

Prevalência de *Chlamydia trachomatis* em amostras endocervicais de mulheres em São Paulo e Santa Catarina pela PCR

Primeira submissão em 27/11/11
Última submissão em 09/04/12
Aceito para publicação em 16/07/12
Publicado em 20/10/12

Prevalence of *Chlamydia trachomatis* in endocervical samples by PCR in São Paulo and Santa Catarina

Marcos Edgar Herkenhoff¹; Rodrigo Gaulke²; Luisa Lemos Vieira³; Polyanna da Silva Ferreira⁴; Ana Kelly Pitlovanciv⁵; Vanessa Rosália Remualdo⁶

unitermos	resumo
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<p>Introdução: Nenhuma outra doença sexualmente transmissível (DST) tem mostrado frequência tão elevada quanto a infecção por <i>Chlamydia trachomatis</i> (CT). É frequente a detecção de mulheres portadoras de danos tubários causados por esse agente, determinando infertilidade permanente e as intervenções cirúrgicas não têm demonstrado sucesso em reparar esses danos. A reação em cadeia da polimerase (PCR) se mostrou mais sensível do que a cultura para a identificação de CT, principalmente em cervicite clamidiana nas mulheres. A PCR promove a detecção de sequências específicas de nucleotídeos para a CT. Objetivo: Analisar a prevalência de infecções causadas pela CT em mulheres nos estados de São Paulo e Santa Catarina utilizando amostras endocervicais. Materiais e métodos: Utilizaram-se para o presente trabalho amostras enviadas pelos laboratórios conveniados ao Genolab, pertencentes aos estados de São Paulo e de Santa Catarina. Foram consultados os resultados dos laudos de exames para CT oriundos do banco de dados do Genolab no ano de 2010. Para a obtenção e o isolamento do ácido desoxirribonucleico (DNA), utilizou-se a técnica de fenol-clorofórmio e para a amplificação do material genético, a técnica de PCR. Resultados: Obteve-se uma amostra de 287 indivíduos, e desse total 56,45% das mulheres eram positivas. A amostra que obteve o maior número de positivos foi o <i>swab</i> endocervical, com 75%. Conclusão: As amostras biológicas provenientes do endocérvix apresentaram detecção eficiente da CT na população feminina. A alta prevalência salienta a importância no emprego do diagnóstico molecular, principalmente por este trabalho apontar esse aspecto.</p>
PCR	
Endocervical	

abstract

key words

Introduction: No other sexually transmitted disease (STD) has been as frequent as *Chlamydia trachomatis* (CT) infection. Tubal damage caused by this agent has been frequently detected among women. This infection causes permanent infertility. Furthermore, surgical interventions have not demonstrated success in repairing tubal damage. The polymerase chain reaction (PCR) has proved to be more sensitive than culture to the identification of CT mainly in women with chlamydial cervicitis. PCR promotes the detection of specific nucleotide sequences in CT. **Objective:** To analyze the prevalence of infections caused by CT in women in São Paulo and Santa Catarina states by use of endocervical samples. **Material and methods:** In this study we used samples from laboratories in São Paulo and Santa Catarina states, which are associated with Genolab. CT examination result reports from 2010 obtained from Genolab database were analyzed. The phenol-chloroform protocol was used to obtain and isolate deoxyribonucleic acid (DNA) and the (PCR) method was used to amplify genetic material. **Results:** We obtained a sample of 287 individuals, of which 56.45% were positive. Endocervical swab samples showed the highest positive results (75%). **Conclusion:** Endocervical samples constituted an accurate detection of CT. The high prevalence emphasizes the importance of molecular diagnosis, which is also corroborated by this study.

Chlamydia trachomatis
PCR
Endocervical

1. Mestrando em Ciência Animal (área de Genética) pela Universidade do Estado de Santa Catarina (UDESC); veterinário.
2. Graduando em Biomedicina pelo Centro Universitário Leonardo da Vinci (UNIASSELVI/FAMEBLU); técnico em análises genéticas.
3. Mestranda em Ciência Animal (área de Diagnóstico Molecular) pela UDESC; veterinária; revisora.
4. Mestranda em Ciência Animal (área de Virologia e Microbiologia) pela UDESC; veterinária; revisora.
5. Mestrado em Biotecnologia pela Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); responsável técnica do Genolab Análises.
6. Doutora em Patologia Clínica pela Universidade de São Paulo (USP); diretora científica do Genolab Análises.

Introdução

A *Chlamydia trachomatis* (CT) pode ser considerada o agente etiológico de conjuntivites e infecções respiratórias em pacientes com até um ano de vida. É também considerada uma doença sexualmente transmissível (DST) quando infecta e coloniza o trato sexual e genital. Sua real prevalência é desconhecida pelo provável fato de ser muitas vezes assintomática⁽¹⁸⁾. É uma bactéria Gram-negativa e intracelular obrigatória. É o agente etiológico mais comumente associado às DSTs nos Estados Unidos⁽¹¹⁾.

Nenhuma outra DST tem mostrado frequência tão elevada quanto a infecção por CT. É frequente a detecção de mulheres portadoras de danos tubários, por vezes irreversíveis, causados por esse agente, determinando infertilidade permanente. A intervenção cirúrgica, como as salpingoplastias e as salpingólises não têm demonstrado sucesso em reparar os danos tubáricos causados pela doença inflamatória pélvica (DIPA)^(8, 19). Além disso, a infecção causada pela CT tem sido associada a complicações relacionadas com a reprodução e a saúde na população feminina, incluindo infertilidade e gravidez ectópica⁽¹³⁾, sendo considerada o maior agente responsável por esse tipo de gravidez⁽²⁸⁾. A presença da CT está associada às alterações citológicas da cérvix uterina⁽²¹⁾ e, segundo Mardh *et al.*⁽¹⁷⁾, é o agente comum da salpingite aguda.

Em um estudo realizado na Polônia, a prevalência de CT em casos de abortos precoces foi alta. Isso implica, sobretudo, prevenção contra esse agente em mulheres que planejam engravidar e também nas que já estão grávidas⁽¹⁶⁾. A prevalência desse agente também é alta em mulheres grávidas atendidas na Unidade de Terapia para Infecções Genitais na Universidade Estadual paulista (UNESP) e tem sido associada a muitos fatores de risco. Portanto, a sua triagem é extremamente importante para reduzir complicações obstétricas e neonatais⁽²³⁾. Além disso, a CT genital pode provocar dor durante a relação sexual, reduzindo a satisfação e a qualidade do sexo em mulheres jovens sexualmente ativas⁽⁴⁾.

A infecção por esse agente é um cofator importante na transmissão do vírus da imunodeficiência humana (HIV), tanto no homem como na mulher⁽¹⁹⁾. Em contrapartida, mulheres recentemente infectadas com HIV-1 e HIV-2 aumentam as chances de infecção por *Neisseria gonorrhoeae* e CT⁽³³⁾.

Um estudo realizado em Portugal demonstrou que a prevalência real de CT é desconhecida e o fato é atribuído à alta taxa de casos assintomáticos⁽¹⁸⁾. Um outro estudo,

realizado em Porto Rico, concluiu que existe uma falta de compreensão por parte da população quanto à infecção desse agente e isso tem mostrado uma verdadeira carência de conhecimento. Sem o entendimento necessário acerca desse agente, estudantes de medicina e médicos são incapazes de identificar a presença deste e, subsequentemente, educar seus pacientes sobre a prevenção e as complicações sérias dessa infecção. Isso tem uma implicação grave na saúde da mulher e esse conhecimento é importante para reduzir a taxa de pessoas infectadas⁽¹⁵⁾.

A infecção desse agente constitui um sério problema para a saúde pública na América do Sul⁽¹⁾. Um estudo mostrou que existe a circulação desse agente até mesmo em populações indígenas da Amazônia brasileira⁽⁹⁾. Outro trabalho indicou que a Alemanha possui uma prevalência desse agente muito semelhante a outros países⁽⁷⁾, ou seja, a infecção causada por CT constitui um problema de saúde pública em todo mundo.

Abuso de álcool, uso incorreto de preservativos, hábitos sexuais e falta de conscientização (incluindo a natureza dos sintomas) são identificados como promotores para o desenvolvimento da infecção por esse agente e outras DSTs⁽²⁰⁾. Portanto, visto que é um agente com alta prevalência no mundo, faz-se necessário o emprego de metodologias de diagnóstico e monitoria adequada da CT⁽¹⁾. Entre a vasta gama de metodologias, a mais utilizada é a identificação por métodos sorológicos^(9, 28), no entanto, é fundamental o emprego de metodologias da Biologia Molecular na identificação, principalmente pelo material genético, do agente, entre elas destaca-se a PCR^(2, 6, 8, 10, 12, 22, 25, 27, 30-32), por possuir eficácia e sensibilidade de 100%, enquanto o imunoensaioenzimático, por exemplo, possui sensibilidade de 58,8% e especificidade de 100%⁽¹⁴⁾.

O objetivo deste trabalho é estimar a prevalência da CT em mulheres no estado de São Paulo e Santa Catarina com amostras coletadas no endocérvix, oriundas de um laboratório de Análises Genéticas em Blumenau-SC, por meio da técnica de PCR.

Material e métodos

Obtenção e coleta do material

Utilizou-se para o presente trabalho amostras de *swab* e raspado endocervical enviadas pelos laboratórios conveniados ao Genolab, pertencentes aos estados de São Paulo e Santa Catarina. Foi recomendado que a coleta fosse

realizada seguindo o manual de coleta Genolab 2010. Nesse manual, seguem as seguintes recomendações: amostras refrigeradas (4°C em até três dias), nenhuma orientação no preparo do paciente e o material biológico deve ser colocado em tubos contendo solução salina. A coleta do material de raspado endocervical foi feita mediante ao uso de *citobush*. Coletou-se e avaliou-se a idade das pacientes. Não foi possível a coleta de outros dados relevantes para a análise, como paridade, parceiros sexuais, classe social, uso de contraceptivos ou vulnerabilidade para aquisição do agente, pelo fato desses dados não constarem nos laudos por se tratar de informações sigilosas entre médico e paciente.

Extração de DNA e amplificação

Para a obtenção e o isolamento do DNA, utilizou-se a técnica de fenol-clorofórmio⁽²⁴⁾. Para a amplificação do material genético de interesse, foi aplicada a técnica de PCR.

Análise dos laudos e análise estatística

Foram consultados os resultados dos laudos de exames para a detecção do agente CT, oriundos do banco de dados do Genolab, no período de um ano. Quantificaram-se, assim, amostras de 287 indivíduos.

Resultados

Obteve-se um total de 287 pacientes que solicitaram exame para CT enviando amostras endocervicais. Em relação à idade observada das pacientes (**Figura**), a média foi de 34 anos; a mediana demonstrou o mesmo valor, enquanto a idade apresentou a maior frequência (moda): 32 anos. Das 287 amostras, 56,45% eram positivas e 43,55% negativas quanto à detecção da CT. Desse total, 13,94% foram coletadas por *swab*, enquanto 86,06%, por raspado. Em relação às amostras coletadas por *swab*, 75% apresentaram-se positivas e 25%, negativas. Já as amostras coletadas com raspado, 53,44% eram positivas e 46,56%, negativas (**Tabela**).

Discussão

A idade das pacientes variou de 17 a 58 anos. A média e mediana foram de 34 anos e a moda foi de 32 anos. Até

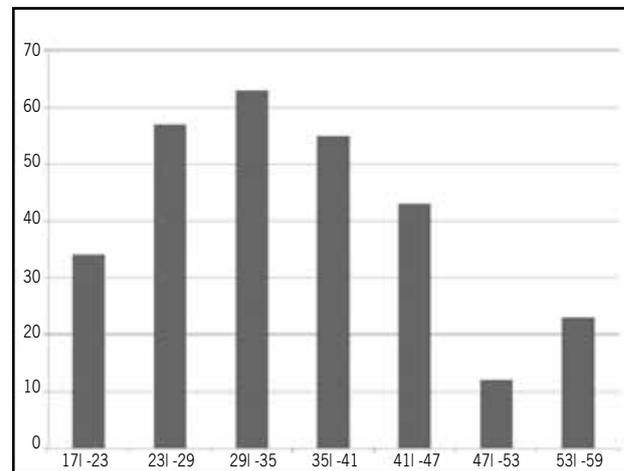


Figura – Frequência da idade das pacientes neste estudo

Frequência positiva e negativa das amostras analisadas em relação às amostras de *swab*, raspado e amostragem total

Tabela

Amostras	Positivo (%)	Negativo (%)
<i>Swab</i> endocervical	75	25
Raspado endocervical	53,44	46,56
Total	56,45	43,55

os 46 anos, todos os intervalos de classe se mostraram relativamente altos, no entanto, após essa idade as classes mostraram intervalos baixos (Figura). Isso demonstra claramente a falta de acompanhamento por parte das mulheres com idade um pouco mais avançada.

A amostra total mostrou prevalência extremamente alta. O trabalho de Arráiz *et al.*⁽¹⁾ apresentou prevalência de 13,7% para pacientes sintomáticas, 7,4% para assintomáticas e 10,4% no total, nos três casos com amostras coletadas por *swab* endocervical. Jenab *et al.*⁽¹⁰⁾, com o mesmo tipo de amostra, mostraram prevalência de 21,25%. Patel *et al.*⁽²²⁾, em um trabalho realizado na Índia coletando-se, também, amostras do endocérvix por meio de *swab*, mostraram prevalência de 23%. Ramos *et al.*⁽²³⁾ apresentaram prevalência de 25,7% em uma amostra de endocérvix no Hospital Universitário da Universidade Estadual Paulista (UNESP). Santos *et al.*⁽²⁵⁾ mostraram prevalência de 20,7% na população de Manaus-AM também com amostras do endocérvix. Portanto, em comparação com os demais trabalhos, a prevalência de 56,45% encontrada no presente trabalho seria considerada bem alta, uma vez que no trabalho de Arráiz *et al.*⁽¹⁾ os valores encontrados apontam prevalência alta, sendo a PCR a técnica empregada em todos os trabalhos citados, bem como neste.

A técnica de referência para o diagnóstico desse agente ainda é o cultivo, que possui especificidade de quase 100%; no entanto, a sensibilidade não é muito boa^(1, 3, 5, 29, 34, 35). Esse tipo de exame requer cultivo de linhagens celulares e estas são de alto custo e de difícil conservação, fazendo com que muitos laboratórios abandonem essa prática⁽¹⁾. Os testes de amplificação, como a PCR, são mais dispendiosos do que os demais testes não culturais, mas de menos custo do que a cultura, demonstrando sensibilidade e especificidade de quase 100%⁽²⁶⁾. Além disso, essa técnica pode ser utilizada como método de prevenção sem que o paciente possua alguma manifestação clínica, uma vez que ela detecta o agente antes que ele se reproduza a ponto de manifestar o quadro clínico^(1, 26). A eficácia da técnica da PCR justifica seu emprego no presente trabalho.

As amostras coletadas por meio de *swab* mostraram prevalência muito maior (75%) do que as coletadas por meio de raspado (53,44%). Todavia, o total de pacientes com amostras coletadas por *swab* é muito inferior ao total coletado com raspado, mesmo assim, isso é forte indicativo de que o *swab*, assim como nos trabalhos anteriores^(1, 10, 22, 23, 25),

é mais eficiente do que o raspado na obtenção de material de melhor qualidade para o diagnóstico molecular, mesmo que possa parecer controverso.

Conclusão

Os valores apresentados neste trabalho mostram prevalência extremamente alta da CT nos dois estados, sendo a prevalência mais alta em Santa Catarina do que no estado de São Paulo. Visto que a CT afeta a qualidade da vida sexual da paciente e pode provocar problemas sérios à fertilidade, existe a necessidade de um controle epidemiológico mais eficaz nesses dois estados. Portanto, este trabalho salienta a importância de se realizar o diagnóstico laboratorial para esse agente, principalmente mediante o emprego da PCR como técnica, por esta ter mostrado sensibilidade e especificidade elevadas. O trabalho salienta também a necessidade de monitoramento mais rigoroso em mulheres com idade um pouco mais avançada para a detecção desse agente.

Referências

- ARRÁIZ, R. N.; GINESTRE, P. M.; PEROZO, M. A.; CASTELLANO, G. M.; URDANETA, B.; GARCIA, G. M. M. Diagnóstico molecular y prevalência de infecciones por *Chlamydia trachomatis* em pacientes sintomáticas y asintomáticas de una población del estado de Zulia, Venezuela. *Rev Chil Infect*, v. 24, n. 1, p. 48-52, 2007.
- BASS, C. A.; JUNGKIND, D. L.; SILVERMAN, N. S.; BONDI, J. M. Clinical evaluation of new polymerase chain reaction assay for detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 31, n. 10, p. 2648-53, 1993.
- BLACK, C. M. Current methods of laboratory diagnosis of *Chlamydia trachomatis* infections. *Clin Microbiol Rev*, v.10, p. 160-84, 1997.
- CAI, T. et al. Genital *Chlamydia trachomatis* infection is related to poor sexual quality of life in young sexually active women. *Journal Sex Med*, v. 8, n. 4, p. 1131-7, 2011.
- CDC, Centers of Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guideless. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*. 2002.
- DEAN, D. et al. Predicting phenotype and emerging strains among *Chlamydia trachomatis* infections. *Emerging Infectious Diseases*, v. 15, n. 9, 2009.
- DESAI, S.; MEYER, T.; THAMM, M.; HAMOUDA, O.; BREMER, V. Prevalence of *Chlamydia trachomatis* among young German adolescents, 2005-06. *Sexual Health*, v. 8, n. 1, p. 120-2, 2011.
- FERRERO, D. V.; MEYERS, H. N.; SCHULTZ, D. E.; WILLIS, S. A. Performance of the Gen-Probe AMPLIFIED *Chlamydia trachomatis* in detecting *Chlamydia trachomatis* in endocervical and urine specimens from women and urethral and urine specimens from men attending sexually transmitted disease and family planning clinics. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 36, n. 11, p. 3230-3, 1998.
- ISHAK, M. O. G.; ISHAK, R. O impacto a infecção por *Chlamydia* em populações indígenas da Amazônia brasileira. *Cad Saúde Pública*, v. 17, n. 20, p. 385-96, 2001.
- JENAB, A.; ROGHANIAN, R.; GOLBANG, N.; GOLBANG, P.; CHAMANI-TABRIZ, L. Comparison of three methods of DNA extraction in endocervical specimens for *Chlamydia trachomatis* infection by spectrophotometry, agarose gel, and PCR. *Arch Immunol Ther Exp*, v. 58, p. 227-34, 2010.
- KNOWLTON, A. E.; BROWN, H. M.; RICHARDS, T. S.; ANDREOLAS, L. A.; PATEL, R. K.; GRIESHAB, S. S. *Chlamydia trachomatis* infection causes mitotic spindle pole defects independently from its effects on centrosome amplification. *Traffic*, 2011.
- LEHMUSVUORI, A.; JUNTUNEN, E.; TAPIO, A.; RANTAKOKKO-JALAVA, K.; SOUKKA, T.; LÖVGREN, T. Rapid homogeneous PCR assay for the detection of *Chlamydia trachomatis* in urine samples. *Journal of Microbiological Methods*, v. 83, p. 302-6, 2011.
- LEÓN, S. R. et al.; NIMH COLLABORATIVE HIV/STD PREVENTION TRIAL GROUP. *Chlamydia trachomatis*

- infection associated risk factors in a low-income marginalized urban population in coastal Peru. *Rev Panam Salud Publica*, v. 26, n. 1, p. 39-45, 2009.
14. LOEFFELHOLZ, M. J. *et al.* Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical specimens by polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 30, n. 11, p. 2847-51, 1992.
 15. LÓPEZ-CEPERO, R.; FLARES, J. A.; ROMAGUERA, J. Knowledge of *Chlamydia trachomatis* assessed in a Puerto Rican medical student population. *PRHSJ*, v. 30, n. 1, p. 18-21, 2011.
 16. MAGÓN, T.; KLUZ, S.; CHRUSCIEL, A.; OBRZUT, B.; SKRET, A. The PCR assessed prevalence of *Chlamydia trachomatis* in aborted tissues. *Med Wieku Rozwoj*, v. 9, n. 1, p. 43-8, 2005.
 17. MARDH, P. A.; RIPA, T.; SVENSSON, L.; WESTRÖM, L. *Chlamydia trachomatis* infection in patients with acute salpingitis. *N Engl J Med*, v. 296, p. 1377-9, 1977.
 18. MARTINS, J.; LUÍS, C. R.; DE AGUIAR, T. C.; MARCOS, J. M. G.; BRITO, M. J. R. Infecção por *Chlamydia trachomatis* em el primer año de vida. *An Pediatr*, v. 74, n. 5, p. 298-302, 2011.
 19. MARQUES, C. A. S.; MENEZES, M. L. B. Infecção genital por *Chlamydia trachomatis* e esterilidade. *Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis*, v. 17, n. 1, p. 66-70, 2005.
 20. O'CONNELL, E. *et al.* *Chlamydia trachomatis* infection and sexual behavior among female student attending higher education in the Republic of Ireland. *BMC Public Health*, v. 9, 2009.
 21. OLIVEIRA, M. L.; AMORIM, M. M. R.; SOUZA, A. S. R.; ALBUQUERQUE, L. C. B.; COSTA, A. A. R. Infecção por *Chlamydia* em pacientes com e sem lesões intra-epiteliais cervicais. *Ver Assoc Med Bras*, v. 54, n. 6, p. 506-12, 2008.
 22. PATEL, A. L. *et al.* Prevalence of *Chlamydia* infection among women visiting a gynaecology outpatient department: evaluation of an in-house PCR assay of detection of *Chlamydia trachomatis*. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, v. 24, n. 9, 2010.
 23. RAMOS, B. R. *et al.* Prevalence and risk factors of *Chlamydia trachomatis* cervicitis in pregnant women at the genital tract infection in obstetrics unit care at Botucatu Medical School, São Paulo State University-UNESP. *Journal of Lower Genital Tract Disease*, v. 15, n. 1, p. 20-4, 2011.
 24. SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Molecular cloning a laboratory manual*. 2. ed. Estados Unidos: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. 1886 p.
 25. SANTOS, C.; TEIXEIRA, F.; VICENTE, A.; ASTOLFI-FILHO, S. Detection of *Chlamydia trachomatis* in endocervical smears of sexually active women in Manaus-AM, Brazil, by PCR. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, v. 7, n. 2, p. 91-5, 2003.
 26. SEADI, C. F.; ORAVEC, R.; POSER, B.; CANTARELLI, V. V.; ROSSETTI, M. L. Diagnóstico laboratorial da infecção pela *Chlamydia trachomatis*: vantagens e desvantagens das técnicas. *J Bras Patol Med Lab*, v. 38, n. 2, p. 125-33, 2001.
 27. SHALEPO, K.; SAVICHEVA, E.; UNEMO, M.; DOMEIKA, M. Diagnosis of *Chlamydia trachomatis* in Russia – in-house PCR assays may be effective but overall optimization and quality assurance are urgently needed. *PMIS*, v. 114, p. 500-7, 2006.
 28. SVENSSON, L.; MARDTH, P. A.; AHLGREN, M.; NORDENSKJÖLD, F. Ectopic pregnancy and antibodies to *Chlamydia trachomatis*. *Fertil Steril*, v. 44, n. 3, p. 313-7, 1985.
 29. TAN, H. H.; CHAN, R. Use of polimerase chain reaction on pooled cervical swabs to detect *Chlamydia trachomatis* infections in female sex workers in Singapore. *Singapore Med J*, v. 46, p. 215-8, 2005.
 30. TANG, J.; ZHOU, L.; LIU, X.; ZHANG, C.; ZHAO, V.; WANG, Y. Novel multiplex real-time PCR system using the SNP technology for the simultaneous diagnosis of *Chlamydia trachomatis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* and genetic typing of serovars of *C. trachomatis* and *U. parvum* in NGU. *Molecular and Cellular Probes*, v. 25, p. 55-9, 2011.
 31. VAN DER POL, B. *et al.* Multicenter evaluation of the AMPLICOR and automated COBAS AMPLICOS CT/NG tests for detection of *Chlamydia trachomatis*. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 38, n. 3, p. 1105-12, 2000.
 32. VAN DER POL, B. *et al.* Multicenter evaluation of the BDProbeTec ET system for detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in urine specimens, female endocervical swabs, and male urethral swabs. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 39, n. 3, p. 1008-16, 2001.
 33. VENKATESH, K. K. *et al.* African women recently infected with HIV-1 and HSV-2 have increased risk of acquiring *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in the methods for improving reproductive health in Africa trial. *Sex Transm Dis*, 2011.
 34. WATSON, E. *et al.* The accuracy and efficacy of screening test for *Chlamydia trachomatis*: a systematic review. *J Med Microbiol*, v. 51, p. 1021-31, 2002.
 35. YAMAKAZI, T. *et al.* Distribution of *Chlamydia trachomatis* among female prostitutes and non prostitutes in Thailand, and non prostitutes in Japan during the mid-90s. *Jpn J Infect Dis*, v. 58, p. 215-8, 2005.

Endereço para correspondência

Marcos Edgar Herkenhoff
 Rua Floriano Peixoto, 425
 Centro
 CEP: 89010-500 – Blumenau-SC