a população do estudo ter sido escolhida majoritariamente com HPV detectado, porém os fatores que contribuem para a prevalência das IST nessa população são muitos, especialmente, a amostragem deste estudo foi obtida em mulheres que buscam consulta (monitoramento) com infectologista.

Se referindo à prevalência de TV em MVHIV, o estudo de Price e colaboradores (2018) trouxe uma alta prevalência (20,0%) em MVHIV grávidas na África do Sul, elevando a importância da triagem de TV em MVHIV, especialmente grávidas, que o CDC recomenda. Em outro estudo conduzido no Zimbábue, foi encontrada uma prevalência de 8,0% de TV, em MVHIV predominantemente assintomáticas, entretanto os resultados de CT e NG foram reduzidos, 2,1% e 1,8%, respectivamente, quando comparados aos do presente estudo (LOWE *et al.*, 2019). Quinlivan e colaboradores (2012) demonstraram por meio de um modelo matemático que 23,0% das transmissões projetadas de HIV em mulheres foram atribuídas à infecção por TV, e que por volta de 2,0% de todos os casos de HIV nos Estados Unidos da América podem estar relacionados com a infecção por TV.

A prevalência de MG em outros estudos pode variar, como no estudo de Madsen e colaboradores (2017) foi encontrada uma prevalência mais baixa, de 1,3%, em MVHIV na Dinamarca, que é um país desenvolvido, onde é esperado ter uma menor prevalência. Já no estudo de Manhart e colaboradores (2008), uma prevalência de 17,0% foi relatada em MVHIV no Quênia, um país em desenvolvimento e com uma média de idade no estudo de 28 anos. Não há muitos estudos nacionais envolvendo HIV e MG, entretanto Costa e colaboradores (2015) avaliaram a prevalência de MG em homens vivendo com HIV e foi encontrado 5,8% de prevalência, com uma média de idade de 44 anos e assintomáticos. No presente trabalho, a idade média das participantes foi de 45 anos e em mulheres assintomáticas, contudo MG foi mais prevalente em mulheres de 25 a 36 anos, o que vai de acordo com a idade jovem, que é um fator de risco associado à infecção (SHIPITSYNA *et al.*, 2020). O cigarro, outro fator de risco descrito na literatura, não foi associado à infecção de MG neste estudo.

MG possui diversos fatores de risco associados à sua infecção que contribuem com a aquisição e transmissão de HIV, como uma maior expressão de genes responsáveis pela expressão de citocinas inflamatórias, conseqüentemente, gerando maior inflamação e resposta de leucócitos polimorfonucleares. Em contrapartida, MG pode ser apontado como um

microrganismo oportunista em pessoas imunocomprometidas (MAVEDZENGE; WEISS, 2009).

A coinfeção de maior prevalência foi entre CT e TV (2,5%), outros estudos como de Lowe e colaboradores (2019) apresentam uma prevalência menor (0,5%) em seu trabalho no Zimbábue em MVHIV, porém a literatura carece de estudos que avaliem coinfeções de CT, NG, MG e TV em MVHIV. Há trabalhos como de Upton e colaboradores (2018), em indivíduos sem HIV, onde os quatro patógenos foram avaliados (CT, NG, MG e TV) e foram detectadas coinfeções por CT e MG, CT e NG, MG e TV, e até mesmo NG, MG e CT (assim como detectado no presente estudo), este último com prevalência de < 1,0%.

É notório que CT, NG e TV podem contribuir com os danos causados pela infecção pelo HPV, contudo dados nacionais de coinfeção destas ISTs com HPV é limitado. Cunha e colaboradores (2020) desenvolveram um estudo no estado do Maranhão no qual determinaram que a infecção por HPV associada com outras ISTs era mais prevalente do que a infecção por HPV sozinha. Além disso, TV mostrou uma forte associação com a presença de HPV, o que, projetando para os resultados do presente estudo, pode explicar a alta prevalência do parasito. Dentre os resultados deste trabalho, CT, MG e TV não tiveram associação significativa com a presença de um tipo específico de HPV (alto ou baixo risco), com exceção de NG, que apresentou associação significativa, principalmente para HPV de baixo risco.

Outra coinfeção a ser discutida é HIV-HPV, dado que MVHIV possuem um maior risco de desenvolver câncer cervical por uma série de fatores. Por exemplo, elas são mais suscetíveis à aquisição da infecção por HPV e à persistência do vírus no corpo, além do fato do HIV ter um papel indireto na oncogênese por conta da supressão imunológica, principalmente em mulheres com uma contagem de células CD4+ menor e sem uso de TARV (STELZLE *et al.*, 2021). No presente estudo, não há dados de contagem de células CD4+ ou citologia cervical, o que seria interessante para avaliar a infecção destes patógenos nas mulheres. No entanto, dados (não apresentados) mostram que há uma baixa cobertura de exame de prevenção do câncer de colo do útero declarado por elas em questionário e, conseqüentemente, baixo número de consultas em ginecologista.

No que diz respeito às amostras de MG e seus perfis de resistência aos antimicrobianos, no Brasil, até o momento, não há estudos publicados que avaliem a resistência de MG aos antimicrobianos em amostras de MVHIV. Baseando-se em dados de estudos internacionais, a resistência de MG varia de acordo com cada tipo de população e região. Machalek e

colaboradores (2020) por meio de uma revisão sistemática e metanálise avaliaram a prevalência de mutações associadas à resistência a macrolídeos e fluoroquinolonas, nela foi exposto que alguns países como Rússia, Estônia e Bélgica apresentaram resistência a macrolídeos e fluoroquinolonas abaixo de 10%, enquanto outros países como Alemanha, Reino Unido, Estados Unidos e Austrália apresentaram resistência a macrolídeos maior que 50%.

Entretanto, Ong e colaboradores (2019) analisaram a resistência de MG a macrolídeos e fluoroquinolonas em amostras provenientes de MVHIV na África do Sul e não encontraram mutações no alvo 23S do RNAr e *gyrA*, apenas mutações no gene *parC*. Outros trabalhos com populações semelhantes encontram, assim como no presente estudo, uma baixa prevalência de MG, além de somente uma ou nenhuma amostra com mutação no alvo 23S do RNAr (MADSEN *et al.*, 2017; NGOBESE *et al.*, 2022). Isso pode demonstrar um padrão nas bactérias circulantes em MVHIV, com um perfil de resistência aos antimicrobianos menos frequente, ainda que necessite de mais estudos. Um padrão de uso de profilaxia com antimicrobianos é relatado por outros autores (MIRANDA *et al.*, 2017) em MVHIV, porém seria interessante levantar e analisar dados a respeito do padrão de uso de antimicrobianos dos indivíduos em que MG foi detectado, a fim de compreender se há uma relação significativa entre estes dados. O fato de não encontrar perfil de resistência nas amostras do estudo pode ser decorrente de uma subamostragem neste estudo, foram incluídas apenas 355 amostras oriundas do estudo nacional com 1914 amostras.

A comparação dos kits das empresas Seegene® e Abbott® gerou um Kappa de 0,736 que é considerado de concordância muito boa. O kit *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®) possui um limite de detecção para CT e NG de 10 cópias/reacção de gDNA, enquanto o kit *RealTime CT/NG Assay* (Abbott®) traz seu limite de detecção para os mesmos patógenos em 320 cópias de DNA plasmidial por 400 µL de tampão. Devido a essa diferença nas unidades de medida não é possível determinar de maneira precisa a diferença de sensibilidade dentre as amostras do presente estudo.

Cada kit tem suas vantagens e desvantagens, o da Abbott® é executado de forma automatizada, tendo assim menor interferência humana, sendo necessário uma rotina laboratorial maior, além de um volume de amostra maior quando comparado com a Seegene®. O kit da Seegene® é executado manualmente nas etapas de extração e PCR, porém satisfaz uma rotina pequena de amostras.

8 CONCLUSÃO

A prevalência de CT, NG, MG e TV em mulheres coinfectadas por HIV-HPV varia entre os patógenos. CT, NG e TV apresentaram uma alta prevalência no presente estudo, associada com elevada prevalência da infecção pelo HPV, esta última já esperada para a população vivendo com HIV. Já MG é um patógeno de importância em saúde pública, com número de casos e resistência aos antimicrobianos crescendo em diversos países. No entanto, neste estudo não foram encontradas mutações nos alvos que predizem a resistência a macrolídeos e fluoroquinolonas. Este estudo foi realizado com uma subamostragem do estudo nacional que verificou a prevalência da coinfeção por HPV em MVHIV no Brasil. Os resultados da detecção de CT, NG, MG e TV indicam a necessidade de ampliar o rastreio para as ISTs em populações vulneráveis como a deste estudo. Para isso, métodos moleculares para detecção destes patógenos são essenciais por serem mais sensíveis e específicos do que os métodos convencionais e por serem capazes de detectar microrganismos de difícil cultivo. Neste trabalho foram comparados dois kits de uso em território brasileiro, sendo eles *Allplex CT/NG/MG/TV Assay* (Seegene®) e *RealTime CT/NG Assay* (Abbott®), e foi observada uma concordância muito boa entre eles.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. L.; *et al.* Association of human papillomavirus, *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* co-infections on the risk of high-grade squamous intraepithelial cervical lesion. **American Journal of Cancer Research**, v. 6, n. 6, p. 1371–1383, 2016.
- ADEBAMOWO, S. N.; *et al.* *Mycoplasma hominis* and *mycoplasma genitalium* in the vaginal microbiota and persistent high-risk human papillomavirus infection. **Frontiers in Public Health**, v. 5, p. 1–10, 1 jun. 2017.
- ANAGRIUS, C.; LORÉ, B.; JENSEN, J. S. *Mycoplasma genitalium*: Prevalence, clinical significance, and transmission. **Sexually Transmitted Infections**, v. 81, n. 6, p. 458–462, dez. 2005.
- BANSAL, V.; *et al.* Accurate detection and genotyping of SNPs utilizing population sequencing data. **Genome Research**, v. 20, n. 4, p. 537–545, abr. 2010.
- BOLDRINI, N. A. T.; *et al.* Sexually transmitted infections among women living with HIV in a Brazilian city. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 25, n. 1, 1 jan. 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das ISTs, do HIV/AIDS e das Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Atenção Integral às Pessoas com Infecções Sexualmente Transmissíveis**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2022/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-atencao-integral-pessoas-com-infeccoes>. Acesso em: 18 ago. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das ISTs, do HIV/AIDS e das Hepatites Virais. **Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas para Manejo da Infecção pelo HIV em Adultos**. Brasília: Ministério da Saúde, 2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2013/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-adultos>. Acesso em: 20 jun. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância, Prevenção e Controle das ISTs, do HIV/AIDS e das Hepatites Virais. **Cuidado integral às pessoas que vivem com HIV pela Atenção Básica: manual para a equipe multiprofissional**. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/cuidado_integral_hiv_manual_multiprofissional.pdf. Acesso em: 17 jun. 2022.
- CAMPOS, G. B.; *et al.* Prevalence of *Mycoplasma genitalium* and *Mycoplasma hominis* in urogenital tract of Brazilian women. **BMC Infectious Diseases**, v. 15, n. 1, 12 dez. 2015.
- CANENE-ADAMS, K. General PCR. *Em: Methods in Enzymology*. [s.l.] Academic Press Inc., 2013. p. 291–298.
- CAZANAVE, C.; MANHART, L. E.; BÉBÉAR, C. *Mycoplasma genitalium*, an emerging sexually transmitted pathogen. **Medecine et Maladies Infectieuses**, set. 2012.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. **Chlamydial Infections**. 2021a. Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/chlamydia.htm>. Acesso em: 29 out. 2022.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. **Gonococcal Infections Among Adolescents and Adults**. 2021b. Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/gonorrhea-adults.htm>. Acesso em: 29 out. 2022.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines. **Mycoplasma genitalium**. 2021c. Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/mycoplasmagenitalium.htm>. Acesso em: 30 mai. 2022.

CDC. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted **Diseases**. **Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021**. 2021d. Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/provider-resources.htm>. Acesso em: 26 out. 2022.

CLIFFORD, G. M.; TULLY, S.; FRANCESCHI, S. Carcinogenicity of human papillomavirus (HPV) types in HIV-positive women: A meta-analysis from HPV infection to cervical cancer. **Clinical Infectious Diseases**, v. 64, n. 9, p. 1228–1235, 1 maio 2017.

COHN, S. E.; CLARK, R. A. Sexually transmitted diseases, HIV, and AIDS in women **Medical Clinics of North America**. W.B. Saunders, 2003.

COSSÉ, M. M.; HAYWARD, R. D.; SUBTIL, A. One face of chlamydia trachomatis: The infectious elementary body. Em: *Current Topics in Microbiology and Immunology*. [s.l.] **Springer Verlag**, 2018. p. 35–58.

COSTA, F. A. M.; *et al.* Prevalence of *Mycoplasma genitalium* among HIV-infected men in São Paulo city detected by realtime polymerase chain reaction. **International Journal of STD and AIDS**, v. 21, n. 1, p. 23–25, jan. 2010.

CUNHA, A. P. A.; *et al.* Human papillomavirus and Its Association with Other Sexually Transmitted Coinfection among Sexually Active Women from the Northeast of Brazil. **Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases**, v. 2020.

CROSSLEY, B. M.; *et al.* Guidelines for Sanger sequencing and molecular assay monitoring. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 32, n. 6, p. 767–775, 1 nov. 2020.

DE CARVALHO, N. S.; PALÚ, G.; WITKIN, S. S. *Mycoplasma genitalium*, a stealth female reproductive tract. **European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, Springer, 1 fev. 2020.

DREYER, G. Clinical implications of the interaction between HPV and HIV infections. *Best Practice and Research: Clinical Obstetrics and Gynaecology*, Bailliere Tindall Ltd, 1 fev. 2018.

FANALES-BELASIO, E.; *et al.* HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. **Ann Ist Super Sanita**, v. 46, p. 5–14, 2010.

FRASER, C. M.; *et al.* The Minimal Gene Complement of *Mycoplasma genitalium*. **Science**, v. 270, n. 5235, p. 397–404, 1995. Disponível em: <<http://www.tigr.org>>.

GATSKI, M.; *et al.* *Mycoplasma genitalium* infection among HIV-positive women: Prevalence, risk factors and association with vaginal shedding. **International Journal of STD and AIDS**, v. 22, n. 3, p. 155–159, mar. 2011.

GHYS, P. D.; *et al.* The associations between cervicovaginal HIV shedding, sexually transmitted diseases and immunosuppression in female sex workers in Abidjan, Côte d'Ivoire. **AIDS**, v. revised, p. 86, 1997.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. Nested polymerase chain reaction (PCR). **Cold Spring Harbor Protocols**, v. 2019, n. 2, 1 fev. 2019.

HILL, S. A.; MASTERS, T. L.; WACHTER, J. Gonorrhea – An evolving disease of the new millennium. **Microbial CellShared Science Publishers OG**, 1 set. 2016.

HORNER, P.; BLEE, K.; ADAMS, E. Time to manage *Mycoplasma genitalium* as an STI: But not with azithromycin 1 g! **Current Opinion in Infectious Diseases**, fev. 2014.

HU, T.; *et al.* Next-generation sequencing technologies: An overview. **Human Immunology**, v. 82, n. 11, p. 801–811, 1 nov. 2021

INCA. Instituto Nacional do Câncer. **Diretrizes Brasileiras para o Rastreamento do Câncer do Colo do Útero**. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/diretrizes_para_o_rastreamento_do_cancer_do_colo_do_uterio_2016_corrigido.pdf. Acesso em: 12 set. 2022.

JARVIS, G. A.; CHANG, T. L. Modulation of HIV Transmission by *Neisseria gonorrhoeae*: Molecular and Immunological Aspects. **Curr HIV Res**, v. 10, n. 3, 2012.

JENSEN, J. S.; *et al.* 2021 European guideline on the management of *Mycoplasma genitalium* infections. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v. 36, n. 5, p. 641–650, 1 maio 2022.

KALTENBOECK, B.; WANG, C. **Advances in Real-Time PCR: Application to Clinical Laboratory Diagnostics** *Advances in Clinical Chemistry* 2005.

KIM, J. J.; WRIGHT, T. C.; GOLDIE, S. J. Cost-effectiveness of human papillomavirus DNA testing in the United Kingdom, The Netherlands, France, and Italy. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 12, p. 888–895, jun. 2005.

KISSINGER, P. *Trichomonas vaginalis*: A review of epidemiologic, clinical and treatment issues **BMC Infectious Diseases** BioMed Central Ltd., 5 ago. 2015.

LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The Measurement of Observer Agreement for Categorical Data. v. 33, n. 1, p. 159–174, 1977.

LEE, Dae-Hoon. TOCE: Innovative Technology for High Multiplex Real-time PCR. **Seegene Bulletin**, Seoul, v. 1, n. 2, p. 5-10, jul. 2012.

LEE, Young-Jo; KIM, Daeyoung; LEE, Kihoon; CHUN, Jong-Yoon. Single-channel multiplexing without melting curve analysis in real-time PCR. *Scientific Reports*, [S.L.], v. 4, n. 1, p. 1-6, 11 dez. 2014. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1038/srep07439>.

LEVI, J. E.; *et al.* High-risk HPV testing in primary screening for cervical cancer in the public health system, São Paulo, Brazil. **Cancer Prevention Research**, v. 12, n. 8, p. 539–546, 2019.

LI, G.; *et al.*; THEYS, K. An integrated map of HIV genome-wide variation from a population perspective. **Retrovirology**, v. 12, n. 1, 15 fev. 2015.

LIS, R.; ROWHANI-RAHBAR, A.; MANHART, L. E. Mycoplasma genitalium Infection and Female Reproductive Tract Disease: A Meta-analysis. **Clinical Infectious Diseases** Oxford University Press, 1 ago. 2015.

LOW, A. J.; *et al.* Neisseria gonorrhoeae and Chlamydia trachomatis infection in HIV-1-infected women taking antiretroviral therapy: A prospective cohort study from Burkina Faso. **Sexually Transmitted Infections**, v. 90, n. 2, p. 100–103, 2014.

LOWE, S.; *et al.* Sexually transmitted infections, the silent partner in HIV-infected women in Zimbabwe. **Southern African Journal of HIV Medicine**, v. 20, n. 1, 2019.

MACHALEK, D. A.; *et al.* Prevalence of mutations associated with resistance to macrolides and fluoroquinolones in Mycoplasma genitalium: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Infectious Diseases**, v. 20, n. 11, p. 1302–1314, 1 nov. 2020.

MADSEN, A. M. R.; *et al.* Prevalence and significance of Mycoplasma genitalium in women living with HIV in Denmark. **BMC Research Notes**, v. 10, n. 1, 7 set. 2017.

MANHART, L. E.; *et al.* High Mycoplasma genitalium organism burden is associated with shedding of HIV-1 DNA from the cervix. **Journal of Infectious Diseases**, v. 197, n. 5, p. 733–736, 1 mar. 2008.

MASHA, S. C.; *et al.* Trichomonas vaginalis and HIV infection acquisition: A systematic review and meta-analysis. **Sexually Transmitted Infections**, v. 95, n. 1, p. 36–42, 1 fev. 2019.

MAVEDZENGE, S. N.; *et al.* The association between Mycoplasma genitalium and HIV-1 acquisition in African women. **AIDS**, v. 26, n. 5, p. 617–624, 4 jan. 2012.

MAVEDZENGE, S. N.; WEISS, H. A. Association of Mycoplasma genitalium and HIV infection: A systematic review and meta-analysis. **AIDS**, v. 23, n. 5, p. 611–620, 13 mar. 2009.

MCGOWIN, C. L.; TOTTEN, P. A. The Unique Microbiology and Molecular Pathogenesis of Mycoplasma genitalium. **Journal of Infectious Diseases**, v. 216, p. S382–S388, 15 jul. 2017.

MIRANDA, A. E.; *et al.* Prevalence of Chlamydia trachomatis and Neisseria gonorrhoea and associated factors among women living with Human Immunodeficiency Virus in Brazil: a multicenter study. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, n. 4, p. 402–407, 1 jul. 2017.

MOHERDAUI, F.; *et al.* Validation of national algorithms for the diagnosis of sexually transmitted diseases in Brazil: Results from a multicentre study. **Sexually Transmitted Infections**, p. 38–43, 1998. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/13266854>.

NALDINI, G.; GRISCI, C.; CHIAVARINI, M.; FABIANI, R. Association between human papillomavirus and chlamydia trachomatis infection risk in women: a systematic review and meta-analysis. **International Journal of Public Health**, v. 64, n. 6, p. 943–955, 1 jul. 2019.

NGOBESE, B.; *et al.* Low prevalence of macrolide resistance in *Mycoplasma genitalium* infections in a cohort of pregnant women living with human immunodeficiency virus. **International Journal of STD & AIDS**, v. 33, n. 14, p. 1174–1182, 11 out. 2022.

NIH. National Institutes of Health. National Human Genome Research Institute. **A Brief Guide to Genomics**. 2022. Disponível em: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/A-Brief-Guide-to-Genomics>. Acesso em: 27 jun. 2023.

OKOLI, C.; *et al.* Undetectable equals untransmittable (U = U): Awareness and associations with health outcomes among people living with HIV in 25 countries. **Sexually Transmitted Infections**, v. 97, n. 1, p. 18–26, 1 fev. 2021.

ONA, S.; MOLINA, R. L.; DIOUF, K. *Mycoplasma genitalium*: An Overlooked Sexually Transmitted Pathogen in Women? **Infectious Diseases in Obstetrics and Gynecology**, Hindawi Limited, 2016.

ONG, J. J.; *et al.* Prevalence and Antimicrobial Resistance of *Mycoplasma genitalium* Infection among Women Living with Human Immunodeficiency Virus in South Africa: A Prospective Cohort Study. **Clinical Infectious Diseases**, v. 69, n. 5, p. 873–876, 16 ago. 2019.

PITT, R.; *et al.* Detection of markers predictive of macrolide and fluoroquinolone resistance in *Mycoplasma genitalium* from patients attending sexual health services in England. **Sexually Transmitted Infections**, v. 94, n. 1, p. 9–13, 1 fev. 2018.

PRICE, C. M.; *et al.* Prevalence and Detection of *Trichomonas vaginalis* in HIV-Infected Pregnant Women. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 45, n. 5, p. 332–336, 1 maio 2018.

QUINLIVAN, E. B.; *et al.* Modeling the impact of *trichomonas vaginalis* infection on HIV transmission in HIV-infected individuals in medical care. **Sexually Transmitted Diseases**, v. 39, n. 9, p. 671–677, set. 2012.

RIBEIRO, A. A.; *et al.* HPV infection and cervical neoplasia: Associated risk factors. **Infectious Agents and Cancer**, v. 10, n. 1, 26 maio 2015.

RIVAYA, B.; *et al.* Detection and Prevalence of Macrolide and Fluoroquinolone Resistance in *Mycoplasma genitalium* in Badalona, Spain. **Antibiotics**, v. 11, n. 4, 1 abr. 2022.

SEITZ, R. Human Immunodeficiency Virus (HIV). **Transfusion Medicine and Hemotherapy**, v. 43, n. 3, p. 203–222, 1 maio 2016.

SEO, Y.; CHOI, K. H.; LEE, G. Characterization and trend of co-infection with *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* from the Korean National infectious diseases surveillance database. **World Journal of Men's Health**, v. 37, p. 1–9, 2019.

SHIPITSYNA, E.; *et al.* Bacterial vaginosis-associated vaginal microbiota is an age-independent risk factor for *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis* infections in low-risk women, St. Petersburg, Russia. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 39, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10096-020-03831-w>>.

SILVA, L. C. F.; *et al.* *Chlamydia trachomatis* infection among HIV-infected women attending an AIDS clinic in the city of Manaus, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 16, n. 4, p. 335–338, jul. 2012.

SILVA, L. C. F.; *et al.* *Trichomonas vaginalis* and associated factors among women living with HIV/AIDS in Amazonas, Brazil. **Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 17, n. 6, p. 701–703, nov. 2013.

SRIFEUNGFUNG, S.; *et al.* Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in HIV-Seropositive Patients and Gonococcal Antimicrobial Susceptibility: an Update in Thailand. **Jpn. J. Infect. Dis.**, v. 62, p. 467–470, 2009.

STELZLE, D.; *et al.* Estimates of the global burden of cervical cancer associated with HIV. **The Lancet Global Health**, v. 9, n. 2, p. e161–e169, 1 fev. 2021.

TAGG, K. A.; *et al.* Fluoroquinolone and macrolide resistance-associated mutations in *Mycoplasma genitalium*. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 51, n. 7, p. 2245–2249, 2013.

TAYLOR-ROBINSON, D.; JENSEN, J. S. *Mycoplasma genitalium*: From chrysalis to multicolored butterfly. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 24, n. 3, p. 498–514, jul. 2011.

TWIN, J.; JENSEN, J. S.; BRADSHAW, C. S.; GARLAND, S. M.; FAIRLEY, C. K.; MIN, L. Y.; TABRIZI, S. N. Transmission and selection of macrolide resistant *mycoplasma genitalium* infections detected by rapid high resolution melt analysis. **PLoS ONE**, v. 7, n. 4, 20 abr. 2012.

UENO, P. M.; *et al.* Interaction of *Mycoplasma genitalium* with host cells: Evidence for nuclear localization. **Microbiology**, v. 154, n. 10, p. 3033–3041, 2008.

UNEMO, M.; ROSS, J. D. C.; SERWIN, A. B.; GOMBERG, M.; CUSINI, M.; JENSEN, J. S. 2020 European guideline for the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults. **International Journal of STD and AIDS**, 2020.

UNITED NATIONS CARTA DE MANIFESTAÇÃO DE CONCORDÂNCIA PROGRAMME ON HIV/AIDS BRASIL. UNAIDS. **Estatísticas**. 2021. Disponível em: <https://unaid.org.br/estatisticas/>. Acesso em: 27 out. 2022.

UPTON, A.; BISSESSOR, L.; LOWE, P.; WANG, X.; MCAULIFFE, G. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma genitalium*: Na observational study of testing patterns, prevalence and co-infection rates in northern New Zealand. **Sexual Health**, v. 15, n. 3, p. 232–237, 2018.

VAN DER SCHALK, T. E.; BRAAM, J. F.; KUSTERS, J. G. Molecular basis of antimicrobial resistance in *Mycoplasma genitalium*. **International Journal of Antimicrobial Agents**, Elsevier B.V., 1 abr. 2020.

VAN GERWEN, O. T.; MUZNY, C. A. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of trichomonas vaginalis infection F1000ResearchF1000 Research Ltd, 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus**. 2013. Disponível em: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/85343/9789241505840_eng.pdf;jsessionid=07A74D701B599051DFE09597C0F4BFA1?sequence=1. Acesso em: 20 mar. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global Health Sector on Sexually Transmitted Infections 2016-2021: Toward ending STIs**. 2016. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-RHR-16.09>. Acesso em: 30 mai. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Sexually transmitted infections (STIs)**. 2021a. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)). Acesso em: 7 jun. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for the management of symptomatic sexually transmitted infections**. 2021b. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240024168>. Acesso em: 30 jun 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Global progress report on HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections**. 2021c. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240027077>. Acesso em: 30 mai. 2022.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Antimicrobial resistance**. 2021d. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>. Acesso em: 09 abril. 2023.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **New recommendations for screening and treatment to prevent cervical cancer**. 2021e. Disponível em: <https://www.who.int/news/item/06-07-2021-new-recommendations-for-screening-and-treatment-to-prevent-cervical-cancer>. Acesso em: 05 jun 2023.

WYRICK, P. B. Chlamydia trachomatis persistence in vitro: An overview **Journal of Infectious Diseases** 15 jun. 2010.

ANEXO A – CARTA DE MANIFESTAÇÃO DE CONCORDÂNCIA



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE DOENÇAS DE CONDIÇÕES CRÔNICAS E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS
SRTVN Quadra 701, lote D, Edifício PO700 – 5º Andar
CEP: 70719-040 – Brasília - DF – Brasil
Tel.: 3315-7737 a 7739

CARTA DE MANIFESTAÇÃO DE CONCORDÂNCIA

A Coordenadora Geral de Vigilância das Infecções Sexualmente Transmissíveis do Departamento de Doenças de Condições Crônicas e Infecções Sexualmente Transmissíveis (CGTIST/DCCI/SVS) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde, Dra Angélica Espinosa Miranda, manifesta apoio no desenvolvimento de projetos que visam a investigação e análise de infecções sexualmente transmissíveis (ISTs) causadas por *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Mycoplasma genitalium* (MG) e *Trichomonas vaginalis* (TV).

Ressalta-se que estas ISTs não fazem parte da lista nacional de notificação compulsória como a sífilis e, portanto, não existem dados oficiais de prevalência desses patógenos no Brasil. A geração de dados epidemiológicos sobre estas infecções possui grande relevância em saúde pública, principalmente no que tange às populações de maior vulnerabilidade às ISTs, como no caso das mulheres vivendo com HIV (MVHIV).

Em complemento, existe a necessidade de se investigar o perfil de resistência aos antimicrobianos dos patógenos circulantes no território nacional, especialmente *Neisseria gonorrhoeae* (NG) e *Mycoplasma genitalium* (MG) que vem se tornando resistente a todos os fármacos disponíveis mundialmente para o seu tratamento.

Os dados de vigilância das infecções e de resistência fornecem subsídios para a determinação de diretrizes nacionais de diagnóstico e tratamento, bem como são essenciais para a incorporação de novas tecnologias e aquisição de insumos visando enfrentamento das ISTs no âmbito do Sistema de Único de Saúde (SUS).



MINISTÉRIO DA SAÚDE
SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE
DEPARTAMENTO DE DOENÇAS DE CONDIÇÕES CRÔNICAS E INFECÇÕES SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS
SRTVN Quadra 701, lote D, Edifício PO700 – 5º Andar
CEP: 70719-040 – Brasília - DF – Brasil
Tel.: 3315-7737 a 7739

Diante do exposto, o Ministério da Saúde manifesta-se de acordo com a investigação de *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG), *Mycoplasma genitalium* (MG) e *Trichomonas vaginalis* (TV) em amostras de MVHIV provenientes da “Implantação da rede de serviços para acesso a testes de biologia molecular para detecção de Papilomavírus em mulheres vivendo com HIV no âmbito do SUS”. As amostras encontram-se armazenadas no Laboratório de Biologia Molecular, Microbiologia e Sorologia – LBMMS na Universidade Federal de Santa Catarina, que consiste no laboratório de referência nacional desta rede piloto. As amostras foram identificadas de forma anonimizada, contendo as iniciais do nome da pessoa e o número de coleta do serviço.

Caso haja algum questionamento, favor entrar em contato pelo angelica.miranda@ aids.gov.br e/ou telefone: 61 3315 – 7669.



Angélica Espinosa Miranda

Coordenadora Geral de Vigilância das Infecções Sexualmente Transmissíveis do Departamento de Doenças de Condições Crônica

ANEXO B – QUADRO COM RESULTADOS DE DETECÇÃO DE *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium*, *Trichomonas vaginalis* E HPV

Amostra	Resultado Seegene	Cq Seegene	Resultado HPV	Tipos Virais
PEL024	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL026	-	-	DETECTADO	56
PEL030	-	-	DETECTADO	82
PEL045	-	-	DETECTADO	52,68,40,42
PEL053	-	-	DETECTADO	68
PEL058	-	-	DETECTADO	52
PEL064	TV,CT	29.66;30.46	DETECTADO	6
PEL067	-	-	DETECTADO	68,26
PEL072	CT	31.81	DETECTADO	82,61,40,45,16,39,56,68
PEL079	-	-	DETECTADO	16
PEL090	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL097	NG	33.43	DETECTADO	40
PEL103	-	-	DETECTADO	43
PEL104	-	-	DETECTADO	16
PEL105	-	-	DETECTADO	45,16
PEL108	TV	37.71	NÃO DETECTADO	-
PEL110	CT	34.21	DETECTADO	56,53
PEL111	-	-	DETECTADO	53,43,40,58,16,56
PEL113	-	-	DETECTADO	39,18
PEL119	CT	28.67	DETECTADO	16,53
PEL120	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL134	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL135	NG,CT	38.98;38.17	DETECTADO	42
PEL136	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL140	TV	35.07	DETECTADO	73,52
PEL146	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL148	TV,CT	21.84;32.08	DETECTADO	53,43
PEL151	-	-	DETECTADO	73,66
PEL154	-	-	DETECTADO	54
PEL156	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL160	-	-	DETECTADO	42,44
PEL161	NG,CT	23.54;25.43	DETECTADO	68

PEL164	TV	19.63	DETECTADO	53
PEL166	TV	21.23	DETECTADO	44
PEL171	-	-	DETECTADO	44
PEL172	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL174	CT, MG	27.79;34.37	DETECTADO	70
PEL175	-	-	DETECTADO	18
PEL180	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL181	-	-	DETECTADO	40
PEL191	-	-	DETECTADO	61
PEL193	-	-	DETECTADO	16
PEL194	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL199	-	-	DETECTADO	11
PEL201	-	-	DETECTADO	66
PEL202	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL203	-	-	DETECTADO	40
PEL204	-	-	DETECTADO	70
PEL209	-	-	DETECTADO	18
PEL211	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL213	-	-	DETECTADO	61
PEL215	MG,TV	39.39;18.93	DETECTADO	82
PEL224	-	-	NÃO DETECTADO	-
PEL226	-	-	DETECTADO	35,56
PEL229	TV, CT	37.47;31.10	DETECTADO	56,31,70,6
PEL234	TV	34.41	DETECTADO	42,44
PEL252	-	-	DETECTADO	16
PEL256	TV	30.26	DETECTADO	45,68
PEL263	-	-	DETECTADO	45
PEL267	-	-	DETECTADO	59,52
PEL269	-	-	DETECTADO	56,53
FLO002	-	-	DETECTADO	56
FLO005	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO006	-	-	DETECTADO	44
FLO010	-	-	DETECTADO	44,18
FLO012	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO024	TV	23.88	DETECTADO	6,51,56
FLO026	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO027	-	-	DETECTADO	56,68

FLO033	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO035	-	-	DETECTADO	54,11
FLO036	-	-	DETECTADO	16
FLO038	-	-	DETECTADO	35
FLO046	-	-	DETECTADO	51,52,56,31,42,82,53,54
FLO048	NG	30.94	DETECTADO	70,61
FLO052	-	-	DETECTADO	42
FLO053	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO060	-	-	DETECTADO	68
FLO075	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO077	-	-	DETECTADO	16
FLO079	-	-	NÃO DETECTADO	-
FLO083	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO003	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO011	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO016	-	-	DETECTADO	11
SAO017	-	-	DETECTADO	70
SAO020	-	-	DETECTADO	16
SAO025	-	-	DETECTADO	61
SAO027	NG	34.96	DETECTADO	18, 11
SAO029	TV	24.11	NÃO DETECTADO	-
SAO032	-	-	DETECTADO	16,53
SAO034	-	-	DETECTADO	70
SAO035	-	-	DETECTADO	73
SAO040	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO046	NG	34.50	DETECTADO	6
SAO048	-	-	DETECTADO	35
SAO049	-	-	DETECTADO	54
SAO051	TV	30.80	NÃO DETECTADO	-
SAO064	-	-	DETECTADO	18
SAO070	-	-	DETECTADO	51,59
SAO089	-	-	DETECTADO	45,18
SAO105	-	-	DETECTADO	16
SAO108	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO111	TV	20.01	DETECTADO	66

SAO147	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAO225	-	-	DETECTADO	44
SAO228	CT,MG	39.99;25.32	DETECTADO	66,45,58,51,39,43,6,44
SAO257	CT	30.61	NÃO DETECTADO	-
SAO273	CT	30.63	NÃO DETECTADO	-
VIT002	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT004	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT008	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT011	-	-	DETECTADO	43
VIT013	-	-	DETECTADO	61
VIT023	-	-	DETECTADO	40
VIT025	-	-	DETECTADO	35,68
VIT030	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT036	-	-	DETECTADO	68
VIT039	-	-	DETECTADO	68
VIT041	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT046	-	-	DETECTADO	40
VIT049	-	-	DETECTADO	45
VIT050	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT054	-	-	DETECTADO	18
VIT055	-	-	DETECTADO	58,54,40
VIT066	NG	33.99	DETECTADO	58,59,68,70,6,40
VIT074	NG	36.92	DETECTADO	58,51,40
VIT076	-	-	DETECTADO	59
VIT081	-	-	DETECTADO	58,59,42,54,40
VIT089	-	-	DETECTADO	39
VIT090	-	-	DETECTADO	54
VIT093	-	-	NÃO DETECTADO	-
VIT110	CT	28.39	DETECTADO	68
VIT145	NG	40.35	DETECTADO	69,53,61,40
VIT167	NG	34.66	DETECTADO	31,42,53
VIT175	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI003	CT	28.86	DETECTADO	40,53
JUI009	NG	37.66	DETECTADO	40
JUI010	NG,TV	34.37;35.24	DETECTADO	52,44,40
JUI012	-	-	DETECTADO	31,44,40

JUI030	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI038	-	-	DETECTADO	68
JUI039	-	-	DETECTADO	66
JUI049	-	-	DETECTADO	16,56,26
JUI051	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI067	-	-	DETECTADO	59
JUI071	CT	38.63	DETECTADO	58,33,52,56,31,42,53,54
JUI086	-	-	DETECTADO	39
JUI088	NG, MG, CT	34.90;40.48;34.58	DETECTADO	35,54
JUI095	NG, TV	22.66;28.37	DETECTADO	33,39,43,70
JUI099	-	-	DETECTADO	59,18
JUI101	CT	30.63	DETECTADO	40
JUI102	-	-	DETECTADO	40,61
JUI113	MG	41.66	NÃO DETECTADO	-
JUI115	TV	36.34	DETECTADO	26
JUI117	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI118	-	-	DETECTADO	6,4
JUI121	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI122	-	-	NÃO DETECTADO	-
JUI129	-	-	DETECTADO	70
JUI139	-	-	DETECTADO	52,68
JUI153	TV, CT	24.57;32.21	NÃO DETECTADO	-
JUI157	TV, CT	26.53;35.80	NÃO DETECTADO	-
JUI158	-	-	DETECTADO	44
JUI164	-	-	DETECTADO	44
BRA003	-	-	DETECTADO	68
BRA004	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA008	-	-	DETECTADO	59
BRA010	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA016	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA017	-	-	DETECTADO	16
BRA019	-	-	DETECTADO	54,44
BRA024	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA027	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA030	-	-	DETECTADO	73

BRA032	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA033	-	-	DETECTADO	54
BRA034	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA039	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA043	-	-	DETECTADO	26
BRA044	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA046	-	-	DETECTADO	70,11
BRA050	-	-	DETECTADO	42
BRA052	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA057	-	-	DETECTADO	70
BRA060	-	-	DETECTADO	82
BRA065	NG	40.37	DETECTADO	43,44
BRA071	-	-	DETECTADO	16,52
BRA076	-	-	DETECTADO	16
BRA078	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA081	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA082	-	-	DETECTADO	69
BRA085	-	-	DETECTADO	16,18
BRA086	-	-	DETECTADO	6
BRA087	-	-	DETECTADO	16
BRA089	CT	33.92	NÃO DETECTADO	-
BRA090	CT	40.66	DETECTADO	68,82
BRA091	-	-	DETECTADO	16,18
BRA093	-	-	DETECTADO	16,18,43
BRA094	-	-	DETECTADO	16,18
BRA096	-	-	DETECTADO	16,18
BRA105	-	-	DETECTADO	52,31,73,53
BRA108	-	-	DETECTADO	43,61
BRA129	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA131	-	-	DETECTADO	56
BRA133	-	-	DETECTADO	16
BRA139	-	-	DETECTADO	40
BRA140	CT,MG	40.27;29.44	DETECTADO	59,33,53,44
BRA161	-	-	DETECTADO	45
BRA165	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA174	-	-	DETECTADO	35,82
BRA175	CT	31.69	DETECTADO	59

BRA197	-	-	DETECTADO	82
BRA211	-	-	DETECTADO	35,69
BRA213	TV	20.30	DETECTADO	52
BRA241	-	-	DETECTADO	54
BRA249	-	-	DETECTADO	68
BRA252	-	-	DETECTADO	42
BRA255	-	-	DETECTADO	44
BRA262	-	-	DETECTADO	45,53
BRA268	-	-	NÃO DETECTADO	-
BRA269	-	-	DETECTADO	18,7
BRA270	-	-	DETECTADO	51,82,6
MAN001	-	-	DETECTADO	59,16
MAN003	NG	38.81	DETECTADO	44
MAN006	TV,CT	37.05;40.15	DETECTADO	16,18
MAN007	MG,TV	41.92;34.62	DETECTADO	82
MAN008	TV	31.88	NÃO DETECTADO	-
MAN010	TV	33.08	NÃO DETECTADO	-
MAN011	TV	39.06	DETECTADO	61
MAN014	TV	33.41	DETECTADO	39,68
MAN017	TV	35.76	DETECTADO	54
MAN019	TV	40.15	DETECTADO	6
MAN026	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN027	TV	35.01	DETECTADO	6
MAN028	TV	38.19	DETECTADO	51
MAN030	TV	34.46	DETECTADO	73
MAN033	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN034	-	-	DETECTADO	26,43,58,16,18
MAN038	-	-	DETECTADO	73,53
MAN040	-	-	DETECTADO	44
MAN046	-	-	DETECTADO	6,4
MAN049	-	-	DETECTADO	40
MAN054	-	-	DETECTADO	40
MAN061	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN062	-	-	DETECTADO	82,53
MAN063	-	-	DETECTADO	40
MAN065	-	-	DETECTADO	40
MAN068	CT	27.19	DETECTADO	43
MAN070	TV	40.80	DETECTADO	31
MAN071	CT	24.55	DETECTADO	66
MAN072	-	-	NÃO DETECTADO	-

MAN073	NG,TV	36.98;27.81	DETECTADO	16
MAN077	-	-	DETECTADO	43,6,66,52
MAN079	TV	41.56	DETECTADO	53,39,35
MAN083	-	-	DETECTADO	53,35
MAN089	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN090	-	-	DETECTADO	53,40,52
MAN094	-	-	DETECTADO	82,43,18,56
MAN096	NG,TV	26.47;36.46	DETECTADO	53,70,59,16,35,68
MAN097	NG	36.99	DETECTADO	69,73,82,53,54,51,33,18,68
MAN098	-	-	DETECTADO	69,16,18
MAN102	TV	30.77	DETECTADO	69,82,43,44,51,18,56,31
MAN106	TV	35.15	DETECTADO	69,66,18
MAN111	-	-	DETECTADO	18
MAN115	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN118	-	-	DETECTADO	45,68
MAN121	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN128	-	-	DETECTADO	16
MAN131	-	-	DETECTADO	73
MAN139	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN142	-	-	DETECTADO	39,73
MAN154	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN160	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN174	-	-	DETECTADO	73
MAN182	-	-	DETECTADO	53
MAN193	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN196	-	-	NÃO DETECTADO	-
MAN204	-	-	DETECTADO	45,31
MAN215	-	-	DETECTADO	53
MAN218	-	-	DETECTADO	52, 7
MAN224	TV	44.33	DETECTADO	56,54,6,44,40
MAN225	-	-	DETECTADO	18
MAN233	-	-	DETECTADO	66,35,56,68,61
MAN237	NG	39.13	DETECTADO	6
MAN244	-	-	DETECTADO	18
MAN255	NG	37.16	DETECTADO	56,68,53
MAN263	-	-	DETECTADO	16,56
MAN265	-	-	DETECTADO	66
MAN272	NG	35.03	DETECTADO	42
MAN273	-	-	DETECTADO	18,56,40

MAN292	-	-	DETECTADO	66,16
SAL002	TV	40.40	NÃO DETECTADO	-
SAL003	CT,NG	24.80;36.67	DETECTADO	66,45,52
SAL004	TV,CT	30.97;29.62	NÃO DETECTADO	-
SAL005	-	-	DETECTADO	35,68,42,54,70,40
SAL006	-	-	DETECTADO	56
SAL007	-	-	DETECTADO	42
SAL008	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL009	-	-	DETECTADO	53
SAL010	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL011	-	-	DETECTADO	82
SAL013	-	-	DETECTADO	82
SAL019	-	-	DETECTADO	18
SAL020	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL023	TV	38.01	DETECTADO	31
SAL025	NG	38.49	NÃO DETECTADO	-
SAL032	-	-	DETECTADO	42,58,16,35
SAL033	NG	28.45	NÃO DETECTADO	-
SAL039	-	-	DETECTADO	52
SAL041	CT	36.78	DETECTADO	42,35,56,31
SAL042	CT,MG	30.84; 34.62	DETECTADO	58
SAL048	-	-	DETECTADO	68
SAL051	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL054	TV	23.85	NÃO DETECTADO	-
SAL060	CT	37.47	DETECTADO	82
SAL061	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL062	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL069	-	-	DETECTADO	56,53,11
SAL071	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL072	-	-	DETECTADO	66
SAL077	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL085	MG	40.14	NÃO DETECTADO	-
SAL094	TV	32.49	NÃO DETECTADO	-

SAL105	-	-	DETECTADO	33
SAL110	NG	24.08	DETECTADO	66,33,56,73,42
SAL114	-	-	DETECTADO	51,16,56,53,44,40
SAL115	-	-	NÃO DETECTADO	-
SAL125	-	-	DETECTADO	52,35,56
SAL128	-	-	DETECTADO	68
SAL136	-	-	DETECTADO	16
SAL140	-	-	DETECTADO	68,53,54,44
SAL151	-	-	DETECTADO	18
SAL156	-	-	DETECTADO	31
SAL158	TV,CT	27.11;35.59	DETECTADO	45,39,68,31,26,69,53,43,54
SAL168	-	-	DETECTADO	82
SAL173	NG	37.17	DETECTADO	59,52,6,40
SAL185	-	-	DETECTADO	16
SAL187	TV,CT	19.09;37.80	DETECTADO	42,44
SAL189	-	-	DETECTADO	66,52,73,53
SAL195	NG	25.99	DETECTADO	42,53,54
SAL196	-	-	DETECTADO	53
SAL197	-	-	DETECTADO	51,35,56,42,53,6
SAL198	-	-	DETECTADO	18,53
SAL203	CT	30.59	DETECTADO	66,42,53,6
SAL204	-	-	DETECTADO	70,42
SAL214	CT	29.56	NÃO DETECTADO	-
SAL215	-	-	DETECTADO	70,44
SAL216	CT,MG	43.84;27.72	NÃO DETECTADO	-
SAL224	-	-	DETECTADO	52
SAL231	-	-	DETECTADO	59
SAL269	TV	41.88	DETECTADO	68,53
SAL272	-	-	DETECTADO	35
SAL282	-	-	DETECTADO	56
SAL290	-	-	DETECTADO	39

CT: *Chlamydia trachomatis*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; MG: *Mycoplasma genitalium*; TV: *Trichomonas vaginalis*.