

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

**Detecção de *Trichomonas vaginalis* por três diferentes métodos
diagnósticos em uma população atendida pelo Sistema Único de Saúde
(SUS)**

MARIANA DICKI FREITAS

PORTO ALEGRE, 2021

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Detecção de *Trichomonas vaginalis* por três diferentes métodos
diagnósticos em uma população atendida pelo Sistema Único de Saúde
(SUS)**

Dissertação apresentada por
Mariana Dicki Freitas para obtenção do
GRAU DE MESTRE em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dr. Tiana Tasca

PORTO ALEGRE, 2021

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, em nível de Mestrado Acadêmico da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e aprovada em 24.09.2021, pela Banca examinadora constituída por:

Profa. Dr. Ana Paula Alegretti
Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Prof. Dr. Diogo Andre Pilger
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. José Antônio Tesser Poloni
Unisinos

Freitas, Mariana Dicki
Detecção de Trichomonas vaginalis por três
diferentes métodos diagnósticos em uma população
atendida pelo Sistema Único de Saúde (SUS) / Mariana
Dicki Freitas. -- 2021.
109 f.
Orientadora: Tiana Tasca.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Farmácia, Programa de
Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Porto Alegre,
BR-RS, 2021.

1. Trichomonas vaginalis. 2. diagnóstico. 3.
técnicas de amplificação de ácido nucléico. I. Tasca,
Tiana, orient. II. Título.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Pesquisa em Parasitologia do Departamento de Análises da Faculdade de Farmácia da UFRGS em colaboração com Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

Agradecimentos

A viabilização e concretização deste estudo contou com apoios e estímulos de muitos, sem os quais eu não teria chegado até essa etapa final.

A oportunidade de agradecer é também um risco que corro de deixar de mencionar alguém. Assim, peço desculpas antecipadamente.

À Universidade Federal do Rio Grande do Sul, especialmente à Faculdade de Farmácia e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas por me oportunizar um ensino de qualidade e do qual me orgulho em fazer parte.

Aos membros da banca examinadora por terem aceitado o convite.

À Prof^a Dr. Tiana Tasca pela oportunidade de retornar ao estudo de pós-graduação. Após quase 10 anos afastada das atividades acadêmicas, através de um desprezioso encontro em um restaurante somado à vontade de voltar a estudar e coragem, enviei um e-mail expondo aquele anseio o qual foi acolhido com todo carinho e empatia. Obrigada pela orientação, ensinamentos, incentivos, paciência, sim, muita paciência com minha rotina e disponibilidade de horários. Não contávamos com uma pandemia no meio desse processo, mas foste totalmente compreensiva com minha rotina de trabalho em um hospital que acabou se tornando da noite para o dia referência em Covid-19 e tornou meu ano de 2020, como o de muitos, caótico. És uma excelente professora, orientadora de verdade, ótima profissional e um exemplo que levo para minha vida.

Aos queridos colegas e amigos do GPTrico, que não tive oportunidade de uma convivência rotineira presencial, mas os momentos em que estivemos juntos fisicamente e virtualmente me deu a certeza que estou no melhor grupo de pesquisa. Não posso deixar de mencionar especialmente a Graziela Rigo e Fernanda Cardoso pelo valioso auxílio na pesquisa. A Michele Ferla, que entrou comigo no mestrado e durante todo o nosso caminho juntas me emocionou muito com o cuidado e preocupação para que eu nunca perdesse os prazos importantes no programa de pós-graduação. As colegas do LACT, especialmente a Marcia pelo auxílio com a logística das amostras clínicas utilizadas no estudo. Obrigada a todos pela ajuda e compartilhamento de ensinamentos.

Ao Prof. Dr. Alexandre Macedo e seu grupo de pesquisa, agradeço pela partilha do laboratório e agradável convívio que tivemos.

À Prof^a. Dr. Maria Luiza Bazzo e à Hanalydia Machado, da Universidade Federal de Santa Catarina, pela colaboração científica e disponibilidade em realizar os testes com tecnologia da Seegene[®].

A todos meus amigos que, de uma forma ou outra, estiveram presentes e me apoiaram durante este período. Sou grata pelo incentivo e por entenderem todas as vezes que estive ausente nesses últimos tempos. Juliana, Isabela, Rachel, Priscila, Lúcia, Thaís, obrigada!

A minha gestora Daniela Viegas, que acompanhou e incentivou desde o início esse projeto e foi flexível para permitir as rotinas de aulas e estudo com trabalho. Aos colegas de trabalho, pelo entendimento e apoio no desafio de conciliar a vida acadêmica e profissional, especialmente a Vanessa Souza pela escuta e agradável convívio diário.

Finalmente, agradeço a minha família, minha mãe Lisete e meu pai Reny por proporcionarem durante minha formação educacional um ensino de qualidade. Sei o quanto foi árduo para vocês e todas minhas conquistas pessoais e profissionais são graças a educação primária que recebi dentro de casa. Obrigada pelo amor incondicional e suporte sempre, vocês são essenciais na base da minha formação pessoal e profissional.

Ao meu irmão Gustavo, meu maior incentivador para fazer o mestrado e em todos os âmbitos da minha vida. Obrigada pelo apoio, amor, paciência, em não me deixar desistir quando achava que não tinha forças para continuar. Sempre comentamos que temos a maior sorte do mundo, em sermos irmãos e melhores amigos. Nosso amor e companheirismo transcende e tenho o maior orgulho da nossa relação.

A minha tia Isa, pela preocupação, interesse, apoio e acompanhamento durante essa fase.

Ao Pai Celestial pela minha vida e pela oportunidade de passar por essa jornada de crescimento e desenvolvimento, e por me permitir finalizar mais uma etapa importante na minha trajetória.

RESUMO

A tricomoníase é a infecção sexualmente transmissível (IST) não viral mais comum no mundo. A incidência global da infecção estimada em 2016 foi de 156 milhões entre adultos de 15 a 49 anos. No entanto, esses dados são subestimados, visto que o método diagnóstico mais utilizado é o exame direto a fresco, que apresenta baixa sensibilidade, as informações sobre o tempo estimado de infecção são limitadas e há evidências de casos assintomáticos não diagnosticados em ambos os sexos. O patógeno *Trichomonas vaginalis* pode causar infecções sintomáticas crônicas nas regiões vulvar e uretral do trato genital. Atualmente 80% dos casos - incluindo ambos os sexos - são assintomáticos, o que torna a doença silenciosa e crônica em curso, levando a complicações. Importante ressaltar é a associação da tricomoníase com o aumento da transmissão e aquisição do HIV/AIDS em uma relação bidirecional, apoiando a epidemia do HIV em populações onde a tricomoníase é endêmica. No tratamento da tricomoníase, os únicos medicamentos recomendados pela Food and Drug Administration (FDA, EUA) são o metronidazol (MTZ) e o tinidazol (TNZ). Fica evidenciado no presente estudo, conforme dados de revisão bibliográfica, que atualmente as técnicas com melhor acurácia para identificação de *T. vaginalis* são as que utilizam a tecnologia de amplificação de ácidos nucleicos (NAAT). Através de pesquisa realizada com amostras coletadas em uma rede de saúde pública, pudemos evidenciar o mesmo dado. De 747 amostras coletadas, obtivemos resultado positivo para identificação de *T. vaginalis* em exame direto a fresco e cultural em 2,81% das amostras e 3,88% utilizando a técnica de amplificação de ácido nucléico utilizando Allplex™ STI Essential Assay, Seegene®. Esforços são necessários para identificar alternativas para prevenir ou tratar a tricomoníase antes de confirmar esse prognóstico negativo. Diante disso, o aprimoramento dos métodos diagnósticos é de extrema importância para auxiliar no desenvolvimento dessas pesquisas.

Palavras-chave: *Trichomonas vaginalis*; tricomoníase; diagnóstico; técnicas de amplificação de ácido nucléico.

ABSTRACT

Trichomoniasis is the most common non-viral sexually transmitted infection (STI) in the world. The estimated global incidence of the infection in 2016 was 156 million among adults aged 15-49. However, these data are underestimated, since the most used diagnostic method is wet mount, which has low sensitivity, the information regarding the estimated duration of infection is limited and there is evidence of undiagnosed asymptomatic cases in both sexes. *Trichomonas vaginalis* pathogen can cause chronic symptomatic infections in the vulvar and urethral regions of the genital tract. Currently 80% of cases - including both sexes - are asymptomatic, which makes the disease silent and chronic in course, leading to complications. Very important and already well established is the association of trichomoniasis with increased transmission and acquisition of HIV/AIDS in a bidirectional relationship, supporting the HIV epidemic in populations where trichomoniasis is endemic. In the treatment of trichomoniasis, the only drugs recommended by the Food and Drug Administration (FDA, USA) are metronidazole (MTZ) and tinidazole (TNZ). It is evidenced in the present study, according to data from a literature review, that currently, as the technique with the best accuracy for identifying *T. vaginalis*, they are using the nucleic acid amplification technology (NAAT). Through research carried out with collected in a public health service, we were able to evidence the same data. From 747 samples collected, we obtained positive result for identification of *T. vaginalis* in wet mount and cultural examination in 2.81% of and 3.88% using the nucleic acid amplification technique using Allplex™ STI Essential Assay, Seegene®. Efforts are needed to identify alternatives to prevent or treat trichomoniasis before confirming this negative prognosis. In view of this, the improvement of diagnostic methods is extremely important to assist in these researches development.

Keywords: *Trichomonas vaginalis*; trichomoniasis; diagnosis; nucleic acid amplification techniques.

LISTA DE TABELAS

I. Capítulo I

Table 1. Most usual diagnostic methods for detection of <i>T. vaginalis</i> approved by the Food and Drug Administration (FDA/USA) (Workowski <i>et al.</i> 2021; Gaydos CA <i>et al.</i> , 2017; CDC).....	53
--	----

II. Capítulo II

Table 1. Detection of <i>Trichomonas vaginalis</i> in urine and vaginal secretions by three different techniques.....	72
--	----

Table 2. First and second analysis of detection of <i>Trichomonas vaginalis</i> in urine and vaginal secretions by Allplex™	72
--	----

Table 3. Diagnostic performance analysis for <i>T. vaginalis</i> detection both from wet mount and from culture examination compared to Allplex™ STI Essential Assay (Seegene®).....	73
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS: *Acquire Immune Deficiency Syndrome*

ATCC: *American Type Culture Collection*

CDC: *Centers for Disease Control and Prevention*

CT: *Chlamydia trachomatis*

DST: doença sexualmente transmissível

FDA: *Food and Drug Administration*

HIV: *Human Immunodeficiency Virus*

IST: infecção sexualmente transmissível

LACT: Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas

LAMP: loop-mediated isothermal amplification

MIC: concentração inibitória mínima

MTZ: Metronidazol

NAATs: *nucleic acid amplification tests*

NG: *Neisseria gonorrhoeae*

PCR: *polymerase chain reaction*

PIS: *patient Infected Status*

POC: *point of care*

TV: *Trichomonas vaginalis*

TNZ: Tinidazol

WHO: *World Health Organization*

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO.....	17
II. REVISÃO DO TEMA.....	23
II.1 <i>Trichomonas vaginalis</i>	25
II.2 Tricomoníase.....	27
II.3 Doença: manifestações clínicas e tratamento.....	29
II.4 Técnicas de diagnóstico.....	31
III. OBJETIVOS.....	35
IV. CAPÍTULO I.....	39
V. CAPÍTULO II.....	63
VI. DISCUSSÃO GERAL.....	77
VII. CONCLUSÕES.....	83
VIII. PERSPECTIVAS.....	87
IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	91
X. 1 ANEXO 1: Parecer consubstanciado do CEP	101

I. Introdução

A tricomoníase é a infecção sexualmente transmissível (IST) de origem não viral mais comum no mundo. A estimativa global da infecção em 2016 foi uma incidência de 156 milhões de casos em adultos entre 15 e 49 anos (ROWLEY *et al.*, 2019). Entretanto, esses dados são subestimados, pois o método diagnóstico mais utilizado é o exame direto a fresco, o qual apresenta baixa sensibilidade, as informações com relação à estimativa de duração da infecção são limitadas e há evidências de casos assintomáticos não diagnosticados em ambos os sexos (SECOR *et al.*, 2014). A prevalência mundial da tricomoníase é superior quando comparada a outras ISTs curáveis, como gonorreia e sífilis, ambas com 36.4 milhões, e clamídia, com 100.4 milhões de adultos infectados. Em contrapartida, a tricomoníase não é notificável e não existe sistema de vigilância e detecção de isolados resistentes ao tratamento, recebendo pouca ênfase dos programas de saúde pública de controle de ISTs (WHO, 2012).

O patógeno *T. vaginalis* pode causar infecções sintomáticas crônicas nas regiões vulvar e uretral do trato genital (MILLER *et al.*, 2011). Os homens geralmente são assintomáticos e considerados carreadores de *T. vaginalis*, no entanto, o parasito pode ser encontrado na glândula prostática causando inflamação aguda não específica (MITTEREGGER *et al.*, 2012). Atualmente 80% dos casos – incluindo ambos os sexos - são assintomáticos, o que torna a doença silenciosa e de curso crônico, levando a complicações como doença inflamatória pélvica, câncer cervical e de próstata (SUTCLIFFE *et al.*, 2012; VIIKKI, 2000), parto prematuro e baixo peso de recém-nascidos (MENEZES *et al.*, 2016). Muito importante e já bastante estabelecida é a associação da tricomoníase com o aumento da transmissão e aquisição de HIV/AIDS, numa relação bidirecional, sustentando a epidemia do HIV em populações onde a tricomoníase é endêmica (DAVEY *et al.*, 2019; MEDINA-MARINO *et al.*, 2020; GARRETT *et al.*, 2018; IJASAN *et al.*, 2018; MAVEDZENGE *et al.*, 2010; SORVILLO *et al.*, 2001). Em termos de coinfeção com HIV, Sorvillo *et al.* (1998) relataram uma taxa de 17,4% de detecção concomitante de tricomoníase em 212 mulheres HIV soropositivas. Mulheres portadoras de HIV apresentam maior suscetibilidade à infecção concomitante por *T. vaginalis*. Entre mulheres grávidas e portadoras de HIV foi encontrada uma prevalência de 20% de tricomoníase na África do Sul (PRICE *et al.*, 2018) e 10% no sul do Brasil (GATTI *et al.*, 2017).

Nos EUA, um estudo estimou que 750 casos novos/ano de infecção pelo HIV são facilitados pela presença de *T. vaginalis*, gerando custos no sistema de saúde de aproximadamente US \$ 167 milhões por ano (BUTLER *et al.*, 2010). Assim, o controle da infecção por *T. vaginalis* pode ser um dos meios mais eficazes para o manejo do risco de transmissão do HIV.

No tratamento da tricomoníase, os únicos fármacos recomendados pelo Food and Drug Administration (FDA, EUA) são o metronidazol (MTZ) e tinidazol (TNZ), utilizados geralmente via oral, 2,0 gramas em dose única, sendo o MTZ o fármaco de escolha (CDC; HELMS *et al.*, 2008). Ambos pertencem à classe dos 5-nitroimidazóis, com idêntico mecanismo de ação, e apresentam uma série de efeitos adversos que incluem náuseas, vômitos, cefaleia, insônia, vertigem e sonolência (MENEZES *et al.*, 2016). Apesar da maioria das infecções por *T. vaginalis* apresentarem cura, falhas terapêuticas ocorrem e incluem a resistência dos isolados de *T. vaginalis* frente a esses fármacos, estimada em 2,5 a 9,6% dos casos (VAN SCHALKWYK *et al.*, 2015; MEITES *et al.*, 2015). Como consequência, 160.000 pessoas nos EUA e aproximadamente 10 milhões no mundo necessitam tratamento alternativo. No momento, não existem opções para o tratamento oral da tricomoníase além dos fármacos MTZ e TNZ. O impacto da tricomoníase na saúde pública vem se tornando cada vez mais compreendido, incluindo os custos diretos e indiretos envolvidos no tratamento (SECOR *et al.*, 2014).

Com o avanço da aplicação de técnicas de diagnóstico mais sensíveis baseadas em testes de detecção de ácidos nucleicos, mais casos de infecção por *T. vaginalis* serão detectadas e mais infecções que aparentam cura clínica podem persistir na forma assintomática. Enquanto a tricomoníase permanece uma doença não notificada, quanto mais infecções são detectadas, mais pessoas necessitarão tratamento e provavelmente mais falhas terapêuticas ocorrerão. Assim, permanece a necessidade de determinar se casos assintomáticos de tricomoníase têm complicações para os indivíduos infectados e seus parceiros sexuais e, além disso, prevê-se que a restrição de tratamento em uma única classe, os 5- nitroimidazóis, tornar-se-á gradualmente uma estratégia de saúde pública insustentável.

Esforços são necessários para identificar alternativas para prevenir ou tratar a tricomoníase antes da confirmação desse prognóstico negativo. Neste

contexto, o diagnóstico da ocorrência de tricomoníase em amostras clínicas oriundas de coletas de uma população atendida pelo SUS através de três diferentes técnicas de diagnóstico pode contribuir para estratégias de inclusão de testes de screening de ISTs na rotina laboratorial de serviços de saúde pública e também contribuir na prevenção de transmissão de HIV/AIDS e outras ISTs.

II. Revisão do tema

II.1 *Trichomonas vaginalis*

O *Trichomonas vaginalis* é um protozoário parasita e a sua posição taxonômica é baseada no esquema de classificação de Dyer nos quais protozoários com flagelo “9+2” pertencem ao filo Zoomastigina (DYER, 1990). O ser humano é o único hospedeiro natural e o parasito coloniza o trato reprodutivo feminino e a uretra masculina. Por quase 80 anos, a presença deste protozoário foi considerada inofensiva, pertencendo à microbiota vaginal, até ser relacionado com vaginite (FICHOROVA, 2009).

O protozoário possui estrutura tipicamente piriforme, elipsoide ou oval quando visualizado em preparações fixadas e coradas, mas sua aparência é modificada sob condições físico-químicas, como por exemplo pH, temperatura, tensão de oxigênio e força iônica que afetam seu aspecto, que não possui a forma cística, somente a trofozoítica (MACIEL *et al.*, 2004). *T. vaginalis* possui quatro flagelos de cerca de 7 a 18 µm estão localizados em sua extremidade anterior e conferem seu movimento característico e uma membrana ondulante, cujo comprimento é equivalente à metade do comprimento da célula, que se adere ao corpo pela costa. Possui um axóstilo axial, uma estrutura rígida, começando no centrosoma e estendido até a extremidade posterior do protozoário. *T. vaginalis* possui um grande núcleo característico de células eucarióticas, bem como um aparelho de Golgi altamente desenvolvido. Como não possui mitocôndrias, *T. vaginalis* contém hidrogenossomos, organelas fornecedoras de energia (HRDY *et al.*, 2004). Os hidrogenossomos contêm enzimas cruciais para o metabolismo do piruvato no processo de glicólise, formação de hidrogênio molecular e síntese de ATP. A espécie *T. vaginalis* apresenta um ciclo de vida simplificado com multiplicação através de divisão binária longitudinal assexuada e transmissão através de relação sexual (BENCHIMOL, 2004).

O estabelecimento e sucesso da infecção depende de diversos fatores necessários para sua manutenção e sobrevivência. Dentre eles, e de fundamental importância, é o fornecimento de nutrientes essenciais para seu metabolismo, como carboidratos, aminoácidos, lipídeos, nucleotídeos púricos e pirimidínicos, ferro, vitaminas e sais inorgânicos adquiridos *in vivo* através da secreção vaginal ou através da fagocitose de bactérias e células do hospedeiro

ou nos casos *in vitro*, pela suplementação de meios de cultura (PETRIN *et al.*, 1998; TORRES-ROMERO & ARROYO, 2009)

O entendimento dos mecanismos envolvidos na infecção e patogênese da tricomoníase é baseado no estudo dessa interação parasito-hospedeiro. A patogênese do *T. vaginalis* é um processo complexo de múltiplos passos, envolvendo distintos mecanismos de interação com macromoléculas, células e tecidos e pode ser resumida através dos seguintes mecanismos principais: (1) citoaderência através das adesinas AP120, AP65, AP51, AP33 e AP23, do lipofosfoglicano e de proteínas BspA-like (Bacteroides surface protein A); (2) citólise através de proteases, proteínas formadoras de poro e fosfolipase A-like; e (3) escape da resposta imune do hospedeiro através de distintos mecanismos, como mimetismo e variação fenotípica (MENEZES *et al.*, 2016).

A resposta imune inata na tricomoníase é mais eficaz que a resposta imune humoral, a qual não é persistente. O corrimento vaginal de mulheres infectadas pelo protozoário contém leucócitos polimorfonucleares, principalmente neutrófilos. A interação entre *T. vaginalis* e os neutrófilos leva à produção de IL-1b, CCL2, IL-17, IL-22, IFN γ , IL-6, RANTES, MIP-3a, TNF, e IL-23 Além disso, exossomos produzidos por *T. vaginalis* induzem a secreção de IL-8 e IL-6 das células hospedeiras (Mercer *et al.*, 2018).

A resposta imune ao *T. vaginalis* é pouco compreendida. Neutrófilos polimorfonucleares (células PMNs) são as principais células imunológicas presentes na interface *T. vaginalis*-hospedeiro. No entanto, o mecanismo de eliminação de PMN de *T. vaginalis* não é muito bem caracterizado. A interação de neutrófilos e *T. vaginalis* revelou pela primeira vez a morte do trofozoíto por trogocitose, um processo no qual ocorrem "mordidas" da célula imune no patógeno, ao invés de um englobamento do organismo inteiro (MERCER *et al.*, 2018). Foi demonstrado neste estudo de Mercer *et al.* (2018) que os PMNs humanos matam rapidamente *T. vaginalis* de forma dose-dependente, dependente do contato e da armadilha extracelular de neutrófilos através de maneiras independentes. Em contraste com a fagocitose, se observa que a morte de *T. vaginalis* através de PMNs, utiliza a trogocitose. Tanto a trogocitose quanto a morte do parasita são dependentes da presença de serina PMN proteases e fatores séricos humanos.

A implementação da apoptose e a via de autofagia pode ser demonstrada em células epiteliais para decifrar mais mecanismos relacionados à patogênese do parasita. Uma melhor compreensão do mecanismo de interação parasita-hospedeiro pode levar à identificação de alvos moleculares em *T. vaginalis* para a concepção de novos fármacos tricomonocidas.

II.2 Tricomoníase

A tricomoníase é a doença causada pela infecção pelo protozoário *T. vaginalis*. É a infecção sexualmente transmissível não viral curável mais comum no mundo (WHO, 2012). A infecção está significativamente associada à idade avançada, menor nível educacional, baixo nível socioeconômico, e com o comportamento sexual, sobre ter dois ou mais parceiros ao ano (VAN GERWEN *et al.*, 2019).

O patógeno *T. vaginalis* pode causar infecções sintomáticas crônicas nas regiões vulvar e uretral do trato genital (MILLER *et al.*, 2011). Os homens geralmente são assintomáticos e considerados carreadores de *T. vaginalis*; no entanto, o parasito pode ser encontrado na glândula prostática causando inflamação aguda não específica (MITTERGGGER *et al.*, 2012).

O controle da infecção por *T. vaginalis* pode ser eficaz o manejo na redução do risco de transmissão do HIV. Os mecanismos mediados pelo *T. vaginalis* que potencializam o risco de aquisição do HIV envolvem: (i) rompimento da barreira epitelial através de adesinas, lipofosfoglicano e proteases levando ao sinal clínico conhecido como colpitis macularis ou cérvix com aspecto de morango caracterizado por pontos hemorrágicos. No estudo de Guenther *et al.* (2005) foi demonstrado que o contato de *T. vaginalis* no lado apical de monocamadas de células epiteliais polarizadas rompeu a integridade epitelial e permitiu a passagem de HIV para o lado basolateral das monocamadas. (ii) Recrutamento de linfócitos CD4+ e macrófagos à mucosa vaginal e cervical (MIRMONSEF *et al.*, 2012). A infecção por *T. vaginalis* também resulta em níveis aumentados de citocinas pró-inflamatórias na secreção vaginal, as quais podem afetar a suscetibilidade ao HIV. Especificamente, estudos demonstraram: aumento de IL-1 β em mulheres infectadas com HIV e *T. vaginalis* (MITCHELL *et al.*, 2011); aumento de IL-1 β e IL-8 em mulheres grávidas com vaginose bacteriana e tricomoníase (COTCH *et al.*, 1997); e

amostras de secreção vaginal e cervical de mulheres com tricomoníase induziram a produção de IL-8 por células que expressam TLR4 (ZARIFFARD *et al.*, 2004). (iii) Secreção de cisteína proteinases que degradam o inibidor de protease leucocitária secretória, fator de proteção das mucosas contra patógenos que desempenha um papel importante na prevenção da transmissão do HIV. Além disso, uma elevada carga viral é encontrada nos líquidos seminal e cervicovaginal de pacientes com tricomoníase. (iv) Tricomoníase e vaginose bacteriana atuam como cofatores na transmissão de HIV através da produção de resposta inflamatória clínica ou subclínica, alteração da imunidade inata da mucosa, microbiota vaginal e pH, e enfraquecimento ou ruptura da mucosa cérvico-vaginal intacta. A transmissão do HIV, na ausência de cofatores, é pouco eficiente (MASHA *et al.*, 2019; VAN GERWEN *et al.*, 2019; KISSINGER *et al.*, 2015). Estes fatos corroboram entre si facilitando a aquisição e transmissão do HIV, visto que no sítio de infecção há acúmulo dos linfócitos CD4+ (células-alvo do HIV), uma alta carga viral para infectá-los e pontos hemorrágicos que facilitam o acesso do vírus à corrente sanguínea.

Compreender os mecanismos pelos quais estas infecções, como a tricomoníase, facilitam a aquisição do HIV e determinar os aspectos sociocomportamentais dos indivíduos infectados são fatores importantes para estabelecer estratégias de prevenção eficazes, seguras e baseadas em evidências.

O *T. vaginalis* extragenital é possível, mas altamente incomum em comparação com as infecções genitais. Um estudo com 500 homens em San Francisco, Califórnia, relatou uma taxa de 0,6% de *T. vaginalis* retal, no entanto, isso pode refletir à deposição de DNA de *T. vaginalis* e não necessariamente uma infecção ativa. Poucos estudos de *T. vaginalis* extragenital entre mulheres foram publicados.

Essas espécies extragenitais de trichomonas que comumente infectam humanos são o *Trichomonas tenax* na cavidade oral e o *Pentatrichomonas hominis* no trato intestinal. *Trichomonas* spp. são geralmente específicos do local. No entanto, Duboucher *et al.* (2003) detectaram uma co-infecção pulmonar com *T. vaginalis* e *Pneumocystis* em um paciente masculino com AIDS. O diagnóstico foi alcançado pela identificação de pequenas subunidades de rRNA (SSU rRNA), sequências do gene que revelaram *T. vaginalis* em um lavado

broncoalveolar. Nesse relato, o paciente foi tratado com sulfametoxazol-trimetoprim e recuperado, a terapia padrão com metronidazol não foi utilizada (DE BRUM- VIEIRA *et al.*, 2017).

A eficácia, o benefício e o custo-benefício da triagem extragenital são desconhecidos, e nenhum teste é liberado pelo FDA para o teste extragenital; portanto, o teste retal e oral para *T. vaginalis* não é recomendado (CDC STI TREATMENTS GUIDELINES, 2021).

Entre pessoas sexualmente ativas, a melhor forma de prevenir a tricomoníase é por meio do uso consistente e correto de preservativo (externo ou interno). O uso de ducha íntima não é recomendado pois pode aumentar o risco de infecções vaginais, incluindo inclusive a tricomoníase (CDC STI TREATMENTS GUIDELINES, 2021).

II.3 Doença: manifestações clínicas e tratamento

Embora geralmente seja isolado da vagina, o *T. vaginalis* também pode infectar a uretra e a glândula de Skene. Uma vez estabelecida a infecção, esta pode persistir por longos períodos em mulheres. As infecções assintomáticas por *T. vaginalis* são bem documentadas, sendo que entre 25 a 50% de mulheres infectadas não apresentam sinais clínicos. No entanto, as mulheres também podem desenvolver sintomas que podem ser cíclicos e muitas vezes pioram durante o ciclo menstrual. Entre mulheres com infecção por *T. vaginalis*, apenas 11 a 17% apresentam corrimento anormal, odor, prurido, disúria ou queimação vaginal (LANDERS *et al.*, 2004).

O típico sinal clínico na tricomoníase, "*colpitis macularis*" ou cérvix com aspecto de morango, é observado apenas em 2% das mulheres. Em mulheres adultas saudáveis, o pH vaginal está em torno de 4,5, durante a tricomoníase ele aumenta para 6,0, o que torna assim um ambiente favorável ao crescimento do parasito. O fato de que os sintomas da tricomoníase são piores durante a menstruação podem ser explicados pela alta concentração de ferro e um ambiente de pH mais alto. Conseqüentemente, a reprodução de *T. vaginalis* e a adesão ao epitélio vaginal são promovidos, resultando na piora de sintomas (HARP, 2011).

Mesmo que a tricomoníase geralmente permaneça localizada na parte inferior do trato urogenital, pode ocasionalmente provocar manifestações mais

graves em mulheres, especialmente durante a gravidez. A tricomoníase causa morbidade reprodutiva e é associada a uma probabilidade 1,4 vezes maior de parto prematuro, ruptura prematura de membranas e bebês menos desenvolvidos para a idade gestacional (KISSINGER, 2009). Também foi determinada a associação de um risco 2,1 vezes maior de desenvolvimento de câncer cervical em uma meta-análise (MINKOFF *et al.*, 1984). Outra meta-análise de seis estudos relatou uma associação ligeiramente elevada, mas não estatisticamente significativa, entre *T. vaginalis* e câncer de próstata (SORVILLO *et al.*, 1998).

No tratamento da tricomoníase, os únicos fármacos recomendados pelo Food and Drug Administration (FDA, EUA) são o metronidazol (MTZ) e tinidazol (TNZ), utilizados geralmente via oral, 2,0 gramas em dose única, sendo o MTZ o fármaco de escolha (HELMS *et al.*, 2008). Ambos pertencem à classe dos 5-nitroimidazóis, com idêntico mecanismo de ação, e apresentam uma série de efeitos adversos que incluem náuseas, vômitos, cefaleia, insônia, vertigem e sonolência (MENEZES *et al.*, 2016). Apesar da maioria das infecções por *T. vaginalis* apresentarem cura, falhas terapêuticas ocorrem e incluem a resistência dos isolados de *T. vaginalis* frente a esses fármacos, estimada em 2,5 a 9,6% dos casos (KIRKCALDY *et al.*, 2012; SCHWEBKE, 2006). Como consequência, 160.000 pessoas nos EUA e aproximadamente 10 milhões no mundo necessitam tratamento alternativo (KIRKCALDY *et al.*, 2012). No momento, não existem opções para o tratamento oral da tricomoníase além dos fármacos MTZ e TNZ. Furazolidona, sulfato de paromomicina, iodo povidona e ácido bórico têm mostrado algum efeito nos tratamentos intravaginais, mas são muito menos eficazes que MTZ e TNZ (MUZNY *et al.*, 2012; TAYAL *et al.*, 2010).

Informações recentes do CDC STI TREATMENTS GUIDELINES, 2021 confirmam que os nitroimidazóis são a única classe de medicamentos com eficácia clinicamente demonstrada contra infecções por *T. vaginalis*. O tinidazol é geralmente de custo mais alto, atinge níveis mais elevados no soro e no trato geniturinário, tem meia-vida mais longa que o metronidazol (12,5 horas versus 7,3 horas) e tem menos efeitos colaterais gastrointestinais. Em ensaios clínicos randomizados, os regimes de metronidazol recomendados resultaram em taxas de cura de aproximadamente 84% –98%, e o regime recomendado de tinidazol resultou em taxas de cura de aproximadamente 92% –100%. Ensaios clínicos

randomizados comparando doses únicas de 2 g de metronidazol e tinidazol indicaram que tinidazol é equivalente ou superior ao metronidazol na obtenção de cura parasitológica e resolução dos sintomas. Estes ensaios clínicos informam ainda, que o gel de metronidazol não atinge níveis terapêuticos na uretra e nas glândulas perivaginais e por ser menos eficaz do que o metronidazol oral, seu uso não é recomendado.

II.4 Técnicas de diagnóstico laboratorial para tricomoníase

Devido aos vários efeitos prejudiciais associados a tricomoníase, exatidão e precisão no diagnóstico laboratorial são essenciais para rápida identificação do patógeno e imediato tratamento, reduzindo assim, o risco de transmissão e morbidade.

O exame microscópico direto a fresco é um método tradicional e um dos mais utilizados para o diagnóstico de *T. vaginalis*. Consiste na coleta de material de secreção vaginal através de um swab estéril introduzido na vagina e colocado em solução salina (entre 0,5-1,0mL). Em seguida, é preparado um esfregaço em lâmina para microscopia e analisado em lente objetiva 40x de aumento (NATHAN *et al*, 2015). No entanto é uma técnica que, apesar de baixo custo no laboratório de rotina, requer experiência do analista e viabilidade do organismo na amostra (ASMAH *et al.*, 2018; DAVEY *et al*, 2019). Além disso, possui baixa sensibilidade, variando entre 50-70% (BACHMANN *et al.*, 2011).

Outro método diagnóstico laboratorial utilizado é o exame cultural. É uma técnica mais sensível que o exame direto a fresco, com taxas entre 44-75%, e até 2015 foi considerado como padrão-ouro para o diagnóstico de *T. vaginalis* (HOBBS, 2013; PATIL *et al.*, 2012) normalmente utilizando o meio de cultura comendo triptiase, extrato de levedo e maltose (TYM, do inglês *trypticase-yeast extract-maltose*) descrito por Diamond (1957). No entanto, este método é limitado no caso de organismos não viáveis em espécime. Além disso, necessita maior tempo de análise, levando entre de 2 a 7 dias o tempo de incubação, sendo necessária análise diária em lâmina de microscopia para verificar a viabilidade de possíveis trofozoítos na amostra (VAN DER POL, 2016).

Técnicas de coloração também são utilizadas associadas ao exame direto a fresco para melhorar o diagnóstico, sendo mais comumente utilizada a coloração de Papanicolao (MENEZES *et al.*, 2016). Outra coloração também

utilizada é a de Giemsa, porém estudos mostram que essas técnicas mesmo associadas ao exame direto a fresco podem gerar resultados tanto falso negativos como falso positivos (WORKOWSKI *et al.*, 2021).

Melhores alternativas ao exame direto a fresco e cultural e que podem ser utilizados independente da presença de sintomas são os testes rápidos (POC, do inglês *point of care*) (GAYDOS *et al.*, 2014; HUPPERT *et al.*, 2007). O teste OSOM (Sekisui Diagnostics) é um ensaio de enzima imunocromatográfica realizado em uma coluna de medição de fluxo capilar com uma amostra de esfregaço vaginal. Os resultados estão disponíveis em aproximadamente 15 min e as características de desempenho de este ensaio são muito boas, com sensibilidade em torno de 80-90% (GAYDOS *et al.*, 2017). Outro teste é o Xpert TV assay (Cepheid), que apresenta taxas de sensibilidade em torno de 95-100% em coletas de swab vaginal de pacientes sintomáticas (SCHWEBKE, 2018). O Solana Trichomonas Assay (Quidel) é um ensaio designado como um POC moderadamente complexo pelo FDA. Ele requer uma etapa curta de preparação de amostra e pode produzir resultados em até 35 minutos. A sensibilidade do ensaio varia de 92,9% em amostras de urina de pacientes assintomáticos mulheres a 100% em esfregaços vaginais em mulheres assintomáticas, com especificidades de 98% (GAYDOS *et al.*, 2017). Todos esses POC mencionados são aprovados pelo FDA.

Testes utilizando a amplificação de ácidos nucleicos (NAAT) são hoje considerados padrão-ouro no diagnóstico de *T. vaginalis* e outras ISTs (VAN DER POL, 2016). O Aptima TV Assay (Hologic) foi o primeiro teste aprovado pelo FDA para detecção de *T. vaginalis*. A tecnologia desse ensaio é baseada na extração de rRNA de espécimes de coletas de swab vaginal e endocervical. A performance desse teste é excelente com taxas de sensibilidade e especificidade em torno de >90% e >95% respectivamente (NYE *et al.*, 2009). Outro teste disponível é o Affirm VPIII (BD, Sparks), que utiliza tecnologia de identificação de DNA em coletas de swab vaginal e identifica simultaneamente *Candida albicans*, *Gardnerella vaginalis* e *T. vaginalis*. É um teste rápido, com resultados em até 1 hora (LOWE *et al.*, 2009). O ensaio Max CTGCTV2 (Becton Dickinson) também é aprovado pela FDA para detecção de *T. vaginalis* em amostras de esfregaço vaginal e em amostras de urina de ambos os sexos. Apresenta sensibilidade e especificidade de 96,2% –100% e 99,1% - 100%,

respectivamente, dependendo do tipo de amostra (CDC). O Allplex™ STI Essential assay (Seegene®) é baseado em um método multiplex de PCR em tempo-real (RT-PCR) que permite a detecção simultânea de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* e *T. vaginalis* através de técnica de amplificação de ácidos nucleicos (DE SALAZAR *et al.*, 2019). Um estudo de Vieira-Batista *et al* (2021) demonstrou resultados de sensibilidade de especificidade de 94,4 and 99,9%, respectivamente, em amostras de swab vaginal coletados em um serviço de ginecologia entre pacientes sintomáticas e assintomáticas entre 18 e 60 anos de idade utilizando esse teste.

Considerando a importância da tricomoníase na saúde pública, é essencial o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico laboratorial mais eficazes, visando o diagnóstico precoce de pessoas sintomáticas mas principalmente as assintomáticas, para início do tratamento da infecção e também como medida de controle de erradicação da doença.

III. Objetivos

Objetivo Geral

O objetivo geral deste estudo foi detectar a presença do patógeno *T. vaginalis* em amostras clínicas coletadas em população atendida por um serviço de saúde pública, o Sistema Único de Saúde (SUS), visando estratégias para o controle da tricomoníase, através de três diferentes métodos diagnósticos.

Objetivos específicos:

- Realizar revisão bibliográfica sobre os métodos diagnósticos disponíveis atualmente na rotina laboratorial para detecção de *T. vaginalis*;
- Identificar a presença de trofozoítos de *T. vaginalis* em amostras de urina e secreção vaginal através de exame direto à fresco, exame cultural e uma técnica de PCR;
- Avaliar sensibilidade e especificidade dos três métodos diagnósticos testados.

From wet mount to nucleic acid amplification techniques: a review on currently diagnostic methods for *Trichomonas vaginalis* detection.

Mariana Dicki Freitas, Tiana Tasca

*O texto completo do capítulo I, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 39-60, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta de revisão de métodos diagnósticos atuais para detecção de *Trichomonas vaginalis*.*

Detection of *Trichomonas vaginalis* by three different diagnostic methods in a population served by the Brazilian Public Health System.

Mariana Dicki Freitas, Fernanda Gomes Cardoso, Graziela Vargas Rigo, Hanalydia de Melo Machado, Maria Luiza Bazzo, Tiana Tasca

*O texto completo do capítulo II, que no texto completo da dissertação defendida ocupa o intervalo de páginas compreendido entre as páginas 63-75, foi suprimido por tratar-se de manuscrito em preparação para publicação em periódico científico. Consta de detecção de *Trichomonas vaginalis* por três diferentes métodos diagnósticos.*

VI. DISCUSSÃO GERAL

A tricomoníase é a infecção sexualmente transmissível não-viral mais comum no mundo e é classificada pelo CDC/EUA como doença parasitária negligenciada, ou seja, considerada endêmica em populações de baixa renda, e apresenta indicadores reduzidos de investimentos em pesquisa, produção de medicamentos e controle (SECOR *et al.*, 2014).

A prevalência mundial de tricomoníase é muito maior do que outras DSTs curáveis, como gonorréia e sífilis, ambas com 36,4 milhões de casos, e infecção por Chlamydia, com 100,4 milhões de adultos infectados. Nos EUA, vários estudos determinaram a prevalência da tricomoníase na faixa de 2,5% a 26,2%. Os países nórdicos da Europa respondem com 1,5% da a prevalência de tricomoníase e na África do Sul a prevalência foi de 6,5%, excluindo casos de co-infecção com HIV. Estudos na América Latina revelaram prevalência semelhante valores de 7,6% na Argentina, 7,8% no Chile e 9,1% no Peru. No Brasil, a prevalência varia de 2,6% a 20% entre as mulheres e o Ministério da Saúde estima uma prevalência geral de 15%. Esses dados incertos são devido às limitações na seleção da amostra e a doença não ser de notificação compulsória (MENEZES *et al.*, 2016).

Nesse contexto, Secor *et al.* (2014) alerta para a classificação da tricomoníase como doença negligenciada desde a prevalência dados são subestimados devido a falhas no diagnóstico como consequência de métodos insensíveis ou falta de testes em pacientes assintomáticos e conhecimento limitado relacionado a duração da infecção

A infecção está associada a sérios problemas de saúde como infertilidade, complicações na gravidez, predisposição ao câncer cervical e prostático, além de ser facilitadora para a aquisição e transmissão de HIV (VAN DER POL *et al.*, 2007, POOLE & MCCLELLAND, 2013). Embora a tricomoníase seja considerada curável milhares de pessoas infectadas necessitam de tratamento alternativo aos 5-nitroimidazóis, como MTZ e TNZ, os únicos fármacos aprovados pelo FDA (SCHWEBKE & BARRIENTES, 2006) devido à ocorrência de resistência aos medicamentos e não adesão ao tratamento devidos aos efeitos adversos provocados pelos mesmos.

Investimentos em pesquisas para desenvolvimento de novas técnicas de identificação do agente causador da patologia, *T. vaginalis*, são necessários e

contribuem de forma direta para o desenvolvimento também de novas terapias medicamentosas. Uma vez que identificado o parasita em portadores sintomáticos mas principalmente em assintomáticos, levam de forma direta a identificação de formas mais resistentes do parasita (VIEIRA *et al.*, 2017).

O Capítulo I dessa dissertação teve como objetivo evidenciar as técnicas de diagnóstico de *T. vaginalis* tanto as mais tradicionais utilizadas na rotina laboratorial, como técnicas de diagnóstico de maior sensibilidade e especificidade que utilizam o método de amplificação de ácidos nucleicos, e que hoje em dia são consideradas “padrão-ouro” para a identificação do protozoário (VAN DER POL, 2016).

Fica claro também nesse capítulo, que alternativas como os testes rápidos (point of care) disponíveis hoje em dia para a inserção na rotina laboratorial (GAYDOS *et al.*, 2017), além de fornecerem o diagnóstico de maneira mais rápida e custo acessível, poderiam ser associados a testes de triagem de ISTs em serviços de saúde pública. Opção já utilizada em muitos países onde a tricomoníase é endêmica, como na África, é utilizar estes testes rápidos como triagem em mulheres jovens em idade fértil e também em mulheres grávidas (GARRET *et al.*, 2019).

Além disso, comprovadamente documentado, as técnicas NAAT apresentam melhores resultados de sensibilidade e especificidade na identificação de *T. vaginalis*, bem como de outras infecções sexualmente transmissíveis que podem estar associadas (DE SALAZAR *et al.*, 2019; VIEIRA-BATISTA *et al.*, 2021). Por este motivo, muitos dos testes hoje em dia disponíveis no mercado apresentam kits de múltipla detecção de patógenos, sendo os mais comumente associados *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* e *T. vaginalis*.

No Capítulo II dessa dissertação, através de um estudo utilizando três métodos de identificação para *T. vaginalis*: exame direto à fresco, cultural e técnica de amplificação de ácido nucleico através do teste Allplex™ STI Essential assay da Seegene®. Os resultados revelaram que o Allplex™ apresentou melhor acurácia na identificação do patógeno. A presença do protozoário foi constatada em 3,88% da amostragem utilizando Allplex™ e em

2,81% das amostras utilizando as técnicas exame direto à fresco e cultural. Os novos testes de amplificação de ácidos nucleicos apresentam maior acurácia e são mais rápidos no diagnóstico clínico (CDC, WORKOWSKI *et al.*, 2021).

É de suma importância o reconhecimento e o impacto das infecções por *T.vaginalis* na saúde pública com o desenvolvimento de uma rede de cuidado relacionado às demais ISTs além do HIV, que possui maior atenção e programas na rede pública já estabelecidos. Alternativas como disponibilizar testes de screening de ISTs são medidas que além de auxiliar na prevenção entrariam como medidas de economia em gastos relacionados a terapias medicamentosas. O impacto da tricomoníase na saúde pública vem se tornando cada vez mais relevante, incluindo os custos diretos e indiretos envolvidos no tratamento (SECOR *et al.*, 2014; DAVEY *et al.*, 2019; MEDINA-MARINO *et al.*, 2020; GARRETT *et al.*, 2018; MAVEDZENGE *et al.*, 2010; SORVILLO *et al.*, 2001)

Segundo recomendações recentes do CDC através do STI Treatments Guidelines de 2021, os serviços de saúde no manejo da tricomoníase devem aconselhar as pessoas com infecções por *T. vaginalis* a se absterem de sexo até que elas e seus parceiros sexuais sejam tratados (ou seja, quando a terapia for concluída e todos os sintomas forem resolvidos) e além disso que teste para outras ISTs, incluindo HIV, sífilis, gonorreia e clamídia, deve ser realizado para pessoas com *T. vaginalis*.

Em um cenário onde mais infecções por *T. vaginalis* e outras ISTs em homens e mulheres assintomáticos ocorrerem e não forem diagnosticadas, o manejo de controle de disseminação de ISTs se torna cada vez mais árduo e oneroso tanto para gestão de saúde privada quanto pública. Dessa forma, a atenção para a problemática da infecção por *T. vaginalis* urge e é de real importância para o tratamento e controle dessa infecção e de outras ISTs relacionadas.

VII. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no desenvolvimento desta dissertação permitem as seguintes conclusões:

1. As técnicas de identificação de *T. vaginalis* por NAATs possuem maior sensibilidade e especificidade que as técnicas usuais utilizadas na rotina laboratorial, sendo atualmente consideradas padrão ouro e melhor opção de diagnóstico para a tricomoníase, contribuindo assim, para o tratamento precoce evitando a transmissão;
2. Para a utilização da técnica desse estudo, no que diz respeito a condições de temperatura e tempo de armazenamento das amostras de urina e secreção vaginal, as mesmas permaneceram viáveis por 22 meses preservadas a -80°C sem prejuízo na análise final;
3. É de fundamental importância, principalmente em serviços de saúde pública, a priorização do uso de testes screening de ISTs, como ferramenta mais eficaz para o tratamento e também como prevenção da disseminação das mesmas, o que pode contribuir de alguma forma na redução dos custos com tratamentos medicamentosos.

VIII. PERSPECTIVAS

A fim de seguir na prevenção de novos casos e, dessa forma, evitar os piores efeitos adversos tanto de formas sintomáticas, mas principalmente das formas assintomáticas da infecção por *T. vaginalis*:

1. Estabelecer o cultivo in vitro de isolados clínicos de *T. vaginalis* a partir de amostras de urina e secreção vaginal;
2. Determinar o perfil de suscetibilidade dos isolados clínicos de *T. vaginalis* a metronidazol e tinidazol;
3. Correlacionar as características de patogenicidade e os níveis de resistência apresentados pelos isolados de *T. vaginalis* com a história clínica e aspectos sociocomportamentais dos pacientes.

A médio e longo prazos, o estudo de comparação de técnicas de diagnóstico de *T. vaginalis* pode ser pensando como proposta para serviços de saúde pública realizarem testes de maior sensibilidade e especificidade a fim de reduzir custos com tratamentos de infecção tanto por *T. vaginalis* como de outras ISTs que possam ser realizadas num mesmo teste de screening e também como estratégia para prevenção e redução de infecções por HIV.

IX. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASMAH RH, AGYEMAN RO, OBENG-NKRUMAH N, BLANKSON H, AWUAH-MENSAH G, CHAM M, ASARE L, AYEH-KUMI PF. *Trichomonas vaginalis* infection and the diagnostic significance of detection tests among Ghanaian outpatients. BMC Womens Health 27;18(1):206, 2018.
- BACHMANN LH, HOBBS MM, SEÑA AC, SOBEL JD, SCHWEBKE JR, KRIEGER JN, MCCLELLAND RS, WORKOWSKI KA. *Trichomonas vaginalis* genital infections: progress and challenges. Clin Infect Dis. 53 Suppl 3(Suppl 3):S160-72, 2011.
- BENCHIMOL, M. Trichomonads under microscopy. Microscopy and Microanalysis, v. 10, n.5, p.528-550, 2004.
- BOUCHEMAL K, BORIES C, LOISEAU PM. Strategies for Prevention and Treatment of *Trichomonas vaginalis* Infections. Clin Microbiol Rev. 30(3):811-825, 2017.
- BUTLER, SARA E.; AUGOSTINI, PETER; SECOR, W. EVAN. Mycoplasma hominis infection of *Trichomonas vaginalis* is not associated with metronidazole-resistant trichomoniasis in clinical isolates from the United States. Parasitology research, v. 107, n. 4, p. 1023-1027, 2010.
- COTCH MF, PASTOREK JG 2ND, NUGENT RP, HILLIER SL, GIBBS RS, MARTIN DH, ESCHENBACH DA, EDELMAN R, CAREY JC, REGAN JA, KROHN MA, KLEBANOFF MA, RAO AV, RHOADS GG. *Trichomonas vaginalis* associated with low birth weight and preterm delivery. The Vaginal Infections and Prematurity Study Group. Sex Transm Dis. 24(6):353-60, 1997.
- DE BRUM VIEIRA P, TASCA T, SECOR WE. Challenges and Persistent Questions in the Treatment of Trichomoniasis. Curr Top Med Chem. 17(11):1249-1265, 2017.
- DE SALAZAR A, ESPADAFOR B, FUENTES-LÓPEZ A, BARRIENTOS-DURÁN A, SALVADOR L, ÁLVAREZ M, GARCÍA F. Comparison between Aptima Assays (Hologic) and the Allplex STI Essential Assay (Seegene) for the diagnosis of Sexually transmitted infections. PLoS One 14(9):e0222439, 2019.
- DIAMOND, LOUIS S. The establishment of various trichomonads of animals and man in axenic cultures. The Journal of parasitology, v. 43, n. 4, p. 488-490, 1957.

- DUBOUCHER C, NOEL C, DURAND-JOLY I, GERBOD D, DELGADO-VISCOGLIOSI P, JOUVESHOMME S, LECLERC C, CARTOLANO GL, DEI-CAS E, APRON M, VISCOGLIOSI E. Pulmonary coinfection by *Trichomonas vaginalis* and *Pneumocystis* sp. as a novel manifestation of AIDS. *Hum. Pathol.* 34, 508-511, 2003.
- DYER, B. Handbook of Protozoa. Jones and Bartlett, Boston, Mass. 1990. Phylum Zoomastigina Class Parabasalia, p. 252–258, 1990.
- FICHOROVA RN. Impact of *T. vaginalis* infection on innate immune responses and reproductive outcome. *J Reprod Immunol.* 83(1-2):185-9, 2009.
- GARRETT NJ, OSMAN F, MAHARAJ B, NAICKER N, GIBBS A, NORMAN E, SAMSUNDER N, NGOBESE H, MITCHEV N, SINGH R, ABDOOL KARIM SS, KHARSANY ABM, MLISANA K, ROMPALO A, MINDEL A. Beyond syndromic management: Opportunities for diagnosis-based treatment of sexually transmitted infections in low- and middle-income countries. *PLoS One* 24;13(4):e0196209, 2018.
- GATTI FA, CEOLAN E, GRECO FS, SANTOS PC, KLAFKE GB, DE OLIVEIRA GR, VON GROLL A, DE MARTINEZ AM, GONÇALVES CV, SCAINI CJ. The prevalence of trichomoniasis and associated factors among women treated at a university hospital in southern Brazil. *PLoS One* 27;12(3):e0173604, 2017.
- GAYDOS C, HARDICK J. Point of care diagnostics for sexually transmitted infections: perspectives and advances. *Expert Rev Anti Infect Ther* 12:657–672, 2014.
- GAYDOS CA, SCHWEBKE J, DOMBROWSKI J, MARRAZZO J, COLEMAN J, SILVER B, BARNES M, CRANE L, FINE P. Clinical performance of the Solana® Point-of-Care *Trichomonas* Assay from clinician-collected vaginal swabs and urine specimens from symptomatic and asymptomatic women. *Expert Rev Mol Diagn.* 17(3):303-306, 2017.
- GAYDOS CA, KLAUSNER JD, PAI NP, KELLY H, COLTART C, PEELING RW. Rapid and point-of-care tests for the diagnosis of *Trichomonas vaginalis* in women and men. *Sex Transm Infect.* 93(S4):S31-S35, 2017.

- GUENTHNER PC, SECOR WE, DEZZUTTI CS. *Trichomonas vaginalis*-induced epithelial monolayer disruption and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication: implications for the sexual transmission of HIV-1. *Infect Immun.* 73(7):4155-60, 2005.
- HARP DF, CHOWDHURY I. Trichomoniasis: evaluation to execution. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 157:3–9, 2011.
- HELMS DJ, MOSURE DJ, SECOR WE, WORKOWSKI KA. Management of *trichomonas vaginalis* in women with suspected metronidazole hypersensitivity. *Am J Obstet Gynecol.* 198(4):370.e1-7, 2008.
- HRDY I, HIRT RP, DOLEZAL P, BARDONOVÁ L, FOSTER PG, TACHEZY J, EMBLEY TM. *Trichomonas hydrogenosomes* contain the NADH dehydrogenase module of mitochondrial complex I. *Nature* 432(7017):618-22, 2004.
- HOBBS MM, SEÑA AC. Modern diagnosis of *Trichomonas vaginalis* infection. *Sex Transm Infect.* 89(6):434-8, 2013.
- HUPPERT JS, MORTENSEN JE, REED JL, KAHN JA, RICH KD, MILLER WC, HOBBS MM. Rapid antigen testing compares favorably with transcription-mediated amplification assay for the detection of *Trichomonas vaginalis* in young women. *Clin Infect Dis* 45:194 –198, 2007.
- IJASAN O, OKUNADE KS, OLUWOLE AA. The prevalence and risk factors for *Trichomonas vaginalis* infection amongst human immunodeficiency virus-infected pregnant women attending the antenatal clinics of a university teaching hospital in Lagos, South-Western, Nigeria. *Niger Postgrad Med Journal* 25(1):21-26, 2018.
- JOSEPH DAVEY DL, NYEMBA DC, GOMBA Y, BEKKER LG, TALEGHANI S, DITULLIO DJ, SHABSOVICH D, GORBACH PM, COATES TJ, KLAUSNER JD, MYER L. Prevalence and correlates of sexually transmitted infections in pregnancy in HIV-infected and- uninfected women in Cape Town, South Africa. *PLoS One* 14(7):e0218349, 2009.
- JOSEPH DAVEY D, PETERS RPH, KOJIMA N, MUDAU M, DE VOS L, OLIVIER D, MCINTYRE JA, KLAUSNER JD, MEDINA-MARINO A. Sexual Behaviors of

Human Immunodeficiency Virus-Infected Pregnant Women and Factors Associated With Sexually Transmitted Infection in South Africa. *Sex Transm Dis.* 45(11):754-761, 2018.

KIRKCALDY RD, AUGOSTINI P, ASBEL LE, BERNSTEIN KT, KERANI RP, METTENBRINK CJ, PATHELA P, SCHWEBKE JR, SECOR WE, WORKOWSKI KA, DAVIS D, BRAXTON J, WEINSTOCK HS. *Trichomonas vaginalis* antimicrobial drug resistance in 6 US cities, STD Surveillance Network, 2009-2010. *Emerg Infect Dis.* 18(6):939-43, 2012.

KISSINGER P, AMEDEE A, CLARK RA, DUMESTRE J, THEALL KP, MYERS L, HAGENSEE ME, FARLEY TA, MARTIN DH. *Trichomonas vaginalis* treatment reduces vaginal HIV-1 shedding. *Sex Transm Dis.* 36(1):11-6, 2009.

LANDERS DV, WIESENFELD HC, HEINE RP, KROHN MA, HILLIER SL. Predictive value of the clinical diagnosis of lower genital tract infection in women. *Am J Obstet Gynecology* 190(4):1004-10, 2004.

LOWE NK, NEAL JL, RYAN-WENGER NA. Accuracy of the clinical diagnosis of vaginitis compared to a DNA probe laboratory standard. *Obstet Gynecol* 113:89 –95, 2009.

MACIEL, GISELE DE PAIVA, TASCA, TIANA E DE CARLI, GERALDO ATTILIO. Aspectos clínicos, patogênese e diagnóstico de *Trichomonas vaginalis*. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial* [online] v. 40, n. 3, 2004.

MASHA SC, COOLS P, SANDERS EJ, VANEECHOUTTE M, CRUCITTI T. *Trichomonas vaginalis* and HIV infection acquisition: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm Infect.* 95(1):36-42, 2019.

MAVEDZENGE SN, POL BV, CHENG H, MONTGOMERY ET, BLANCHARD K, DE BRUYN G, RAMJEE G, STRATEN AV. Epidemiological synergy of *Trichomonas vaginalis* and HIV in Zimbabwean and South African women. *Sex Transm Dis.* 37(7):460-6, 2010.

MEDINA-MARINO A, MUDAU M, KOJIMA N, PETERS RP, FEUCHT UD, VOS L, OLIVIER D, MUZNY CA, MCINTYRE JA, KLAUSNER JD. Persistent *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* or *Trichomonas vaginalis* positivity after

treatment among human immunodeficiency virus-infected pregnant women, South Africa. *Int J STD AIDS* 31(4):294-302, 2020.

MEITES E, GAYDOS CA, HOBBS MM, KISSINGER P, NYIRJESY P, SCHWEBKE JR, SECOR WE, SOBEL JD, WORKOWSKI KA. A Review of Evidence-Based Care of Symptomatic Trichomoniasis and Asymptomatic *Trichomonas vaginalis* Infections. *Clin Infect Dis.* 15;61 Suppl 8(Suppl 8): S837-48, 2015.

MENEZES, CAMILA BRAZ; FRASSON, AMANDA PICCOLI; TASCA, TIANA. Trichomoniasis-are we giving the deserved attention to the most common non-viral sexually transmitted disease worldwide?. *Microbial cell*, v. 3, n. 9, p. 404, 2016.

MILLER, MEGAN R.; NYIRJESY, PAUL. Refractory trichomoniasis in HIV-positive and HIV-negative subjects. *Current infectious disease reports*, v. 13, n. 6, p. 595-603, 2011.

MINKOFF H, GRUNEBAUM AN, SCHWARZ RH, FELDMAN J, CUMMINGS M, CROMBLEHOLME W, CLARK L, PRINGLE G, MCCORMACK WM. Risk factors for prematurity and premature rupture of membranes: a prospective study of the vaginal flora in pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.*150(8):965-72, 1984.

MIRMONSEF P, KRASS L, LANDAY A, SPEAR GT. The role of bacterial vaginosis and trichomonas in HIV transmission across the female genital tract. *Curr HIV Res.* 10(3):202-10, 2012.

MITCHELL C, HITTI J, PAUL K, AGNEW K, COHN SE, LUQUE AE, COOMBS R. Cervicovaginal shedding of HIV type 1 is related to genital tract inflammation independent of changes in vaginal microbiota. *AIDS Res Hum Retroviruses* 27(1):35-9, 2011.

MITTEREGGER, D., ABERLE, S. W., MAKRISTATHIS, A., WALOCHNIK, J., BROZEK, W., MARBERGER, M., & KRAMER, G. High detection rate of *Trichomonas vaginalis* in benign hyperplastic prostatic tissue. *Medical microbiology and immunology*, 201(1), 113-116, 2012.

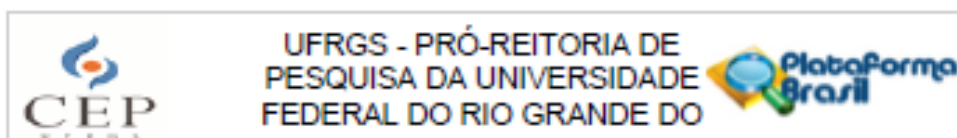
MUZNY C, BARNES A, MENA L. Symptomatic *Trichomonas vaginalis* infection in the setting of severe nitroimidazole allergy: successful treatment with boric acid. *Sex Health.* 9(4):389-91, 2012.

- NATHAN B, APPIAH J, SAUNDERS P, HERON D, NICHOLS T, BRUM R, ALEXANDER S, BARAITSER P, ISON C. Microscopy outperformed in a comparison of five methods for detecting *Trichomonas vaginalis* in symptomatic women. *Int J STD AIDS* 26(4):251-6, 2015.
- NYE MB, SCHWEBKE JR, BODY BA. Comparison of APTIMA *Trichomonas vaginalis* transcription-mediated amplification to wet mount microscopy, culture, and polymerase chain reaction for diagnosis of trichomoniasis in men and women. *Am J Obstet Gynecol* 200:188e1-7, 2009.
- PATIL M, NAGAMOTI J, METGUD S. Diagnosis of trichomonas vaginalis from vaginal specimens by wet mount microscopy, in pouch TV culture system, and PCR. *J Global Infect Dis.* 4:22, 2012.
- PETRIN, D.; DELGATY, K.; BHATT, R.; GARBER, G. Clinical and microbiological aspects of *Trichomonas vaginalis*. *Clinical Microbiology Reviews*, v.11, n.2, p.300-317, 1998.
- POOLE DN, MCCLELLAND RS. Global epidemiology of *Trichomonas vaginalis*. *Sex Transm Infect.* 2013 Sep;89(6):418-22. doi: 10.1136/sextrans-2013-051075. Epub 2013 Jun 6. Erratum in: *Sex Transm Infect.* 90(1):75, 2013.
- PRICE CM, PETERS RPH, STEYN J, MUDAU M, OLIVIER D, DE VOS L, MORIKAWA E, KOCK MM, MEDINA-MARINO A, KLAUSNER JD. Prevalence and Detection of *Trichomonas vaginalis* in HIV-Infected Pregnant Women. *Sex Transm Dis.* 45(5):332-336, 2018.
- ROWLEY J, VANDER HOORN S, KORENROMP E, LOW N, UNEMO M, ABURADDAD LJ, CHICO RM, SMOLAK A, NEWMAN L, GOTTLIEB S, THWIN SS, BROUTET N, TAYLOR MM. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016. *Bull World Health Organ.*1;97(8):548-562P, 2019.
- SCHWEBKE JR, BARRIENTES FJ. Prevalence of *Trichomonas vaginalis* isolates with resistance to metronidazole and tinidazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 50(12):4209-10, 2006.

- SCHWEBKE JR, GAYDOS CA, DAVIS T, MARRAZZO J, FURGERSON D, TAYLOR SN, SMITH B, BACHMANN LH, ACKERMAN R, SPURRELL T, FERRIS D, BURNHAM CA, RENO H, LEBED J, EISENBERG D, KERNDT P, PHILIP S, JORDAN J, QUIGLEY N. Clinical Evaluation of the Cepheid Xpert TV Assay for Detection of *Trichomonas vaginalis* with Prospectively Collected Specimens from Men and Women. *J Clin Microbiol.* 56(2): e01091-17, 2018.
- SECOR WE, MEITES E, STARR MC, WORKOWSKI KA. Neglected parasitic infections in the United States: trichomoniasis. *Am J Trop Med Hyg* 90(5):800-804, 2014.
- SORVILLO F, KOVACS A, KERNDT P, STEK A, MUDERSPACH L, SANCHEZ-KEELAND L. Risk factors for trichomoniasis among women with human immunodeficiency virus (HIV) infection at a public clinic in Los Angeles County, California: implications for HIV prevention. *Am J Trop Med Hyg.* 58(4):495-500, 1998.
- SORVILLO F, SMITH L, KERNDT P, ASH L. *Trichomonas vaginalis*, HIV, and African-Americans. *Emerg Infect Dis.* 7(6):927-32, 2001.
- SUTCLIFFE S, NEACE C, MAGNUSON NS, REEVES R, ALDERETE JF. Trichomonosis, a common curable STI, and prostate carcinogenesis--a proposed molecular mechanism. *PLoS Pathog.* 8(8):e1002801, 2012.
- TAYAL SC, OCHOGWU SA, BUNCE H. Paromomycin treatment of recalcitrant *Trichomonas vaginalis*. *Int J STD AIDS.* 21(3):217-8, 2010.
- TORRES-ROMERO, J. C.; ARROYO, R. Responsiveness of *Trichomonas vaginalis* to iron concentrations: evidence for a post-transcriptional iron regulation by an IRE/IRP-like system. *Infection, Genetics and Evolution*, v. 9, p. 1065-1074, 2009.
- VAN DER POL B. Clinical and Laboratory Testing for *Trichomonas vaginalis* Infection. *J Clin Microbiol.* 54(1):7-12, 2016.
- VAN GERWEN OT, MUZNY CA. Recent advances in the epidemiology, diagnosis, and management of *Trichomonas vaginalis* infection. *F1000Res.* 20;8: F1000 Faculty Rev-1666, 2019.

- VAN SCHALKWYK J, YUDIN MH; INFECTIOUS DISEASE COMMITTEE. Vulvovaginitis: screening for and management of trichomoniasis, vulvovaginal candidiasis, and bacterial vaginosis. *J Obstet Gynaecol Can.* ;37(3):266-274, 2015.
- VIEIRA-BAPTISTA P, SILVA AR, COSTA M, AGUIAR T, SALDANHA C, SOUSA C. Clinical validation of a new molecular test (Seegene Allplex™ Vaginitis) for the diagnosis of vaginitis: a cross-sectional study. *BJOG* 128(8):1344-1352, 2021.
- VIIKKI, MERJA. Gynaecological infections as risk determinants of subsequent cervical neoplasia. *Acta Oncologica*, v. 39, n. 1, p. 71-75, 2000.
- ZARIFFARD MR, HARWANI S, NOVAK RM, GRAHAM PJ, JI X, SPEAR GT. *Trichomonas vaginalis* infection activates cells through toll-like receptor 4. *Clin Immunol.*111(1):103-7, 2004.
- WHO. World Health Organization, Department of Reproductive Health and Research, Geneva, 2012.
- WORKOWSKI KA, BACHMANN LH, CHAN PA, JOHNSTON CM, MUZNY CA, PARK I, RENO H, ZENILMAN JM, BOLAN GA. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep.* 70(4):1-187, 2021.

X.1 ANEXO 1 : Parecer consubstanciado do CEP.



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Detecção e caracterização de isolados clínicos de *Trichomonas vaginalis* em população atendida pelo SUS visando estratégias para redução da transmissão de HIV/AIDS

Pesquisador: Tiana Tasca

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 03904618.7.0000.5347

Instituição Proponente: Faculdade de Farmácia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.198.585

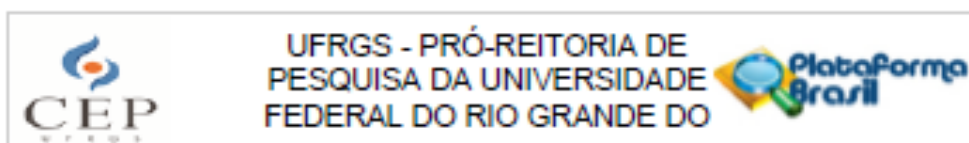
Apresentação do Projeto:

Trata-se do projeto de pesquisa que tem como pesquisador responsável Tiana Tasca, intitulado "Detecção e caracterização de isolados clínicos de *Trichomonas vaginalis* em população atendida pelo SUS visando estratégias para redução da transmissão de HIV/AIDS" a ser executado de 12/2018 a 11/2020 e que pretende "Detectar e caracterizar isolados clínicos de *Trichomonas vaginalis* em população atendida pelo SUS e correlacionar com aspectos sociocomportamentais visando estratégias para o controle da tricomoníase com conseqüente redução da transmissão de HIV/AIDS."

Como hipótese, os pesquisadores informam que "Considerando que a tricomoníase é uma patologia que na maioria dos casos está relacionada a grupos socioeconômicos menos favorecidos, foi feita a escolha de coleta de amostras na população atendida pelo SUS visando maior número de achados clínicos da doença e com isso comprovar o grau de relevância do diagnóstico da mesma em serviços de saúde pública."

Foi apresentada uma fundamentação teórica bem estruturada, considerando aspectos relativos a tricomoníase e sua com relação com HIV/AIDS

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farroupilha CEP: 91.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Protocolo: 3.190.505

Objetivo da Pesquisa:

Detectar e caracterizar isolados clínicos de *Trichomonas vaginalis* em população atendida pelo SUS e correlacionar com aspectos sociocomportamentais visando estratégias para o controle da tricomoníase com consequente redução da transmissão de HIV/AIDS.

Objetivos específicos

1. Identificar a presença de trofozoítos de *T. vaginalis* em amostras de urina e secreção vaginal através de exame cultural e PCR;
2. Estabelecer o cultivo *in vitro* de isolados clínicos de *T. vaginalis* a partir de amostras de urina e secreção vaginal;
3. Determinar o perfil de suscetibilidade dos isolados clínicos de *T. vaginalis* a metronidazol e tinidazol;
4. Determinar características de patogenicidade como citoadescrição e citólise nos isolados clínicos de *T. vaginalis*;
5. Avaliar a presença de endossimbiontes *Trichomonasvirus* (TVV) e *Mycoplasma hominis* nos isolados clínicos de *T. vaginalis*;
6. Correlacionar as características de patogenicidade e os níveis de resistência apresentados pelos isolados de *T. vaginalis* com a história clínica e aspectos sociocomportamentais dos pacientes.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

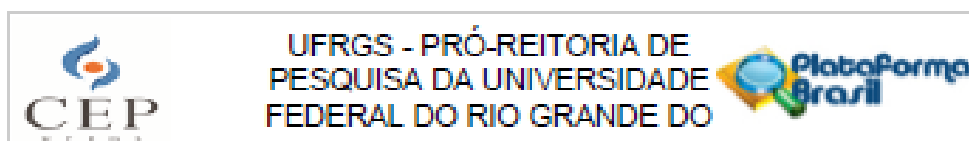
Como riscos, os pesquisadores informam que "Os riscos são pequenos, relacionados à coleta de urina. No entanto, eles serão minimizados, visto que a coleta é um procedimento de rotina orientado por pessoal habilitado e supervisionado por profissional da enfermagem."

Como benefícios, os pesquisadores relatam que "Os benefícios diretos do projeto incluem o conhecimento sobre a ocorrência de tricomoníase e a disseminação da resistência, a qual define ações no diagnóstico laboratorial e no tratamento. Indiretamente, os resultados deste estudo contribuem para medidas corretivas de políticas públicas de saúde"

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Serão analisadas amostras de urina e secreção vaginal coletadas de rotina no Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, UFRGS. Há uma previsão de análise de 5.000 amostras da rotina do laboratório para atingir a positividade esperada. Os pesquisadores

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farroupilha CEP: 90.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3306-3738 Fax: (51)3306-4085 E-mail: etico@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.189.585

esclareceram que todas as amostras coletadas, incluindo as de urina e secreção vaginal, fazem parte da rotina do Laboratório de Análises Clínicas e Toxicológicas da Faculdade de Farmácia, UFRGS. Essas amostras não serão coletadas exclusivamente para o projeto (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Foi apresentado TCUD, porém novamente há dúvida em relação a quais dados serão obtidos a partir dos prontuários e quais serão gerados pela pesquisa. No retorno de diligência foi esclarecido que "os dados a serem obtidos dos prontuários serão somente medicamentos utilizados em tratamentos anteriores". Também foram incluídos nos TCUD devidamente assinados pelos pesquisadores. (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Foi adicionado Termo de Concordância do Laboratório.

Análises propostas: Exame cultural e isolamento de *T. vaginalis*, Reação em cadeia da polimerase (PCR) para detecção de DNA de *T. vaginalis*, Determinação do perfil de suscetibilidade ao MTZ e TNZ, Determinação da capacidade de citólise dos isolados de *T. vaginalis* pelo teste de liberação de LDH, Determinação da capacidade de citoaderência dos isolados de *T. vaginalis*, Detecção de isolados de *T. vaginalis* infectados por *M. hominis*, Detecção de isolados de *T. vaginalis* infectados com TVV e identificação das espécies de TVV, Correlação entre os níveis de resistência e a história clínica dos pacientes.

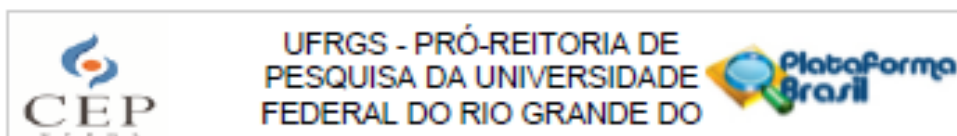
Foi apresentado formulário de coleta de dados da história clínica dos pacientes. (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Em relação à submissão ao CEP, os pesquisadores informam que o presente estudo será submetido à avaliação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e CEP da Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre. A Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre foi incluída como copartícipe. (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Os pesquisadores elencados no projeto de pesquisa foram inseridos na Plataforma Brasil (Laura Alencastro de Azevedo, Brenda Petró Silveira, Giulia Bongiomí Galego) (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Em relação ao cronograma, foi alterada a previsão de coleta de amostras para abril de 2019. (PENDÊNCIA ATENDIDA)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Farróupilha CEP: 91.040-960
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.198.585

Fontes de financiamento adequadas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foi apresentado projeto de pesquisa e folha de rosto assinada.

Em relação ao TCLE apresentado (PENDÊNCIAS ATENDIDAS):

- redigido na forma de convite
- adicionados contatos dos CEPs
- os pesquisadores esclareceram que o TCLE será tomado dos 5.000 usuários do laboratório antes da coleta de urina e/ou secreção vaginal em sala reservada que permita privacidade e confidencialidade.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

O projeto de pesquisa encontra-se em condições de aprovação, de acordo com os aspectos éticos (CNS Resolução 466/12).

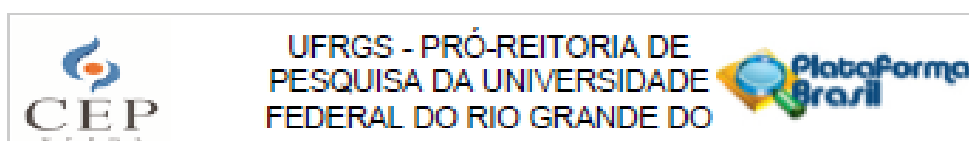
Considerações Finais a critério do CEP:

Aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1265285.pdf	13/02/2019 11:58:38		Acelto
Declaração de Pesquisadores	TCUD_assinados.pdf	13/02/2019 11:57:31	Tiana Tasca	Acelto
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Projeto_ME_Mariana_Dickl_Freitas_LACT_CORRIGIDO.pdf	13/02/2019 11:57:11	Tiana Tasca	Acelto
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mariana_Dickl_Freitas_CORRIGIDO.pdf	13/02/2019 11:56:56	Tiana Tasca	Acelto
Outros	Projeto_Mariana_Dickl_Freitas_Respostas_Diligencia_CEP_UFRGS.pdf	13/02/2019 11:56:33	Tiana Tasca	Acelto
Declaração de Instituição e	CGAPS.pdf	13/02/2019 11:55:06	Tiana Tasca	Acelto

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 de Reitoria - Campus Centro
 Bairro: Ferrouilhita CEP: 90.040-060
 UF: RS Município: PORTO ALEGRE
 Telefone: (51)3308-3738 Fax: (51)3308-4085 E-mail: etica@propesq.ufrgs.br



Continuação do Parecer: 3.190.505

Infraestrutura	C-GAPS.pdf	13/03/2019 11:55:06	Tiana Tasca	Aceito
Folha de Rosto	folhaDeRosto_Tiana_Tasca.pdf	30/11/2018 15:34:46	Tiana Tasca	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_LACT.pdf	29/11/2018 14:57:38	Tiana Tasca	Aceito


Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

PORTO ALEGRE, 14 de Março de 2019


Assinado por:
MARIA DA GRAÇA CORSO DA MOTTA
(Coordenador)

Endereço: Av. Paulo Gama, 110 - Sala 317 do Prédio Anexo 1 da Reitoria - Campus Centro
Bairro: Farróupilha CEP: 91.040-060
UF: RS Município: PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3306-3738 Fax: (51)3306-4005 E-mail: etica@propeq.ufrgs.br