

**LÍGIA MARIA BEDESCHI COSTA**

**ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE  
A ANTIMICROBIANOS DA  
*NEISSERIA GONORRHOEAE*  
ISOLADA DE PACIENTES ATENDIDOS  
EM CENTRO REFERENCIAL PÚBLICO  
PARA DOENÇAS SEXUALMENTE  
TRANSMISSÍVEIS DE  
BELO HORIZONTE**

Belo Horizonte - MG  
Faculdade de Medicina da UFMG  
2013

**LÍGIA MARIA BEDESCHI COSTA**

**ESTUDO DA SUSCEPTIBILIDADE A  
ANTIMICROBIANOS DA  
*NEISSERIA GONORRHOEAE* ISOLADA DE  
PACIENTES ATENDIDOS EM CENTRO  
REFERENCIAL PÚBLICO PARA DOENÇAS  
SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS DE BELO  
HORIZONTE**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical.

Orientador: Ênio Roberto Pietra Pedroso

**BELO HORIZONTE - MG  
Faculdade de Medicina da UFMG  
2013**

## Ficha Catalográfica

C837e Costa, Lígia Maria Bedeschi.  
Estudo da susceptibilidade a antimicrobianos da *Neisseria gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos em centro referencial público para doenças sexualmente transmissíveis de Belo Horizonte [manuscrito]. / Lígia Maria Bedeschi Costa. - - Belo Horizonte: 2013.  
109f.: il.

Orientador: Ênio Roberto Pietra Pedroso.  
Área de concentração: Infectologia e Medicina Tropical  
Dissertação (mestrado). Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina.

1. Gonorreia. 2. *Neisseria gonorrhoeae*. 3. Farmacorresistência Bacteriana. 4. Testes de Sensibilidade Microbiana/métodos. 5. Dissertações Acadêmicas. I. Pedroso, Ênio Roberto Pietra. II. Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Medicina. III. Título.

NLM: WC 190

## **UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**

Reitor: Prof. Clélio Campolina Diniz

Vice-Reitora: Prof<sup>a</sup>. Rocksane de Carvalho Norton

Pró-Reitor de Pós-Graduação: Prof. Ricardo Santiago Gomez

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Renato de Lima dos Santos

### **FACULDADE DE MEDICINA**

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Francisco José Penna

Vice-Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Subcoordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof<sup>a</sup>. Tereza Cristina de Abreu Ferrari

Coordenador do Departamento de Clínica Médica: Prof. Ricardo de Menezes Macedo

### **PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL**

Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e  
Medicina Tropical: Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior.

Subcoordenador do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e  
Medicina Tropical: Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e  
Medicina Tropical:

Prof. Manoel Otávio da Costa Rocha

Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Prof<sup>a</sup>. Denise Utsch Gonçalves

Prof<sup>a</sup> Mariângela Carneiro

Representante discente - Paula Souza Lage Carvalho



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 3409.9641 FAX: (31) 3409.9640



## DECLARAÇÃO

A Comissão Examinadora abaixo assinada, composta pelos professores doutores Enio Roberto Pietra Pedroso, Ricardo Andrade Carmo e Rodolfo de Braga Almeida, aprovou a defesa de dissertação intitulada: **“Estudo da susceptibilidade a antimicrobianos da Neisseria Gonorrhoeae isolada de pacientes atendidos em centro referencial público para doenças sexualmente transmissíveis de Belo Horizonte”** apresentada pela mestrandia **Lígia Maria Bedeschi Costa** para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, realizada em 22 de fevereiro de 2013.

Prof. Enio Roberto Pietra Pedroso  
Orientador

Prof. Ricardo Andrade Carmo

Prof. Rodolfo de Braga Almeida



FACULDADE DE MEDICINA  
CENTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO  
Av. Prof. Alfredo Balena 190 / sala 533  
Belo Horizonte - MG - CEP 30.130-100  
Fone: (031) 34099640 FAX: (31) 34099641



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de LÍGIA MARIA BEDESCHI COSTA, registro número 2011655913. No dia vinte e dois de fevereiro de dois mil e treze, reuniu-se na Faculdade de Medicina da UFMG, a Comissão Examinadora de dissertação indicada pelo Colegiado do Programa, para julgar o trabalho final intitulado: "Estudo da susceptibilidade a antimicrobianos da Neisseria Gonorrhoeae isolada de pacientes atendidos em centro referencial público para doenças sexualmente transmissíveis de Belo Horizonte", requisito final para a obtenção do grau de Mestre em Ciências da Saúde, pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical. Abrindo a sessão, o Presidente da Comissão, Prof. Ênio Roberto Pietra Pedroso, após dar a conhecer aos presentes o teor das normas regulamentares do trabalho final, passou a palavra à candidata, para apresentação de seu trabalho. Seguiu-se a arguição pelos examinadores, com a respectiva defesa da candidata. Logo após, a Comissão se reuniu sem a presença da candidata e do público, para julgamento e expedição do resultado final. Foram atribuídas as seguintes indicações:

Prof. Ênio Roberto Pietra Pedroso/ orientador	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>
Prof. Ricardo Andrade Carmo	Instituição: HEMOMINAS	Indicação: <u>Aprovada</u>
Prof. Rodolfo de Braga Almeida	Instituição: UFMG	Indicação: <u>Aprovada</u>

Pelas indicações, a candidata foi considerada: aprovada

O resultado final foi comunicado publicamente à candidata pelo Presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o Presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ATA, que será assinada por todos os membros participantes da Comissão Examinadora. Belo Horizonte, 22 de fevereiro de 2013.

Prof. Ênio Roberto Pietra Pedroso Ênio Pietra  
Prof. Ricardo Andrade Carmo Ricardo Carmo  
Prof. Rodolfo de Braga Almeida Rodolfo Almeida  
Prof. Vandack Alencar Nobre Júnior/Coordenador Vandack Nobre Jr.

Obs.: Este documento não terá validade sem a assinatura e carimbo do Coordenador.

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr.  
Coordenador do Programa de  
Pós-Graduação em Ciências da Saúde:  
Infectologia e Medicina Tropical  
Faculdade de Medicina - UFMG

*A meus pais Jairo e Aparecida  
pelo exemplo de perseverança, a  
José Luiz pelo apoio, a meus  
filhos Guilherme e Carolina.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter me permitido concluir mais esta etapa da minha vida, pela oportunidade de crescer pessoalmente e profissionalmente, por sempre me guiar nas dificuldades.

Ao meu orientador Professor Ênio Roberto Pietra Pedroso, pela oportunidade de realizar este trabalho. Pelo apoio, generosidade, paciência e incentivo.

À minha família. Aos meus pais Jairo e Aparecida por me ensinar a trilhar sempre o caminho correto. Ao meu pai, exemplo de vida, integridade e perseverança. A minha mãe, por sempre se esforçar por nos dar a melhor educação. A meu marido José Luiz pela compreensão e paciência. A minha irmã Leila pelo auxílio e incentivo.

A equipe do Serviço de DST da URS-CS, em especial aos funcionários do Laboratório de DST, sem a sua contribuição este trabalho não seria possível. À equipe médica, em especial ao Dr. Virgílio Vieira Neto, sempre tão atualizado e disponível para compartilhar o seu conhecimento. A Maria Helena, gerente da URS-CS, pelo apoio e a todos os funcionários, tanto da enfermagem, quanto do setor administrativo, que de uma forma ou de outra contribuíram com o estudo.

À Maria do Carmo Moreira de Souza, coordenadora do Serviço de DST por tantos anos, pelo incentivo para iniciar esta caminhada.

À Biluca, chefe do Laboratório de análises clínicas do Hospital João XXIII, pelo incentivo e grande apoio. A toda equipe do laboratório de microbiologia do Hospital João XXIII, pela colaboração de todos.

À Viviane Cata Preta pela ajuda inestimável e Juliana Bastos Teixeira, pela colaboração e apoio.

À Elen Siqueira, Viviane Loureiro Marques e Jorge José de Souza Santoro, da PlastLabor pela grande contribuição a este trabalho na elaboração do meio de cultura e o apoio de sempre.

À Áurea Moura, Ana Salvador e Simone Pio pela amizade, incentivo e ajuda.

A colaboração de Dr<sup>a</sup> Adéle Schwartz Benzaken da Fundação Alfredo da Mata, Dr.Sérgio Eduardo Longo Fracalanza do IMPG/UFRJ; Dr<sup>a</sup> Maria de Lourdes Oliveira Ribeiro e Dr<sup>a</sup> Maria Angélica S. Brandão do LACEN/BA; Nero Araújo Barreto setor de DST/UFF.

À professora Fátima Soares Motta Noronha do Instituto de Ciências Biológicas, da UFMG, pela colaboração no armazenamento das cepas.



Aos pacientes, que gratuitamente se dispuseram a colaborar e são a motivação deste estudo.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, e à FAPEMIG - Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado de Minas Gerais, pelo financiamento deste projeto através do Programa de Bolsas de Mestrado.

“Por vezes, sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

Madre Tereza de Calcutá

## RESUMO

A gonorreia, ainda hoje, continua a representar grande preocupação para a saúde pública, com graves consequências, especialmente para mulheres e crianças. Ocorrem anualmente 106 milhões de novos casos de gonorreia no mundo. Seu controle tem sido difícil na maioria das populações, e permanece como exemplo da influência de fatores sociais, comportamentais e demográficos, sobre a epidemiologia da doença infecciosa. A terapêutica da gonorreia tem sofrido modificações, impostas por alterações na estrutura molecular do gonococo, mediadas por cromossomos ou plasmídeos, que lhe confere a capacidade de resistir à ação de vários antimicrobianos, como penicilinas, tetraciclinas, macrolídeos, fluoroquinolonas, tianfenicol, espectinomicina e, recentemente, às cefalosporinas. O conhecimento dos padrões de sensibilidade loco-regionais da *Neisseria gonorrhoeae* é essencial para se estabelecer a melhor forma de tratamento. A gonococcia exige vigilância contínua em relação à emergência de resistência da *N. gonorrhoeae*, no entanto, são raros os estudos sobre o tema no Brasil. Neste trabalho, buscou-se avaliar a susceptibilidade a antimicrobianos da *N. gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos no serviço de referência para doenças sexualmente transmissíveis e infectologia (DST/SAE), Unidade de Referência Secundária Centro-Sul, da Secretaria Municipal de Saúde (URS-CS/SMSA) de Belo Horizonte; determinar a frequência de gonorreia nesta unidade de saúde e determinar as características socio-demográficas dos pacientes atendidos em relação a idade, sexo, renda, local de residência, escolaridade, número de parceiros sexuais, passado de doença sexualmente transmissível e uso de preservativos. Entre março de 2011 e fevereiro de 2012 foram obtidos, de modo consecutivo, 201 isolados de *Neisseria gonorrhoeae* de homens com sintomatologia de uretrite e mulheres com sintomatologia de cervicite ou em primeira consulta. Após a identificação confirmatória do microrganismo, as cepas foram testadas por difusão em disco e a concentração inibitória mínima determinada por Etest para azitromicina, cefixima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina e espectinomicina. Foram realizadas sorologias para hepatites B e C, vírus da imunodeficiência humana, sífilis e microscopias para diagnóstico de outras DST. Foram obtidas informações sócio-demográficas e comportamentais dos pacientes por meio de questionário e consulta aos prontuários médicos. Foi observada sensibilidade de 100% dos isolados para cefixima, ceftriaxona e espectinomicina. A resistência observada foi de 4,5% (9/201); 21,4% (43/201); 11,9% (24/201); 22,4% (45/201); e 32,3% (65/201) à azitromicina; ciprofloxacina; cloranfenicol; penicilina e tetraciclina, respectivamente. Sensibilidade reduzida foi detectada em 17,9% (36/201); 4,0% (8/201); 16,9% (34/201); 71,1% (143/201) e 22,9% (46/201) à azitromicina; ciprofloxacina; cloranfenicol; penicilina e tetraciclina, respectivamente. Foram classificadas como resistência mediada por plasmídeos a penicilina (PPNG) 14,5% (29/201), e tetraciclina (TRNG) 11,5% (23/201). Os elevados percentuais de resistência detectados para penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina e cloranfenicol os tornam inadequados ao tratamento de gonorreia na Unidade de Saúde e, possivelmente, em Belo Horizonte. Os índices de resistência e sensibilidade reduzida recomendam cautela na utilização da azitromicina, além de enfatizarem a necessidade de se estabelecer mecanismos de vigilância da resistência a antimicrobianos para controle efetivo da gonorreia.

**PALAVRAS-CHAVE:** Gonorreia; *Neisseria gonorrhoeae*; Farmacorresistência Bacteriana; Testes de Sensibilidade Microbiana/métodos.

## ABSTRACT

Gonorrhoea, even today, continues to represent a big public health concern, with serious consequences, especially for women and children. Occur each year 106 million new cases of gonorrhoea in the world. Its control has been difficult in most populations, and it remains as an example of the influence of social, behavioral and demographic factors about the epidemiology of the infectious disease. The treatment of gonorrhoea has passed through modifications imposed by changes in the molecular structure of the gonococcus, mediated by chromosomes or plasmids, which gives it the ability to resist to the action of various antibiotics, such as penicillins, tetracyclines, macrolides, quinolones, thiamphenicol, spectinomycin, and recently, cephalosporins. The knowledge of local *Neisseria gonorrhoeae* susceptibility patterns is essential to establish the best treatment. The gonococcal infection resistance requires a quality continuous surveillance, however few studies on this topic have been conducted in Brazil. In this study, was sought the evaluation of the antimicrobial susceptibility of *N. gonorrhoea* isolated from patients treated at the service of reference for sexually transmitted diseases and infectology (STD / SAE) - Center-South Secondary Reference Unity, of the Municipal Health Secretary (URS-CS/SMSA) of Belo Horizonte; determine the frequency of gonorrhoea in the health unit and to determine the socio-demographic characteristics of the patient attended in the service in relation to age, gender, income, place of residence, education, number of sex partners, historic of sexually transmitted disease and condom use. Between 2011 March and 2012 February were obtained consecutively, 201 *Neisseria gonorrhoeae* isolates in men with symptoms of urethritis and symptomatic women or in initial consultation. After confirmatory identification of microorganism strains were tested by disk diffusion and minimum inhibitory concentration determined by Etest to azithromycin, cefixime, ceftriaxone, ciprofloxacin, chloramphenicol, penicillin, tetracycline and spectinomycin. Were performed serologies for hepatitis B and C, human immunodeficiency virus, syphilis and microscopies for the diagnosis of other STDs. Information was obtained on socio-demographic and behavioral characteristics of patients using a questionnaire and medical records. It was observed sensitivity of 100,0% of the isolates to cefixime, ceftriaxone and spectinomycin. The observed resistance was 4.5% (9/201), 21.4% (43/201), 11.9% (24/201), 22.4% (45/201), and 32.3% (65/201) to azithromycin, ciprofloxacin, chloramphenicol, penicillin and tetracycline, respectively. Reduced sensitivity was observed in 17.9% (36/201), 4.0% (8/201), 16.9% (34/201), 71.1% (143/201) and 22.9% (46/201) to azithromycin, ciprofloxacin, chloramphenicol, penicillin and tetracycline, respectively. They were classified as plasmid-mediated resistance to penicillin (PPNG) 14.5% (29/201), and tetracycline (TRNG) 9.5% (19/201). The high resistance detected percentage to penicillin, tetracycline, ciprofloxacin and chloramphenicol make them unsuited to the treatment of gonorrhoea in the Health Unit, and possibly in all Belo Horizonte. The rates of resistance and reduced susceptibility recommend caution in the use of azithromycin, besides emphasizing the need of establish mechanisms for surveillance of antimicrobial resistance for effective control of gonorrhoea.

**KEY WORDS:** Gonorrhoea; *Neisseria gonorrhoeae*; Drug Resistance; Bacterial, Microbial Sensitivity/test.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- FIGURA 1 Micrografia eletrônica mostrando as características organizacionais da célula de *Neisseria gonorrhoea*.
- FIGURA 2 Representação esquemática da estrutura da superfície da *Neisseria gonorrhoea*, mostrando seus principais componentes que contribuem para a patogenicidade: *Pili*, *Opa*, *Por*, e *Rmp* e LOS.
- FIGURA 3 Estimativa de novos casos de gonorreia em adultos no mundo, 1999.
- FIGURA 4 Taxa de gonorreia por idade e sexo nos EUA, em 2010.
- FIGURA 5 Incidência da gonorreia por 100 000 habitantes em países nórdicos, 1995 a 2005.
- FIGURA 6 Fluxograma de seleção da amostra
- FIGURA 7 Identificação presuntiva das cepas de *Neisseria gonorrhoea* e pesquisa de  $\beta$ -lactamase.
- FIGURA 8 Identificação confirmatória da espécie de *Neisseria gonorrhoea* no equipamento VITEK 2.
- FIGURA 9 Fluxograma da cultura para *Neisseria gonorrhoeae*
- FIGURA 10 Testes de susceptibilidade a antimicrobianos: A- Difusão em disco; B- Etest; C- Leitura do halo de inibição; D- Leitura do Etest.
- FIGURA 11 Distribuição da frequência da população de estudo em relação a faixa etária (Artigo- Figura 1)
- GRÁFICO 1 Frequência relativa de gonorreia entre homens e mulheres no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA de março de 2011 a fevereiro de 2012
- GRÁFICO 2 Frequência relativa de gonorreia no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA nos meses avaliados

## LISTA DE TABELAS

- TABELA 1      Interpretação dos halos de inibição e CIM segundo CLSI 2012, documento M100-S22.
- TABELA 2      Susceptibilidade e CIM, por Etest, de 201 cepas de *N. gonorrhoea* isoladas no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA de Belo Horizonte. (Artigo - Tabela 1)
- TABELA 3      Resistência de 201 cepas de *N. gonorrhoeae* a penicilina e tetraciclina mediada por plasmídios e cromossomos. (Artigo - Tabela 2)
- TABELA 4      Frequência relativa de gonorreia no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA de Belo Horizonte. (Artigo - Tabela 3)
- TABELA 5      Concentrações Inibitórias Mínimas dos antimicrobianos testados, frente à *Neisseria gonorrhoeae*.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGSP	<i>Australian Gonococccal Surveillance Programme</i>
AIDS	<i>Acquired Immunodeficiency Syndrome</i>
ATCC	<i>American Type Culture Colletion</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
CEP-SMSA/BH	Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte
CIM	Concentração Inibitória Mínima
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
DIP	Doença Inflamatória Pélvica
DST	Doenças Sexualmente Transmissíveis
FHEMIG	Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais
GASP	<i>Gonococcal Surveillance Programme</i>
GASP-LAC	<i>Gonococcal Surveillance Programme</i> da América Latina e Caribe
GC	<i>Gonococci Agar</i>
GISP	<i>Gonococcal Isolate Surveillance Programme</i>
GRASP	<i>Gonococcal Resistence to Antimicrobials Surveillance Programme</i>
HCV	Vírus da Hepatite C
HIV	Vírus da Imunodeficiência Humana
HSH	Homens que fazem Sexo com Homens
IgG, IgA	Imunoglobulina G, Imunoglobulina A
IM	Administração por via intramuscular
IV	Administração por via endovenosa
LOS	Lipopolissacarídeos
MS	Ministério da Saúde

NAAT	<i>Nucleic Acid Amplification Test</i>
NAD	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo
OMS	Organização Mundial de Saúde
Opa	Proteína de opacidade
PABA	Ácido para-aminobenzóico
PBH	Prefeitura de Belo Horizonte
PBP	<i>Penicilin Binding Protein</i>
Por	Proteína porina
PPNG	<i>Penicillinase-producing Neisseria gonorrhoeae</i>
Rmp	<i>Reduction Modifiable Protein</i>
SAE	Serviço de assistência especializada
SAME	Serviço de Arquivo Médico e Estatístico
SMSA	Secretaria Municipal de Saúde
SPSS	<i>Statistical Package for Social Sciences</i>
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TM	Ágar Thayer & Martin
TSB	Ágar Trypticase Soja
TRNG	<i>Tetracycline-resistant Neisseria gonorrhoeae</i>
VO	Administração por via oral
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
URS-CS	Unidade de Referência Secundária Centro-Sul



# SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>22</b>
<b>2.1</b>	<b>Histórico</b> .....	<b>22</b>
<b>2.2</b>	<b>Agente etiológico</b> .....	<b>23</b>
<b>2.3</b>	<b>Fatores de virulência</b> .....	<b>25</b>
<b>2.4</b>	<b>Tipagem das cepas</b> .....	<b>27</b>
<b>2.5</b>	<b>Patogenia e imunidade</b> .....	<b>28</b>
<b>2.6</b>	<b>Variabilidade genética em <i>Neisseria gonorrhoeae</i> e mecanismos de resistência a Antimicrobianos</b> .....	<b>28</b>
<b>2.7</b>	<b>Epidemiologia</b> .....	<b>31</b>
<b>2.8</b>	<b>Manifestações clínicas</b> .....	<b>43</b>
<b>2.9</b>	<b>Diagnóstico laboratorial</b> .....	<b>48</b>
<b>2.10</b>	<b>Tratamento</b> .....	<b>50</b>
<b>2.11</b>	<b>Abordagem sindrômica das doenças sexualmente transmissíveis</b> .....	<b>54</b>
<b>2.12</b>	<b>Prevenção e controle</b> .....	<b>55</b>
<b>3</b>	<b>JUSTIFICATIVA</b> .....	<b>58</b>
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>59</b>
<b>5</b>	<b>CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	<b>60</b>
<b>5.1</b>	<b>Delineamento do estudo</b> .....	<b>60</b>
<b>5.2</b>	<b>Local do estudo</b> .....	<b>60</b>

<b>5.3</b>	<b>Aspectos éticos .....</b>	<b>61</b>
<b>5.4</b>	<b>Casuística .....</b>	<b>61</b>
<b>5.5</b>	<b>Elegibilidade .....</b>	<b>61</b>
<b>5.6</b>	<b>Método .....</b>	<b>62</b>
<b>5.7</b>	<b>Análise estatística .....</b>	<b>72</b>
<b>6</b>	<b>ARTIGO .....</b>	<b>73</b>
<b>7</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS .....</b>	<b>88</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>92</b>
	<b>APÊNDICES .....</b>	<b>104</b>
	<b>Apêndice A Formulário de registro de dados da pesquisa .....</b>	<b>105</b>
	<b>Apêndice B Termo de Consentimento Livre e Esclarecido .....</b>	<b>106</b>
	<b>Apêndice C Termo De Consentimento Livre E Esclarecido/pais ou responsáveis.....</b>	<b>107</b>
	<b>ANEXOS .....</b>	<b>108</b>
	<b>Anexo A Autorização para realização da pesquisa .....</b>	<b>109</b>
	<b>Anexo B Aprovação do projeto de pesquisa no CEP/SMSA/BH ..</b>	<b>110</b>
	<b>Anexo C Aprovação do projeto de pesquisa no COEP/UFMG ....</b>	<b>111</b>
	<b>Anexo D Fluxograma de Atendimento na URS/CS .....</b>	<b>112</b>

# 1 INTRODUÇÃO

As doenças sexualmente transmissíveis (DST) constituem um dos mais importantes problemas de saúde pública em todo o mundo. Embora não se conheça com precisão sua magnitude, estima-se que nos países em desenvolvimento estão entre as cinco principais causas de procura aos serviços de saúde (BRASIL, 2006; ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS), 2007; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC), 2011). Em 2012, a Organização Mundial de Saúde (OMS) estimou um total de 498 milhões de casos novos anualmente no mundo, para as DST curáveis (sífilis, gonorreia, clamídia e tricomoníase), na população entre 15 e 49 anos, sendo 12 milhões no Brasil (BRASIL, 2005; WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), 2011a, 2012).

A gonorreia continua a ser uma das DST mais prevalentes, com incidência anual de 106 milhões de casos novos em todo o mundo. Embora a maior incidência ocorra nos países não desenvolvidos e em desenvolvimento, as taxas da doença são inaceitavelmente altas em países desenvolvidos, e parecem estar aumentando especialmente em alguns subgrupos como as populações vulneráveis marginalizadas associadas à etnia ou orientação sexual. No Brasil, os dados de infecção gonocócica são escassos, sendo estimada em mais de 1,5 milhões de casos em 2003, segundo dados do Programa Nacional de DST e AIDS do Ministério da Saúde (BRASIL, 2011; CDC, 2011; EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL (ECDC), 2011; WHO, 2001, 2011a, 2011b, 2012).

As elevadas taxas de gonorreia associam-se com a facilitação da transmissão, e aquisição do vírus da imunodeficiência humana (HIV), e o crescimento da resistência a antimicrobianos, que compromete o seu tratamento efetivo. Os casos não diagnosticados e tratados na fase inicial podem evoluir para complicações graves como prostatite, epididimite e orquite no homem; doença inflamatória pélvica e gravidez ectópica na mulher, resultando em infertilidade; constituir-se em causa de aborto e produzir graves infecções oculares no recém-nascido podendo levar à cegueira (TAPSALL, 2005; OMS, 2007; WHO, 2011b).

O aumento do risco de contrair e transmitir a infecção pelo HIV se deve ao fato de que os homens com gonorreia têm concentração média do HIV no líquido seminal oito vezes maior do que na ausência desta. Esta elevada concentração viral predispõe ao risco aumentado

em 5 vezes de se infectar pelo HIV. A concentração média do HIV na secreção cérvico-vaginal em mulheres com gonorreia é duas vezes maior do que na ausência de gonorreia. (COHEN *et al.*, 1997; WASSEHEIT, 1999; FLEMING; ROTTINGEN *et al.*, 2001; DUARTE *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2005).

A *N. gonorrhoeae* apresenta grande capacidade de desenvolver resistência a antimicrobianos, ocasionando perda progressiva de tratamentos eficazes e baratos, e necessidade de utilização de medicamentos mais caros, inacessíveis em muitos países onde possui alta incidência. Constitui problema de expressiva gravidade atual o surgimento de cepas de *N. gonorrhoea* resistentes a múltiplos antimicrobianos incluindo penicilinas, tetraciclina, macrolídeos, espectinomicina e fluoroquinolonas. A emergência de diferentes formas de resistência é geralmente seguida por rápida difusão com elevada prevalência dessas cepas. Nos últimos três anos, a resistência gonocócica as cefalosporinas de terceira geração, recomendadas como de primeira escolha para tratamento da gonorreia, está emergindo rapidamente no Japão e em outros países, ameaçando a capacidade de curar a gonorreia e prevenir sequelas graves (TAPSALL, 2001; OMS, 2005; WORKOWSKI *et al.*, 2008; TAPSALL *et al.*, 2009; WHO, 2011; GAIL *et al.*, 2012).

É mais preocupante ainda o isolamento de cepa de *Neisseria gonorrhoeae*, proveniente de paciente com gonorreia faríngea, altamente resistente à ceftriaxona, última opção restante para tratamento empírico de primeira linha, em Kyoto (Japão) em 2009. Esta estirpe foi relacionada com clones anteriores com reduzida susceptibilidade à cefixima. A redução da susceptibilidade às cefalosporinas resulta da combinação de efeitos de diversas mutações cromossômicas, incluindo um novo cassete DNA com múltiplas mutações no gen *penA*. Acredita-se que este mosaico de *penA* pode ter sido adquirido através da transferência horizontal de *Neisseria* comensal oral. Estas cepas cefalosporina resistentes, seguindo os padrões de resistência verificados anteriormente, poderão continuar a evoluir e ser amplamente difundidas. A *N. gonorrhoeae* pode se tornar uma superbactéria, causando gonorreia intratável, com consequências imprevisíveis em relação ao seu poder de sistematização e acometimento de diversos órgãos e sistemas (OHNISHI *et al.*, 2011b; GAIL *et al.*, 2012).

Diversos relatos de casos sugerem que a infecção gonocócica da faringe, com reduzidas opções de tratamento eficazes e dificuldade para triagem e diagnóstico tanto clínico

quanto laboratorial, representa um importante reservatório para a transmissão da infecção gonocócica, como de cepas resistente a vários antimicrobianos (BERNSTEIN *et al.* 2009; WEINSTOCK; WORKOWSKI, 2009; GAIL *et al.*, 2012).

O controle da gonorreia constitui questão essencial em saúde pública, requerendo abordagem integrada em que é primordial o fornecimento de tratamento efetivo, para interromper a cadeia de transmissão e reduzir o impacto da doença. O conhecimento dos padrões de sensibilidade deste microrganismo é essencial para se estabelecer a melhor forma de tratamento. Sem esse esforço corre-se o risco de que a gonorreia se torne intratável (OMS, 2005; TAPSALL *et al.*, 2009; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

A infecção gonocócica exige vigilância da resistência contínua e de qualidade. Informações loco-regionais são importantes para a adaptação dos esquemas de tratamento às diferentes regiões geográficas, sendo insuficiente e inaceitável se basear em dados obtidos em outros centros, para se chegar à melhor opção de tratamento. Raros estudos têm sido realizados ultimamente no Brasil para a avaliação da resistência antimicrobiana da *Neisseria gonorrhoeae* (BRASIL, 2005; TAPSALL, 2005; WORKOWSKI *et al.*, 2008).

Por isso este trabalho se propõe a detectar o perfil de sensibilidade a antimicrobianos e a concentração inibitória mínima, da *N. gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos em um serviço de saúde, referência para atendimento de DST, da Prefeitura de Belo Horizonte (PBH). Com o objetivo de contribuir para a obtenção de dados locais, que possam auxiliar a formulação de políticas de saúde e padronização de tratamentos mais adequados e eficazes.

## 2 REVISÃO DA LITERATURA

A gonorreia é uma doença infectocontagiosa, pandêmica, transmitida quase que exclusivamente por contato sexual, ou perinatal, causada pela bactéria *Neisseria gonorrhoeae* (*N. gonorrhoeae*, gonococo) da qual o homem é o único hospedeiro natural. É também chamada de blenorragia e popularmente como pingadeira, fogagem, esquentamento, gota matinal, devido ao abundante e purulento corrimento uretral e ardor característico da doença. A *Neisseria gonorrhoeae* é altamente adaptada ao trato genital, tendo dificuldade de sobreviver fora do corpo humano. Possui extraordinária capacidade de escapar do sistema de defesa humano devido à sua variabilidade antigênica e habilidade em desenvolver resistência antimicrobiana. O gonococo é capaz de produzir doenças localizadas urogenitais, retais, orofaríngeas e sistêmicas. As infecções endocervicais, anorretais e faríngeas que provoca são comumente assintomáticas, sendo tardiamente diagnosticadas, estabelecendo o reservatório de infecção e de transmissão (WHO, 2001; TAPSALL *et al.*, 2009; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

### 2.1 Histórico

A gonorreia é das mais antigas patologias humanas conhecidas, e através do tempo continua a ser motivo de grande preocupação em saúde pública. Há referências de uretrite com características de gonorreia nos escritos do imperador chinês Huang Ti, datados de 2637 anos a.C. Era conhecida dos egípcios e Moisés, no velho testamento, fazia alusão à gonococcia (Levítico, III Livro Pentateuco, versículo 15). No Talmude, livro sagrado dos judeus, há descrição do corrimento uretral característico da doença (KONEMAN *et al.*, 2008; SANTOS; SIQUEIRA, 2010).

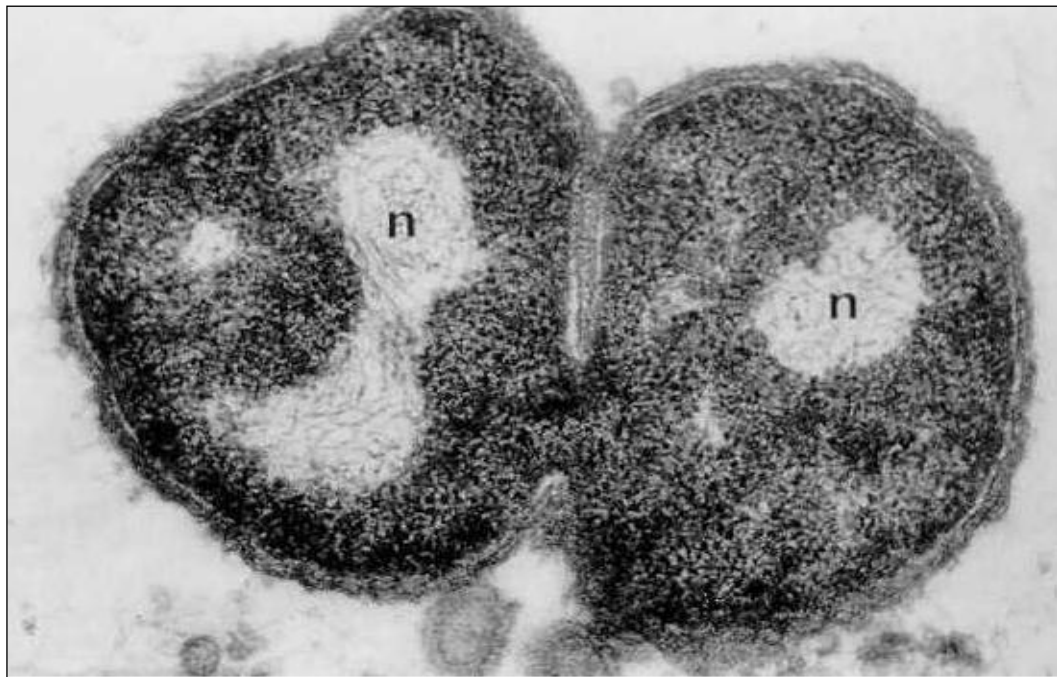
O nome gonorreia foi introduzido por Galeno, século II d. C., que utilizou as palavras gregas *gonor* (semente) e *rhoia* (fluxo), sugerindo que a enfermidade estivesse relacionada ao fluxo de esperma. Seu agente etiológico foi descrito pela primeira vez em 1879, por Albert Neisser, que o observou em exsudatos purulentos da uretra e conjuntiva, e o denominou gonococo. Leistikow e Loeffler o cultivaram pela primeira vez em 1882. No ano de 1884, Karl Credé demonstrou a validade da solução de nitrato de prata na prevenção da oftalmia gonocócica do recém-nascido. Trevisan, em 1885 o denominou *Neisseria gonorrhoeae*. Após

longos anos de inúmeras tentativas terapêuticas sem sucesso, surgem as sulfas em 1930, como primeiro tratamento efetivo para a gonorreia. Em 1964, Thayer e Martin (1966) desenvolvem um meio de cultura seletivo para o seu cultivo (PASSOS *et al.*, 1995; THAYER; MARTIN, 1966; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

## 2.2 Agente etiológico

A *N. gonorrhoeae* é classificada na seguinte categoria taxonômica, de acordo o *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*: Reino Bactéria; Filo Proteobacteria; Classe Betaproteobacteria; Ordem Neisseriales; Família Neisseriaceae; Gênero *Neisseria*; Espécie *Neisseria gonorrhoeae*. A caracterização taxonômica da família Neisseriaceae foi revista por Morello e Bohnhoff em 2001 (MORELLO; BOHNHOFF, 2001; GARRITY, 2005).

**Figura 1** - Micrografia eletrônica mostrando as características organizacionais da célula de *Neisseria gonorrhoeae*. É possível observar a região nuclear transparente (n) preenchida com fibras de DNA, a densa distribuição de partículas ribossomais no citoplasma.



Fonte: HEART – Hepatitis & AIDS Research Trust. Disponível em:  
<http://www.heart-intl.net/HEART/Medical/Comp/Introductiontobacteriology.htm>

A *N. gonorrhoeae* pode ser visualizada, na bacterioscopia corada pelo método de Gram, como um diplococo Gram-negativo, semelhante a duas estruturas em forma de rim

justapostas, espelhadas, quase sempre agrupadas no espaço intracelular ou no interior dos leucócitos polimorfonucleares. O gonococo reproduz-se assexuadamente por fissão binária, dando origem a duas células-filhas. Esta divisão não ocorre por completo, uma vez que permanecem septos unindo à célula de origem, e, portanto, são dispostas em pares (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

O gonococo é um microrganismo imóvel, não formador de esporos, e anaeróbio facultativo, cuja célula bacteriana apresenta diâmetro entre 0,6 a 1,0  $\mu$ . Requer para seu crescimento umidade relativamente alta, atmosfera de dióxido de carbono de 3 a 5 %, temperatura entre 35 e 37°C e pH de 7,2 a 7,6 (KNAPP; KOUMANN, 1999; KONEMAN *et al.*, 2008).

A *N. gonorrhoea* apresenta crescimento lento e é bastante exigente ao cultivo, requerendo meios de cultura seletivos e enriquecidos com diversos fatores nutricionais como ferro, glicose e outros suplementos contendo aminoácidos, purinas, pirimidinas e vitaminas. As amostras biológicas devem ser preferencial e imediatamente inoculadas no meio apropriado. Na impossibilidade do plantio imediato podem ser usados meios de transporte, como o de Amies, que mantém os gonococos viáveis por até 6 horas.

Para facilitar o isolamento primário do gonococo, especialmente em amostras provenientes de sítios onde há microbiota residente, como endocérvix, faringe e reto, devem ser utilizados meios de cultura seletivos, como o ágar Thayer-Martin (TM) modificado suplementado com antimicrobianos. A seletividade é necessária para inibir o crescimento concomitante de microrganismos contaminantes ou infectantes, que possam prejudicar o desenvolvimento das colônias de gonococo. Ao meio base TM é adicionado suplemento contendo vancomicina, colistina, trimetoprina, e nistatina, com a finalidade de inibir o crescimento de cocos Gram positivos, bastonetes Gram negativos, especialmente do gênero *Proteus*, leveduras e espécies não patogênicas de *Neisseria* (KNAPP; KOUMANN, 1999; KONEMAN *et al.*, 2008; HANDSFIELD; SPARLING, 2009; SANTOS; SIQUEIRA, 2010).

Após 24 a 48 horas de incubação forma colônias pequenas, mucóides, convexas, transparentes e brilhantes, de cerca de 1 mm de diâmetro. A viabilidade da bactéria perde-se rapidamente por autólise.



As diferentes exigências nutricionais entre os membros do gênero *Neisseria*, podem ser utilizadas como parte da diferenciação entre as espécies, visto que, atualmente, a sua identidade já não pode ser presumida com base no sítio de isolamento. Por isso, é necessária a identificação bioquímica ou sorológica definitiva dos isolados. São características do gênero *Neisseria* a formação de ácidos, por via oxidativa a partir de carboidratos, a capacidade de oxidar rapidamente o dimetilparafenilene, base da reação de oxidase e a produção de catalase. A *N. gonorrhoeae* oxida a glicose, porém não é capaz de oxidar a maltose, sacarose ou lactose (KONEMAN *et al.*, 2008).

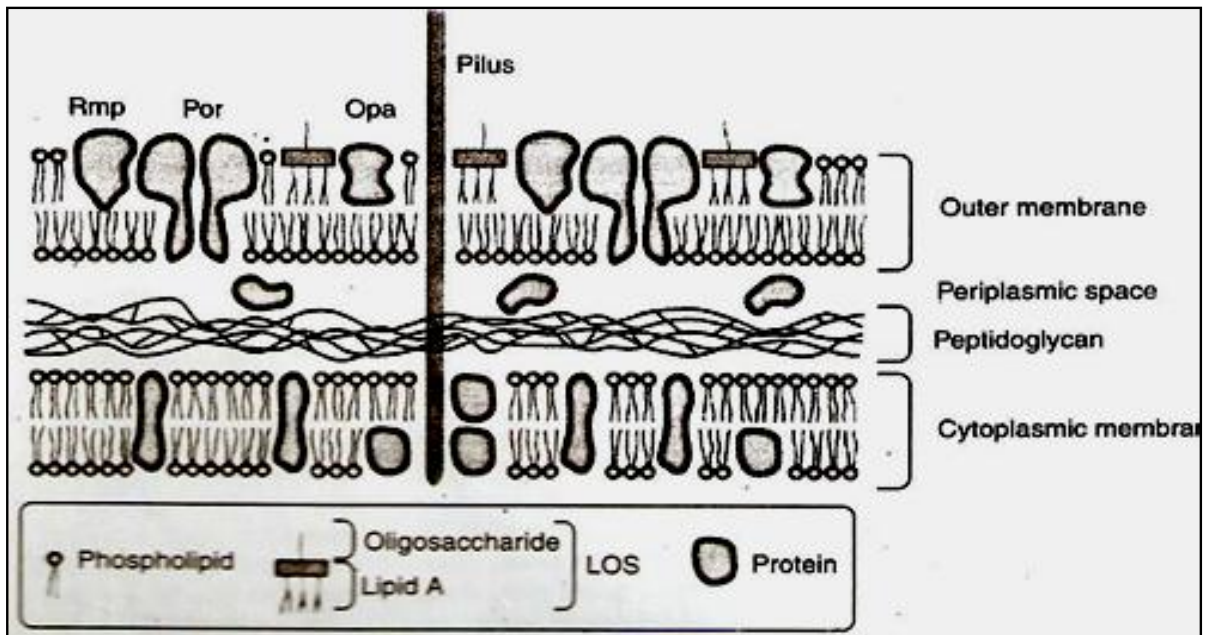
### 2.3 Fatores de virulência da *Neisseria gonorrhoeae*

Estudos da estrutura celular dos gonococos têm ajudado a explicar aspectos de sua interação com o hospedeiro. Componentes específicos da superfície têm sido associados à aderência à mucosa, penetração tecidual e celular, citotoxicidade e evasão das defesas do hospedeiro. Componentes como os *pili*, outras proteínas da membrana externa e lipopolissacarídeos (LOS) estão envolvidos na ligação e fixação da bactéria às superfícies epiteliais, sua passagem através do epitélio e da sua interação com os fagócitos. Variações da membrana externa, nas porinas, afetam a permeabilidade e penetração dos antibióticos na célula bacteriana (KNAPP; KOUMANN, 1999; KONEMAN *et al.*, 2008;).

Os *pili*, polímeros proteicos projetados na superfície da célula bacteriana, contribuem para a aderência do microrganismo às mucosas. A célula bacteriana provida de *pili* adere à superfície das células susceptíveis e pode iniciar uma infecção. Também podem atuar impedindo a ingestão e destruição dos gonococos pelos neutrófilos e estar envolvidos com a troca de material genético. Os *pili* nem sempre se expressam, ou apresentam novos tipos antigênicos. Têm sido pesquisados como antígenos selecionados para o desenvolvimento de vacinas antigonocócicas (FOREST *et al.*, 1996; HANDSFIELD; KONEMAN *et al.*, 2008; SPARLING, 2009).

O invólucro celular que reveste o gonococo é semelhante à estrutura básica de outras bactérias Gram-negativas. É constituído por uma membrana citoplasmática interna, o espaço periplasmático, a camada de glicopeptídeos e uma membrana externa, que contém LOS, proteínas e fosfolipídios (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

**Figura 2 -** Representação esquemática da estrutura da superfície da *Neisseria gonorrhoea*, mostrando seus principais componentes que contribuem para a patogenicidade: *Pili*, *Opa*, *Por*, e *Rmp* e LOS.



Fonte: HANDSFIELD; SPARLING, 2009

As células de *N. gonorrhoeae* expressam na membrana externa diversas proteínas envolvidas com a virulência que estimulam a formação de anticorpos, reduzem a associação leucocitária e promovem resistência aos efeitos bactericidas do soro humano. A proteína porina, denominada *Por* ou proteína I, associada ao LOS da membrana externa, controla a entrada e saída de moléculas para o espaço periplasmático. Cepas que expressam *Por A* estão associadas à capacidade de resistência a fatores bactericidas do soro e invasão das células epiteliais, podendo causar disseminação bacteriana. A variabilidade dos epitopos desta proteína é utilizada como diferenciação dos gonococos para fins epidemiológicos e para analisar a propagação dos subtipos resistentes a antibióticos (KNAPP *et al.*, 1984). Expressam também proteínas de opacidade (*Opa*), que aumentam a aderência entre as células bacterianas e as do hospedeiro inclusive os fagócitos, e contribui para a aderência às mucosas e invasão tecidual. Outro tipo de proteína, denominado Proteína III, ou *Reduction-modifiable protein* (RMP), bloqueia a ligação dos anticorpos anti-LOS e anti-Por, reduzindo o efeito bactericida do soro humano sobre o gonococo. Também produzem outros fatores que contribuem para a virulência como uma protease de imunoglobulina A, que é capaz de degradar a IgA secretora e eliminar a resistência das mucosas à infecção (KONEMAN *et al.*, 2008).

Os LOS podem influenciar na aderência, ligação bacteriana, invasão celular e na resistência à ação dos anticorpos do soro humano. Possuem ação endotóxica, responsável pela citotoxicidade local, processo inflamatório e toxicidade sistêmica. Contribuem para a morte das células ciliadas das trompas de falópio (KONEMAN *et al.*, 2008; HANDSFIELD; SPARLING, 2009;).

As cepas de *Neisseria gonorrhoeae* possuem a capacidade de crescer em anaerobiose, condição em que são expressas novas proteínas de membrana externa. Essa propriedade pode contribuir para a virulência do gonococo, permitindo que o microrganismo prolifere em meios anaeróbios, tais como endocérvix e outras regiões do trato genital, reto e faringe, o que também explica a importância desses microrganismos na doença inflamatória pélvica (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

#### **2.4 Tipagem das cepas**

Estudos epidemiológicos e de patogênese da gonorreia têm sido enriquecidos pelo desenvolvimento de métodos reproduzíveis de tipagem da *N. gonorrhoeae*. A caracterização das cepas dos gonococos tem sido baseada em auxotipagem e sorotipagem. O sistema de auxotipagem é baseado em requerimentos nutricionais da bactéria a nutrientes específicos e cofatores. O sistema de sorotipagem, mais amplamente utilizado, é baseado nas porinas e permite classificar a *N. gonorrhoeae* em 2 grupos, 1A e 1B. As subdivisões nos sorotipos são baseadas em reações de coagulação com anticorpos monoclonais. Esses dois sistemas de classificação, juntamente com os perfis de susceptibilidade a antimicrobianos, análise do conteúdo de plasmídeos, e genotipagem têm permitido a caracterização de isolados de diferentes áreas geográficas, a documentação de mudanças temporais na sua distribuição e prevalência, além de analisar os padrões de resistência antimicrobiana e estudar a sua transmissão (KNAPP *et al.*, 1984; SARAFIAN; KNAPP, 1989; FOREST *et al.*, 1996; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

## 2.5 Patogenia e imunidade

Os gonococos se fixam às células da mucosa, penetram e se multiplicam no interior das células. Em seguida, passam através das células para o espaço subepitelial, onde a infecção é estabelecida. A presença de fímbrias (*pili*) é importante para a fixação da bactéria. A proteína *Opa* se fixa na superfície da célula hospedeira e, dirige a migração das bactérias para as células epiteliais. Acredita-se que a proteína *Por* tem a capacidade de proteger as bactérias fagocitadas da destruição intracelular ao inibir a fusão do fagolisossomo. O LOS gonocócico estimula a resposta inflamatória e a liberação de TNF- $\alpha$  responsável pela maioria da sintomatologia associada à gonococcia. A imunoglobulina IgG3 é o anticorpo de IgG predominante produzido em resposta à infecção gonocócica. A resposta humoral à proteína *Por* é mínima, entretanto, são rapidamente detectados anticorpos séricos dirigidos contra a pilina, a proteína *Opa* e o LOS. Os anticorpos dirigidos contra o LOS podem ativar o complemento, e liberar C5a, que possui quimiotaxia sobre os neutrófilos. A IgG e os anticorpos IgA1 secretórios dirigidos contra a proteína III, entretanto, podem bloquear essa resposta bactericida dos anticorpos. Os indivíduos com deficiências hereditárias do complemento apresentam um risco considerável de gonococcia sistêmica (KONEMAN *et al.*, 2008).

## 2.6 Variabilidade genética em *Neisseria gonorrhoea* e mecanismos de resistência a antimicrobianos

A variabilidade antigênica constitui-se em característica importante dos gonococos. A variabilidade fenotípica ocorre por intermédio da expressão diferencial de partes do genoma, a variação genotípica é obtida por incorporação de material genético novo. Este mecanismo constitui-se em importante fator de sobrevivência para um microrganismo com variedade muito restrita de hospedeiros (TAPSALL, 2001).

Grande parte do material genético da *N.gonorrhoeae* é sujeita a altas taxas de mudança por meio de mutação espontânea, aquisição de material genético externo através do mecanismo de transformação ou aquisição de plasmídeos por conjugação. A notória propensão do gonococo de desenvolver resistência a antimicrobianos se origina no nível

molecular por meio desses processos. Esse processo é dirigido, em algumas circunstâncias, pela pressão seletiva exercida pelos antibióticos. Como consequência a população de gonococos é composta por vários subtipos, constantemente em evolução (TAPSALL *et al.*, 2009).

Os gonococos são capazes de captar o DNA exógeno, de determinada sequência de 10 pares de bases, comumente encontrado no genoma de outras espécies do gênero *Neisseria*. Também frequentemente liberam DNA para o meio, que pode ser absorvido e integrado no genoma do gonococo destinatário. Há evidências de que adquirem informação genética de forma mais eficiente por meio deste mecanismo de transformação do que através de plasmídeos (HANDSFIELD; SPARLING, 2009; BARRY; KLAUSNER, 2010).

### 2.6.1 Resistência mediada por plasmídeos

A *N. gonorrhoeae* pode adquirir resistência a antimicrobianos através da aquisição de plasmídeos conjugativos, e pode também transferi-los com alta eficiência. Foram descritos diversos plasmídeos de *N. gonorrhoeae*. Em cepas produtoras de penicilinase (PPNG) foram identificados os plasmídeos de 4,4 mD (Ásia), 3,2 mD (África), 2,9 mD (Rio), 3,05 mD (Toronto), e 4.0 mD (Nimes), assim denominados por serem epidemiologicamente relacionados a essas regiões (DILLON; YEUNG, 1989; SARAFIAN; KNAP, 1989). Esses plasmídeos codificam a produção de TEM-1, um tipo de beta-lactamase. Esse plasmídeo é semelhante ao encontrado em *Haemophilus spp*, incluindo o *H. ducreyi*, o que faz suspeitar ter sido deles adquirido.

Em cepas de *N. gonorrhoeae* com alto nível de resistência à tetraciclina (TRNG), foram descritos dois tipos de plasmídeos conjugativos de 24,5 e 25,2 mD, contendo o determinante *tetM*. O determinante *tetM* codifica uma proteína capaz de restaurar a síntese de proteínas ribossomais do gonococo, na presença de tetraciclina. Este também confere resistência à tetraciclina a uma variedade de outras bactérias, incluindo *Mycoplasma spp*, *Streptococcus spp*, *Gardnerella vaginalis* e *Ureaplasma urealyticum*. Além destes foi identificado em algumas cepas um plasmídeo críptico de 2,6 mD (DILLON; YEUNG, 1989; ROBERTS, 1989; SARAFIAN; KNAP, 1989; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

## 2.6.2 Resistência mediada por cromossomos

O mecanismo básico de resistência aos agentes antimicrobianos inclui a redução de sua concentração intracelular, ao impedir sua entrada na célula ou por bombeamento ativo do antimicrobiano para o seu exterior. Mutações em genes que controlam bombas de efluxo induzem a resistência à penicilina, tetraciclina, macrolídeos, e possivelmente às fluoroquinolonas e cefalosporinas. Outras mutações de *N. gonorrhoeae* podem reduzir a permeabilidade da membrana externa impedindo a penetração do antimicrobiano na célula, ou alterar as proteínas de ligação à penicilina, reduzindo a sua afinidade à penicilina.

A resistência cromossômica da *N. gonorrhoeae* a antibióticos  $\beta$ -lactâmicos e às tetraciclina resulta de complexa interação entre várias alterações genéticas individuais, nos genes *penA*, *penB*, *mtrR* e *ponA*. A presença de mutações no gen *penA* produz uma reduzida afinidade da penicilina para as proteínas de ligação com penicilina (PBP2 *penicilin-binding protein 2*). As mutações específicas no segmento de codificação de *mtrR*, responsável pela repressão do sistema *mtrC-D-E*, que codifica bombas de efluxo, produzem aumento nos níveis de efluxo, o que pode conferir resistência a múltiplos agentes como penicilinas, tetraciclina e macrolídeos. As mutações em *penB*, diminuem a permeabilidade da membrana externa (porina PorB1b), para antimicrobianos hidrofílicos, como a penicilina. Além disso, uma única substituição em *ponA*, que codifica uma PBP 1 alterada, com afinidade reduzida para a penicilina, contribui para que a *N. gonorrhoeae* desenvolva resistência de alto nível à penicilina. As mutações em *pilQ2* (anteriormente denominado PenC) ou a supressão *pilQ* aumentam a resistência à penicilina se estão presentes os determinantes de resistência *PenA*, *mtrR*, e *penB*, presumivelmente porque *PilQ* forma um poro na membrana externa através da qual antimicrobianos se difundem para o periplasma (LINDBERG *et al.*, 2007).

Tem sido proposto que a redução da sensibilidade as cefalosporinas de largo espectro, tais como cefixima e ceftriaxona, está associada com polimorfismos em vários desses genes e, especialmente, com determinado mosaico de alelos *penA*. Esse tipo de gen *penA* codifica uma estrutura em mosaico composta de fragmentos de PBP 2 proveniente da *N. cinerea* e da *N. perflava*, espécies que fazem parte da microbiota da orofaringe e intrinsecamente resistentes a penicilina e outros antimicrobianos. A *N. gonorrhoea* pode coexistir com essas espécies na faringe e adquirir delas o gen mosaico *penA*, através de transformação. Essa alteração associa-se intensamente com o decréscimo da susceptibilidade às cefalosporinas de terceira

geração, particularmente orais, porém a colaboração dos polimorfismos genéticos ainda precisa ser melhor examinada (LINDBERG, 2007; DEGUCHI *et al.*, 2010).

As fluoroquinolonas agem por ligação com suas enzimas alvo DNA-girase e topoisomerase interferindo com a replicação do DNA. A resistência a estes antimicrobianos associa-se com alterações na subunidade *GyrA* da DNA-girase e na subunidade *ParC* da DNA-topoisomerase IV. É observada resistência de alto nível às fluoroquinolonas quando há substituição de diversos aminoácidos em *GyrA* e *ParC* (HANDSFIELD; SPARLING, 2009; BARRY; KLAUSNER, 2010; DEGUCHI *et al.*, 2010).

Os macrolídeos, incluindo azitromicina inibem a biossíntese de proteínas bacterianas por ligação reversível com a subunidade 50S dos ribossomos bacterianos. A presença de um ou mais genes da subunidade 23S rRNA-metilase (*ermB*, *ermC* e *ermF*), que modificam os alvos ribossomais, estão associados com a resistência dos macrolídeos. O mecanismo que confere alto nível de resistência à azitromicina ainda não foi determinado (DEGUCHI *et al.*, 2010).

## **2.7 Epidemiologia**

### **2.7.1 Incidência**

A gonorreia é uma doença infecciosa, de ocorrência universal, cuja incidência é influenciada por muitos fatores, incluindo padrões de comportamento sexual, demografia, e condições econômicas e sociais. Ocorre com maior frequência nos centros metropolitanos do que nas zonas rurais, sendo mais prevalente em jovens adultos com vida sexual ativa, entre os 15 e 29 anos de idade. Em geral as mulheres se infectam mais precocemente que os homens (TAPSALL, 2001; WHO, 2001).

A doença afeta desproporcionalmente as populações vulneráveis e marginalizadas. O conceito de marginalização a nível internacional reflete o fato das taxas de gonorreia variarem inversamente com o grau de desenvolvimento econômico do país. A marginalização também ocorre dentro do mesmo país, na medida em que indivíduos de nível socioeconômico mais baixo têm taxas mais elevadas da doença, como ocorre em populações pobres nos Estados

Unidos da América e Reino Unido. Observam-se taxas desproporcionais, nos países desenvolvidos, entre homens que fazem sexo com homens (HSH), grupos étnicos específicos, profissionais do sexo e viajantes.

A distribuição da gonorreia é influenciada por muitos fatores inter-relacionados que produzem múltiplas micro-epidemias. Há variedade de subtipos de gonococos em diferentes subgrupos de pacientes e áreas geográficas, muitas vezes com diferentes perfis de resistência a antibióticos. Estudos baseados em testes moleculares mostraram que subtipos bem sucedidos, provenientes de redes sexuais podem persistir e se propagar, tornando a transmissão endêmica. A transmissão de cepas de um país para o outro, durante a fase de incubação ou período assintomático, é favorecida pelo movimento de trabalhadores, imigrantes e refugiados, além das viagens para “turismo sexual” (TAPSALL, 2001).

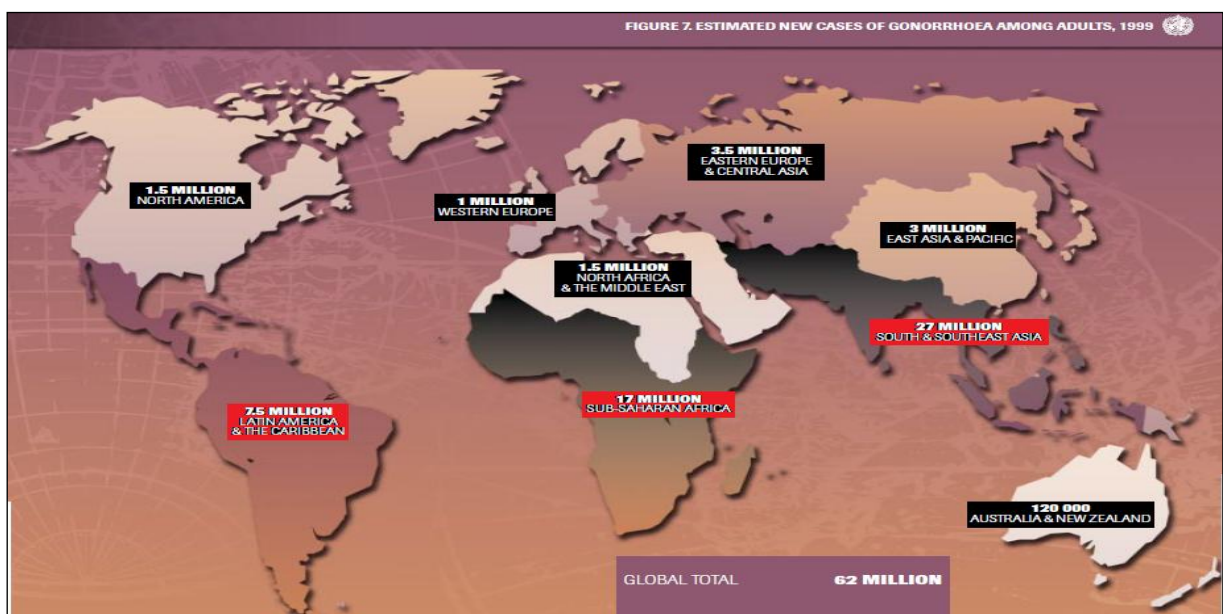
Nos países desenvolvidos, apesar da relativa diminuição do número de casos de gonorreia ocorrida na década de 1950, houve aumento da sua incidência a partir de 1960, chegando nos Estados Unidos da América a ser considerada, no início dos anos 1970, a doença infecciosa mais frequente depois da gripe comum. Os aumentos refletiram a revolução sexual ocorrida na década de 1960, com a conseqüente liberação dos costumes. A liberdade sexual, reforçada pelo surgimento dos métodos anticoncepcionais, deu margem à multiplicidade de relacionamentos sexuais, produzindo o recrudescimento do problema das doenças sexualmente transmissíveis no mundo. O declínio da incidência observado após os anos 1970 tem sido atribuído à facilidade de acesso aos meios diagnósticos, melhoria do tratamento com antimicrobianos e do rastreamento epidemiológico dos casos. As taxas de gonorreia continuaram a diminuir nos anos 1980 e início dos anos 1990. Na Suécia, Finlândia, Noruega, Holanda e outros países da Europa a gonorreia virtualmente desapareceu como doença endêmica. Em outros países industrializados o declínio foi menos pronunciado até o aparecimento da síndrome de imunodeficiência adquirida (AIDS). A publicidade em torno da transmissão sexual do vírus da imunodeficiência humana e das mudanças de comportamento que acompanham essa conscientização levaram a um substancial decréscimo das taxas de gonorreia na Europa Ocidental, Austrália e Estados Unidos da América (PIOT; ISLAM, 1994; TAPSALL, 2001; WHO, 2001).



Existem evidências de que no final dos anos 1990, a incidência de gonorreia voltou a aumentar, especialmente em algumas subpopulações. Nos Estados Unidos da América, Europa e Austrália foi observado crescimento da incidência na população de HSH. Na Austrália, taxas em alguns centros cresceram em 1998 em até 50%. No mesmo período, a transmissão endêmica da gonorreia foi bastante significativa na Suécia e na Dinamarca, especialmente em HSH. Desde 1990, tem ocorrido aumento no número de casos na Inglaterra e no país de Gales, tanto em homens quanto em mulheres (FENTON *et al.*, 2000). Em países do leste europeu houve substancial aumento da incidência de gonorreia e outras doenças sexualmente transmissíveis. Nesses países foi verificada mudança no comportamento sexual, com aumento da liberdade sexual, promiscuidade e prostituição (VAN DEN HOEK *et al.*,1990; TAPSALL, 2001).

Estimativas globais, publicadas pela Organização Mundial de Saúde em 2000, indicavam cerca de 62 milhões de novos casos de gonorreia anualmente no mundo, com maior número de novos casos estimados ocorrendo no Sul e Sudeste da Ásia (29,11 milhões), África Subsaariana (15,67 milhões) e na América Latina e Caribe (7,12 milhões) (Figura3) (WHO, 2001). Em 2012, essa estimativa atingiu 106 milhões de casos. Essas taxas estão atualmente estáveis ou crescentes, apesar de todos os esforços empreendidos para que sua transmissão seja controlada, e não ocorram casos novos (WHO, 2011b).

**Figura 3 - Estimativa de novos casos de gonorreia em adultos no mundo, 1999**

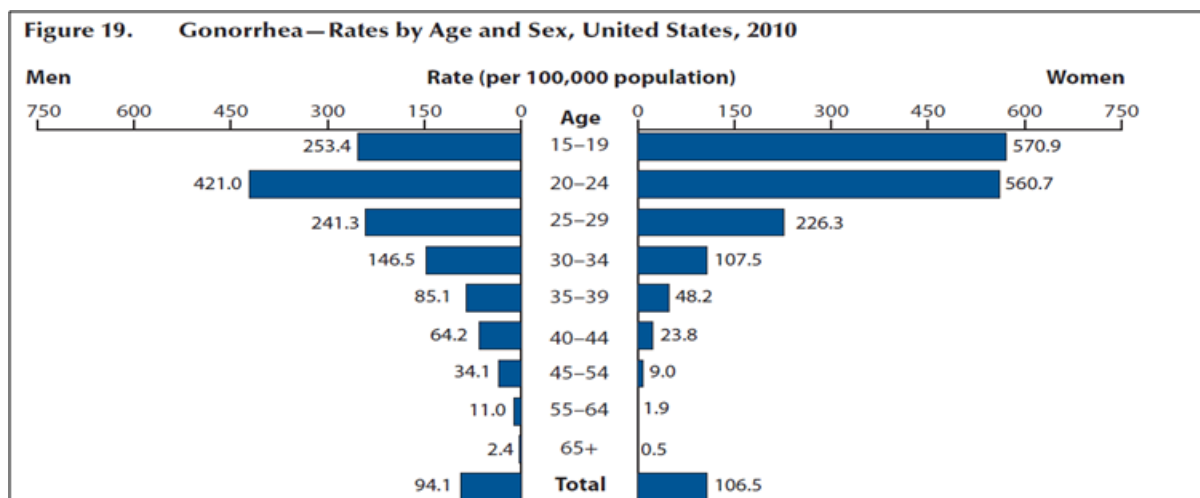


Fonte: WHO. Global Prevalence and Incidence of Selected Curable Sexually Transmitted Infections, 2001

A dimensão do problema deve ser ainda maior, visto que países não desenvolvidos e em desenvolvimento raramente possuem sistema de monitoramento das taxas de gonorreia e poucos países possuem sistemas de notificação confiáveis. Informações precisas sobre a ocorrência da gonorreia são difíceis de obter, dados de prevalência e incidência disponíveis são sujeitos a vieses e limitações, e incapazes de proporcionar conhecimento preciso sobre a distribuição da doença. Dificuldades na compilação de dados incluem o diagnóstico baseado somente em sintomatologia, sem a identificação do agente etiológico; falta ou inoperância de mecanismos de notificação, mesmo quando a doença é diagnosticada com precisão; relutância em relatar doença sexualmente transmissível para as autoridades de saúde pública e falta de padronização dos dados. O subdiagnóstico é particularmente significativo em mulheres, que podem ser assintomáticas ou apresentar sintomatologia escassa. Muitas vezes somente os serviços públicos e os serviços especializados notificam, nem sempre usados por todos os estratos sociais (TAPSALL, 2001; EDCC, 2011).

Estima-se que ocorram atualmente nos Estados Unidos da América 700.000 novos casos anuais de gonorreia (WORKOWSKI; BERMAN, 2010), constituindo-se na segunda doença sexualmente transmissível de origem bacteriana mais notificada; e junto com as infecções produzidas por *Chlamydia*, representam a principal causa da doença inflamatória pélvica. Em 2009, foi detectada incidência de 98,1 casos por 100 000 habitantes, a menor taxa desde que os casos começaram a ser monitorados. O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América (CDC) reportou 309.341 casos de gonorreia em 2010, com uma taxa de 100,8 casos por 100 000 habitantes, ocorrendo ligeiro aumento do número de casos. As taxas mais elevadas foram observadas em mulheres entre 15 a 19 anos (570, 9) e de 20 a 24 anos (560,7) por 100 000 habitantes (Figura 4), esta tendência tem sido observada desde 2002. As taxas de gonorreia foram maiores entre os negros (18,7 vezes), os índios (4,6 vezes), e os hispânicos (2,2 vezes), do que entre os brancos. Houve aumento das taxas em todos os grupos etários, principalmente no grupo entre 20 a 24 anos, seguido do grupo de 30 a 34 anos. A prevalência de gonorreia em homens que fazem sexo com homens foi de 15,5%. Dados obtidos do sistema de vigilância *Gonococcal Isolate Surveillance Programme* (GISP) detectaram aumento do número de isolados provenientes de HSH de 4,6% em 1990 para 28,9% em 2010 (WORKOWSKI; BERMAN, 2010; CDC, 2010).

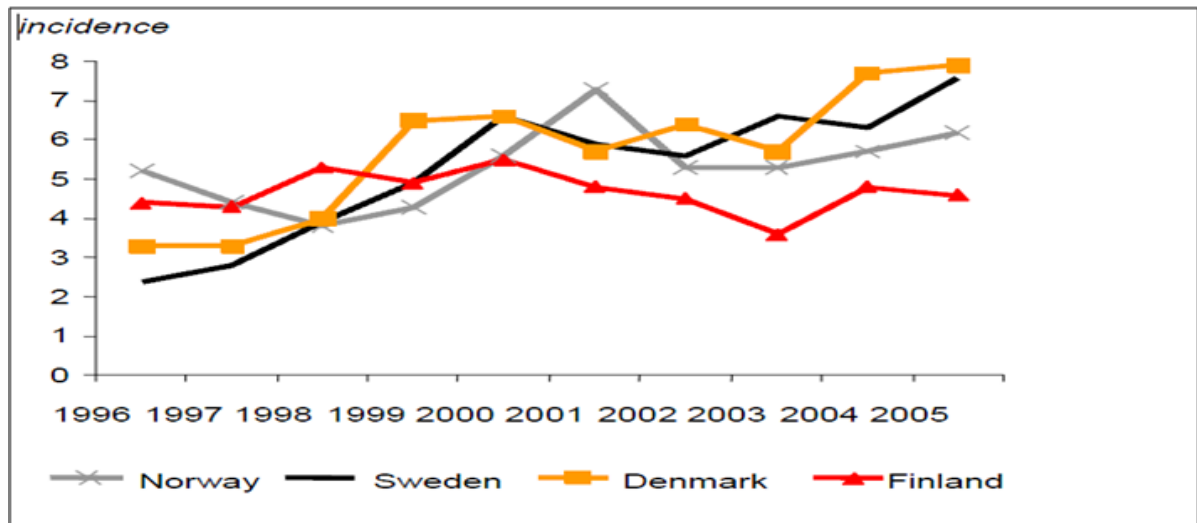
**Figura 4 - Taxa de gonorreia por idade e sexo nos EUA, em 2010.**



Fonte: WORKOWSKI; BERMAN, 2010

O Centro Europeu de Prevenção e Controle de Doenças reportou 29.202 casos de gonorreia em 2009 a partir de 28 Estados membros da União Europeia, com uma taxa de 9,7 por 100.000 habitantes. A gonorreia foi notificada quase três vezes mais frequentemente em homens (15,9/100 000 habitantes) do que em mulheres (6,3/100 000). Grande parte dos casos (44%) foram diagnosticados em jovens entre 15 e 24 anos. Em aproximadamente um quarto deles (24%) foram reportados em HSH. Do total de casos, 58% foram relatados no Reino Unido. Há grande diferença na tendência epidemiológica da gonorreia na Europa. O padrão geral, durante a última década, pareceu ser ligeiramente decrescente e mostrou dois tipos de tendência: diminuição em países que anteriormente relatavam taxas de notificação muito elevadas na década de 1990, como Bulgária, Estônia, Letônia, República Checa e da Romênia; e, crescente em outros países, onde ocorriam poucos casos (Figura 5). Em 2009 as maiores taxas foram observadas no Reino Unido (27,6/100 000 habitantes), Letônia (18,5), Malta (15,0), Islândia (14,7), Lituânia (11,7) e Dinamarca (10,2). As taxas globais entre 2000 a 2009 aumentaram em seis países: Dinamarca, Portugal, Grécia, Espanha, Islândia, e Irlanda. Em relação a 2008 a taxa global permaneceu relativamente estável, apesar de vários países observarem aumentos notáveis, como Islândia (86%), Portugal (83%), Polônia (57%) e Dinamarca (36%). Os resultados sugerem que HSH constituem grupo em risco cada vez mais importante para as doenças sexualmente transmissíveis na Europa Ocidental e Central (SAVAGE *et al.*, 2009; ECDPC, 2011).

**Figura 5 - Incidência da gonorreia por 100 000 habitantes em países nórdicos, 1995 a 2005.**



Fonte: BERGLUND (2006).

No Brasil, não há um mapa de distribuição das doenças sexualmente transmissíveis e os dados da gonorreia são escassos. Segundo a última estimativa do Ministério da Saúde, ocorrem no país anualmente cerca de 1.541.800 casos de gonorreia (BRASIL, 2011a). Provavelmente, esses dados estão subestimados, visto que a notificação das doenças sexualmente transmissíveis não é integralmente obrigatória. As doenças sexualmente transmissíveis de notificação compulsória desde 1996 são AIDS, sífilis na gestante e sífilis congênita, e sorologia positiva para o HIV na gestante e na criança exposta. A notificação da síndrome do corrimento uretral passou a ser obrigatória em 2010, nos termos da Portaria nº 2472 de 2010 e Portaria nº 104 de 2011, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2010; BRASIL, 2011b). Essas portarias, entretanto, não preconizam a distinção entre casos de uretrite gonocócica e uretrite não gonocócica, e não há garantia de que os casos estejam sendo realmente notificados nem da qualidade dos relatórios emitidos. O Ministério da Saúde procurou conhecer durante o período de 2004 a 2005, em seis capitais (Goiânia, Fortaleza, Porto Alegre, São Paulo, Rio de Janeiro e Manaus), a prevalência das doenças sexualmente transmissíveis no Brasil, sendo encontrada para gonorreia a prevalência de 0,9% para homens trabalhadores de indústria, 1,5% para gestantes, e 7,4% para usuários de clínicas de doenças sexualmente transmissíveis, sendo 3,3% para as mulheres e 18,5% para os homens (BRASIL, 2005).

### 2.7.2 Transmissão

Após contato sexual do parceiro fonte com o novo hospedeiro, vencidas as barreiras naturais da mucosa, e em período de incubação relativamente curto de 1 a 10 dias (2 a 5 dias em média), a infecção evolui para doença. Em alguns casos, ocorre um processo localizado autolimitado sem maiores repercussões, enquanto em outros surgem complicações no próprio aparelho urogenital ou à distância, provocando alterações sistêmicas (PASSOS *et al.*, 1995).

A transmissibilidade é dependente do inóculo bacteriano e do subtipo da cepa, potencializado pelo número de exposições. A transmissão homem mulher é mais eficiente do que o inverso, em parte devido ao número de organismos presentes no corrimento uretral masculino, do que na secreção vaginal. Holmes *et al.* estimaram o risco de contágio para o sexo masculino, após contato com parceira infectada em cerca de 20%, podendo se elevar para 90%, no caso de reexposição. Para o sexo feminino, o risco de infecção é em torno de 80%, sendo de mais de 90% quando reexpostas (HOLMES *et al.*, 1970). A maioria das mulheres infectadas (60 a 80%) e parte dos homens não apresentam sintomatologia, o que reforça a importância do controle da população infectada para interromper a cadeia de transmissão.

### 2.7.3 Resistência a antimicrobianos

A *N. gonorrhoeae*, ao longo dos últimos 60 anos, tem desenvolvido resistência a múltiplas classes de antimicrobianos.

As sulfanilamidas foram os primeiros antimicrobianos utilizados para o tratamento de gonorreia, desde sua introdução em 1936, mas sua eficácia foi de curta duração devido ao aparecimento de resistência em 1945, mediada por cromossomos (KAMPMEIER, 1983; SARAFIAN; KNAPP, 1989).

A penicilina tornou-se então, o antimicrobiano recomendado durante os 40 anos seguintes. O declínio progressivo da susceptibilidade à penicilina foi inicialmente associado à resistência mediada por cromossomos, e posteriormente à resistência devida à aquisição e propagação de plasmídeos, identificados pela primeira vez em 1976 a partir de cepas isoladas na Inglaterra e Estados Unidos da América. Dessa forma, fez-se necessário o aumento progressivo da dose recomendada de penicilina procaína intramuscular de 50 000 unidades

em 1945, para 48 milhões de unidades até o início de 1970 (REYN, 1961). Conseqüentemente, já em 1989 a penicilina não era mais uma opção de tratamento eficaz, e deixou de ser recomendada para tratamento da gonorreia (WORKOWSKI *et al.*, 2008; BARRY; KLAUSNER, 2010).

A resistência à tetraciclina, mediada por cromossomos, surgiu em 1970, por meio de mecanismos semelhantes à resistência a penicilina. Na década de 1980, a resistência de alto nível, devida à aquisição de plasmídeo foi caracterizada pela primeira vez nos Estados Unidos da América, Canadá, países baixos e Inglaterra. A resistência se disseminou de tal forma que a tetraciclina não foi mais considerada uma opção de tratamento (DILLON, YEUNG, 1989; SARAFIAN; KNAPP, 1989; ROBERTS, 1989; WORKOWSKI *et al.*, 2008).

As fluoroquinolonas foram introduzidas para o tratamento da gonorreia no final dos anos 1980. Eram altamente eficazes contra infecções de *N. gonorrhoeae* em todos os sítios anatômicos, apresentando poucos efeitos colaterais em adultos, e a vantagem de possibilitar sua administração em dose única, por via oral. A ciprofloxacina tornou-se a base do tratamento de infecções gonocócicas não complicadas, passando a ser recomendada pelo CDC como esquema alternativo em 1989, e como terapia de primeira linha em 1993 (CDC, 1993). Contudo, rapidamente surgiram os primeiros relatos de resistência às fluoroquinolonas, ainda nos anos 1980. Em 1986, foi documentada falha no tratamento na Noruega com Enoxacin (WAGENVOORT *et al.*, 1986). Nos Estados Unidos da América, a primeira cepa resistente foi identificada no Havaí, em 1991 (IVERSON *et al.*, 2004). A resistência tornou-se prevalente inicialmente na Ásia, rapidamente se espalhou para a Austrália, Havaí, América do Norte e Europa, passando a não ser mais recomendada para tratamento em muitos países (TANAKA *et al.*, 1994; BRITISH ASSOCIATION FOR SEXUAL HEALTH AND HIV, 2005; TAPSALL, 2005; MARTIN *et al.*, 2006; WORKOWSKI *et al.*, 2008; BARRY; KLAUSNER, 2010). A prevalência de isolados resistentes às fluoroquinolonas continuou a aumentar também nos Estados Unidos da América, especialmente na Califórnia e no Havaí, principalmente entre os HSH de forma que, não foram mais indicadas nestas populações depois de 2004 (CDC, 2000; KATZ *et al.*, 2003). Em 2007, o CDC recomendou que nenhuma infecção por gonococos nos Estados Unidos fosse tratada com ciprofloxacina, como primeira linha de terapia (CDC, 2007; MCCARTHY, 2007). Em 2010, no Japão mais de 80% dos isolados eram resistentes a ciprofloxacina, e a resistência chegava a 60% em outros países da Ásia como China, Hong Kong, Korea e Filipinas (OHNISHI *et al.*, 2010; DEGUCHI *et al.*, 2010). Há relatos de resistência também na África e América Latina (CO-ORDINATING CENTRE, GONOCOCCAL ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY SURVEILLANCE

PROGRAM IN LATIN AMERICA AND THE CARIBBEAN (GASP-LAC), 2010; BROWN *et al.*, 2007).

A ceftriaxona começou a ser utilizada para o tratamento de infecções gonocócicas a partir de 1985. Tornou-se então, em 1993, primeira opção de tratamento, ao lado das fluoroquinolonas, e da cefixima (CDC, 1993). Atualmente, devido ao surgimento de cepas de *N.gonorrhoeae* resistentes às fluoroquinolonas, as cefalosporinas passaram a constituir a única classe de antimicrobianos recomendada para o tratamento de gonorreia nos Estados Unidos da América (CDC, 2011).

Apesar de seu histórico de confiabilidade para o tratamento da gonorreia, a resistência às cefalosporinas começou a se desenvolver e difundir-se na Ásia, com possível importação para Austrália e Europa (BARRY; KLAUSNER, 2010). Casos de falha no tratamento com cefixima foram relatadas no Japão em 2000 (AKASAKA *et al.*, 2001). Vários relatórios posteriores documentaram a rápida propagação e aumento da resistência às cefalosporinas orais de terceira geração. Como resultado, a partir de 2006 a cefixima não era mais recomendada como terapia de primeira linha no Japão. Nos Estados Unidos da América, os primeiros casos de redução da sensibilidade à cefixima foram relatados já em 2001, no Havaí (WANG *et al.*, 2003). EM 2010, foi documentada falha de tratamento com cefixima na Noruega e Reino Unido (UNEMO *et al.*, 2010; ISON *et al.*, 2010). Falhas no tratamento com cefalosporinas orais também foram detectadas na China (WHO; CDC, 2010; CHI LO *et al.*; 2012).

Nos Estados Unidos da América durante o período de 2000 a 2010, o percentual de isolados com elevadas concentrações inibitórias mínimas (CIM) para cefalosporinas ( $\geq 0,25$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para cefixima, e  $\geq 0,125$   $\mu\text{g} / \text{mL}$  para a ceftriaxona) aumentou de 0,2% para 1,4% para cefixima, e de 0,1% para 0,3% para a ceftriaxona (CDC, 2011). O decréscimo de sensibilidade a cefixime e ceftriaxona também foi encontrado em diversos outros países como Canadá, Austrália, França, Itália, Dinamarca, Espanha, Grécia e Índia, (BALA *et al.*, 2007; MARTIN *et al.*, 2011; MONFORT *et al.*, 2009; TAPSALL, 2009). O relatório da Organização Mundial de Saúde para a Região do Pacífico Ocidental informa que houve decréscimo na susceptibilidade à ceftriaxona de forma particularmente importante na China, correspondendo a 30 a 40% dos isolados (WHO; CDC, 2010).

Fato ainda mais preocupante foi o isolamento em 2009, em Kioto (Japão), de cepa de *N. gonorrhoea*, proveniente de paciente com gonorreia faríngea, altamente resistente à ceftriaxona (CIM de 2,0 a 4,0  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ). Esta cepa mostrou-se relacionada a clones anteriores

com reduzida susceptibilidade a cefixima, porém com versão diferente do mosaico *PenA*, sendo denominada HO41 (OHNISHI *et al.*, 2010; OHNISHI *et al.*, 2011a). Passaram-se três anos do aparecimento dessa cepa, sem novos relatos. Porém, baseando-se no histórico de resistência às fluoroquinolonas, esta estirpe poderá continuar a evoluir e propagar-se caso não sejam tomadas medidas de precaução (GAIL *et al.*, 2012).

Alguns antimicrobianos constituem regimes de tratamento alternativos, que podem ser utilizados para infecções gonocócicas, em casos de resistência ou intolerância às cefalosporinas, como a espectinomicina e azitromicina.

A espectinomicina é um dos antimicrobianos de primeira linha para tratamento de infecções gonocócicas no Japão, devido aos elevados índices de resistência às cefalosporinas orais. Possui, entretanto, limitada eficácia para o tratamento da infecção da faringe, o que limita sua utilidade em populações em que tais infecções são comuns, como em HSH, e não se encontra disponível em vários países. Apresenta também histórico de desenvolver altos níveis de resistência, quando foi amplamente utilizada, na década de 1980 (NEWMAN *et al.*, 2007). As cepas resistentes à espectinomicina foram isoladas primeiramente na Coreia, nos anos 1980, e posteriormente no Reino Unido, leste do pacífico e Estados Unidos da América (SARAFIAN; KNAPP, 1989; WHO, 2006). Mais recentemente, foram registrados casos de resistência na região da América Latina e Caribe, na Venezuela e na Colômbia (DILLON *et al.*, 2006).

A azitromicina constitui-se em outra opção, utilizada em combinação com outros agentes, para tratamento de infecção concomitante por clamídia. A azitromicina 1g, via oral, tem sido ainda recomendada para tratamento de gonorreia. No entanto, desde os anos 1990 têm sido detectadas cepas com reduzida susceptibilidade à azitromicina em vários países (TAPSALL *et al.*, 1998). No Japão (2008), 62,9% dos isolados apresentavam susceptibilidade reduzida ou resistência a azitromicina (DEGUCHI *et al.*, 2010). No Reino Unido foi detectada resistência de alto nível à azitromicina (CIM >256µg/mL) em 2007, não sendo mais recomendada para tratamento da gonorreia (CHISHOLM *et al.*, 2009). Nos Estados Unidos da América, embora o número de isolados com reduzida susceptibilidade venha aumentando desde 2005, o primeiro isolado com resistência de alto nível à azitromicina (CIM ≥ 512 µg/mL) foi detectado no Havaí, em 2011 (KATZ *et al.*, 2011). Há registro de resistência à azitromicina em países da África e da América Latina, como o Brasil, Chile, Peru, Uruguai, Venezuela e Argentina, onde foi detectada resistência de alto nível, em 2001 (DILLON *et al.*, 2001; Dillon *et al.*, 2006; FERREIRA *et al.*, 2008; GASP-AL, 2010; OPAS, 2010). Portanto,



a dose única de 1g de azitromicina não é mais eficiente para tratamento em muitas circunstâncias. A dose única de 2g tem sido recomendada para a infecção gonocócica descomplicada. No entanto, as preocupações sobre o desenvolvimento de resistência antimicrobiana a macrolídeos, devido ao seu uso generalizado, restringem esta opção de tratamento à circunstâncias limitadas.

A situação se torna mais preocupante, à medida que algumas cepas de *N. gonorrhoeae* demonstram susceptibilidade reduzida às cefalosporinas e também a múltiplas classes de drogas. O surgimento e disseminação de cepas multirresistentes é particularmente preocupante, uma vez que no momento não existem novas opções promissoras de tratamento. Mesmo se houvessem novas alternativas, seriam necessárias estratégias de controle, para evitar que ocorresse novamente emergência de resistência no futuro (NEWMAN *et al.*, 2007).

#### **2.7.4 Programas de vigilância da resistência antimicrobiana**

Nas últimas décadas, em várias regiões do mundo, foram implantados programas de vigilância da resistência antimicrobiana para *N. gonorrhoeae*, baseados em dados laboratoriais, com o objetivo de monitorar a emergência de cepas resistentes em circulação, possibilitando a antecipação de condutas terapêuticas e contribuindo para o controle da gonorreia. Esses sistemas têm fornecido informações de níveis de resistência em alguns locais de sua jurisdição, sugerindo modificações nos esquemas de tratamento destas regiões, sem necessidade de modificá-lo nas demais. Os sistemas de vigilância são essenciais para a fixação das diretrizes para o tratamento. Percebe-se que, em países onde a resistência da *N. gonorrhoeae* tem surgido com maior frequência não existe um monitoramento nacional e contínuo da resistência às drogas, além da inexistência de controle do acesso a antimicrobianos, o que, conseqüentemente, leva à seleção inadequada de antibióticos e a sua utilização em doses subótimas (TAPSALL *et al.*, 2009; DEGUCHI *et al.*, 2010).

Os sistemas de vigilância nacionais da resistência da *N. gonorrhoeae* a antimicrobianos incluem: o programa de vigilância australiano *Australian Gonococcal Surveillance Programme* (AGSP), atuando desde 1981; nos Estados Unidos da América o *Gonococcal Isolate Surveillance Project* (GISP), iniciado em 1986; e no Reino Unido o *Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme* (GRASP), que teve início em 2000. Estes sistemas utilizam métodos baseados em CIM para determinação da resistência bacteriana. Outros programas nacionais incluem o da Suécia, África do Sul e Rússia. O

*Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme* (GASP), vinculado a Organização Mundial de Saúde, engloba sistemas regionais que envolvem vários países, como o Canadá, países da Europa (Euro-GASP), a região do Pacífico Ocidental e Sudeste da Ásia, além de América Latina e Caribe, e África. O GASP da América Latina e Caribe (GASP-LAC) foi reativado em 2009 sob a supervisão do Canadá. Os países vinculados ao GASP utilizam muitas metodologias diferentes para realização dos testes de susceptibilidade. Existe escassez de dados em muitos países, principalmente aqueles com grande ocorrência de gonorreia. Por outro lado, mesmo nos que apresentam sistemas de vigilância, os dados são questionáveis, visto que a realização dos testes de susceptibilidade, coleta e análise dos dados não são padronizados, nem adequadamente organizados (TAPSALL *et al.*, 2009; WHO; CDC, 2010).

Os sistemas de vigilância são sujeitos a vieses e limitações, alguns obtêm amostras somente de serviços de doenças sexualmente transmissíveis, que podem apresentar perfis de susceptibilidade muito diferentes da população em geral, outros incluem somente homens, ou somente pacientes sintomáticos. A resistência nos sítios sentinela pode diferir da resistência em outros locais.

Como já ocorreu com a gonorreia no passado a resistência às drogas pode ser importada de outros países e se espalhar por diversas regiões do mundo, por meio de viajantes internacionais. A colaboração internacional entre os e sistemas regionais e nacionais de vigilância são, portanto cruciais. Isto pode ser especialmente verdadeiro em relação à vigilância da Região do Pacífico Ocidental onde a resistência às cefalosporinas já ocorre, e de onde a resistência a outros antimicrobianos se espalhou pelo mundo no passado (TAPSALL, 2001; DEGUCHI *et al.*, 2010).

#### **2.7.4.1 Vigilância da resistência no Brasil**

No Brasil, foram realizados alguns trabalhos pioneiros buscando monitorar a susceptibilidade da *N. gonorrhoeae*. O trabalho de Magalhães, responsável pelo isolamento da primeira cepa produtora de penicilinase, no Recife, foi ponto de partida para estudos posteriores em Belo Horizonte, São Paulo e Santa Catarina, realizados isoladamente (ANTUNES *et al.*, 1984; MAGALHÃES, 1984; SMÂNIA *et al.*, 1991). O Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, em 1996, patrocinou a implantação da Rede Nacional de Vigilância da resistência dos gonococos RENAGONO, reunindo 12 laboratórios

de saúde pública (LACEN) de várias regiões do país, e universidades públicas na região sudeste, como parte do *Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance Program in Latin America and the Caribbean* (GASP-LAC). Os primeiros resultados foram produzidos em 2001, com amostras isoladas em Manaus, e enviadas para serem processadas no Canadá, registrando altos níveis de resistência à penicilina e tetraciclina, e sensibilidade diminuída à azitromicina e ciprofloxacina (DILLON *et al.*, 2001). Inspirou a realização de estudos mais recentes por Willian Ferreira em Manaus, Nero Barreto no Rio de Janeiro, e Belda Junior em São Paulo (FERREIRA *et al.*, 2001; BARRETO, 2004; BELDA Jr *et al.*, 2007; BELDA Jr *et al.*, 2007b).

O programa RENAGONO não teve continuidade, e posteriormente, em 2010, com a retomada do GASP-ALC, iniciou-se novo projeto o SENGONO, sob a coordenação do Ministério da Saúde, visando obter dados de vigilância em seis capitais: Manaus, Fortaleza, Goiânia, Rio de Janeiro, São Paulo e Porto Alegre. Dados apresentados no último encontro do GASP-LAC (2010) relataram resistência à penicilina, tetraciclina, cloranfenicol, ciprofloxacina, azitromicina e ofloxacina, a partir de 120 amostras provenientes de Manaus em 2007. Além disso, foram detectados sete isolados com CIM aumentada para ceftriaxona (FERREIRA *et al.*, 2011; GASP-LAC, 2010; WHO; CDC, 2010). Segundo informação pessoal, fornecida pela assessoria do Ministério da Saúde, Manaus foi o único sítio que atingiu a meta de isolados estipulada no projeto SENGONO. Observa-se que a vigilância da resistência no Brasil tem sido realizada de forma isolada e descontinuada.

## **2.8 Manifestações clínicas**

### **2.8.1 Gonorreia no homem**

As manifestações clínicas típicas de uretrite aguda ocorrem em cerca de 93% dos pacientes. O processo inflamatório da uretra anterior inicia-se após período de incubação de dois a cinco dias, em média. Inicialmente ocorre sensação de formigamento ou prurido intra-uretral, com ardor miccional (disúria), dois a três dias após surge corrimento uretral mucoso, que rapidamente se torna muco purulento, de coloração amarelo-esverdeada, com eliminação abundante e espontânea. As bordas do meato uretral se tornam edemaciadas e a mucosa eritematosa. Ocorre inchaço do prepúcio podendo desenvolver-se fimose inflamatória. O período de incubação na gonorreia é mais curto, quando comparada com uretrite não

gonocócica, a disúria é mais proeminente, e o corrimento uretral mais profuso e purulento. Pequena parcela dos homens com gonorreia uretral apresentam-se assintomáticos ou oligossintomáticos. Este fato está relacionado ao tipo de cepa infectante, alguns sorotipos estão mais associados com infecções assintomáticas (SANTOS Jr.; SIQUEIRA, 2005; HANDSFIELD, SPARLING, 2009).

A sua evolução, quando não tratada nesta fase, transcorre em aproximadamente três semanas, podendo se propagar para a uretra posterior, trato urinário médio e superior, além da próstata, canais deferentes e epidídimo. Pode levar a complicações como balanopostite, prostatite, orquite, e epididimite. Pode ocorrer mal estar geral e febre. A orquiepididimite uni ou bilateral poderá ocasionar obstrução do canal epididimal, e diminuição da fertilidade ou esterilidade (PASSOS *et al.*, 1995; SANTOS; SIQUEIRA, 2005; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

### **2.8.2 Gonorreia na mulher**

Na mulher, o canal endocervical é o local prioritário da infecção gonocócica. Podem ser acometidos também uretra, reto e glândulas de Bartholin. A vagina não é infectada na mulher adulta. Evolui de forma oligossintomática, caracterizado por um corrimento escasso, leitoso, muitas vezes imperceptível pela paciente. Cerca de 60 a 80% das pacientes podem ficar contaminadas por meses sem qualquer sintomatologia.

As alterações clínicas, quando presentes, podem se confundir com outras infecções genitais como vaginose bacteriana, tricomoníase, que às vezes ocorrem concomitantemente à gonorreia. Na uretrite pode ocorrer também disúria, e às vezes urgência urinária e secreção amarelada. As manifestações clínicas agudas podem ocorrer em 10 a 15% dos casos, e se caracterizam por corrimento de grande intensidade, amarelo esverdeado, com odor fétido. O colo pode se apresentar edemaciado, com ectopia acentuada, sangrar com facilidade ao exame, e apresentar secreção purulenta. O exame clínico não permite estabelecer o diagnóstico de gonorreia na mulher, podendo ser de suspeição quando associado a dados de anamnese. Durante a gravidez a gonorreia é associada com aborto espontâneo no primeiro trimestre, parto prematuro e mortalidade infantil (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

A infecção ascendente a trompas e ovários, quando não tratada, pode caracterizar a doença inflamatória pélvica, que é a mais importante complicação da gonococcia na mulher.

### 2.8.3 Doença Inflamatória Pélvica

Estima-se que a doença inflamatória pélvica ocorra em 10 a 20% das pacientes com gonorreia. A doença inflamatória pélvica constitui-se em denominação genérica que pode estar relacionada com endometrite, salpingite, peritonite, abscesso tubo-ovariano, perihepatite ou a combinação de todos estes acometimentos. As jovens e em uso de dispositivos intrauterinos são mais susceptíveis, que as mulheres mais velhas. A vaginose bacteriana, caracterizada pelo aumento acentuado da concentração vaginal de microrganismos anaeróbios potencialmente patogênicos está fortemente associada à doença inflamatória pélvica.

Apresenta como principal sintomatologia a dor abdominal baixa, vômitos, náusea e febre em algumas pacientes. O exame clínico pode revelar ovários e útero sensíveis à palpação, e o cérvix doloroso à sua movimentação. Os sinais de inflamação peritoneal são comuns em casos graves, e algumas mulheres apresentam sinais de cervicite muco-purulenta. Pode ocorrer leucocitose, hemossedimentação e proteína C reativa aumentadas. O diagnóstico clínico de doença inflamatória pélvica é impreciso, mesmo com a laparoscopia.

A infertilidade, resultante da obstrução das tubas uterinas, é a mais grave consequência da doença inflamatória pélvica e ocorre em 15 a 20% das mulheres, atingindo 50 a 80% após o segundo episódio. A salpingite é encontrada em 50 a 80% das mulheres com gravidez ectópica. A dor pélvica crônica causada por aderências ocorre em 20% das mulheres após a doença inflamatória pélvica (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

Pode ocorrer perihepatite, quando o exsudato atinge o hipocôndrio direito. Suas sequelas podem ser visualizadas pela laparoscopia como aderências hepáticas à parede abdominal, com aspecto de cordas de violino (PASSOS *et al.*, 1995).

### 2.8.4 Gonorreia no neonato e na criança

A conjuntivite gonocócica é a manifestação mais comum de infecção no neonato, e importante causa de cegueira em diversos países em desenvolvimento. O recém-nascido é contaminado durante a passagem pelo canal do parto. Após período de incubação de três a sete dias, inicia-se a secreção conjuntival serosa, que se tornará purulenta, ocorre edema palpebral e conjuntival, podendo provocar cegueira. O recém-nascido exposto à gonococcia pode também vir a desenvolver septicemia e artrite.

A gonorreia pode ser adquirida na infância através do contato com fômites, a partir de um parente infectado, higiene precária, ou abuso sexual, que ocorre muitas vezes dentro da própria família.

## **2.8.5 Manifestações extragenitais**

### **2.8.5.1 Infecção gonocócica retal**

A *N. gonorrhoea* pode ser isolada do reto de 40 a 50% das mulheres com gonorreia e de HSH. A infecção é adquirida através do coito anal, e nas mulheres, também por contaminação com secreção cervicovaginal, devido à proximidade anatômica entre os sítios. Em HSH é, frequentemente, o único sítio de infecção. O quadro clínico é discreto na maioria dos casos, somente 10% dos pacientes apresentam sintomatologia, especialmente caracterizada pela inflamação do ânus e do reto, tenesmo, prurido, sensação de ardência ou mesmo secreção purulenta anal, às vezes com sangramento.

### **2.8.5.2 Infecção gonocócica da faringe**

A infecção gonocócica da faringe é adquirida durante o sexo oral, principalmente a felação, e se apresenta assintomática em 70% dos casos. Em raros casos pode ocorrer faringite. A prevalência da infecção varia de acordo com a população estudada e o método de diagnóstico para sua detecção (BERNSTEIN *et al.*, 2009). Vários estudos identificaram alta prevalência de infecções gonocócicas assintomáticas da faringe em populações específicas, como HSH, pacientes de clínicas de doenças sexualmente transmissíveis, e portadores do vírus da imunodeficiência humana. Estes estudos ressaltam a importância de pacientes, que relatam história de sexo oral desprotegido, serem submetidos a exames para detecção de infecções gonocócicas da faringe. As infecções faríngeas são mais difíceis de erradicar e de serem diagnosticadas, dispondo de escassas opções terapêuticas para o tratamento. A ceftriaxona é o único esquema recomendado. Recentemente, tem-se enfatizado o papel da infecção da faringe, que sendo principalmente assintomática, funciona como reservatório de infecção na população (NEWMAN *et al.*, 2007; WEINSTOCK; WORKOWSKI, 2009).

### 2.8.5.3 Conjuntivite gonocócica

A oftalmia gonocócica em adulto ocorre principalmente devido à autoinoculação e, menos frequentemente, à exposição oro genital. É frequentemente dolorosa, com fotofobia e exsudato purulento. Na ausência de tratamento evolui rapidamente para ulceração da córnea.

### 2.8.6 Infecção gonocócica disseminada

Cerca de 0,5 a 3,0% dos pacientes com gonorreia não tratada desenvolvem a forma disseminada, caracterizada por bacteremia que evolui a partir de um foco localizado, geralmente genital. A artrite séptica e a síndrome da poliartrite e dermatite são as manifestações mais comuns. Constituem manifestações raras o desenvolvimento de endocardite, meningite, osteomielite e choque séptico. A *N. gonorrhoeae* pode ser isolada a partir de hemocultivo nesses casos. Alguns sorotipos específicos de *N. gonorrhoea* foram classicamente associados à infecção gonocócica disseminada (AHU<sup>-</sup>), porém atualmente cepas com resistência a antimicrobianos estão mais relacionadas à disseminação gonocócica.

Na síndrome da poliartrite e dermatite ocorrem lesões cutâneas em 50 a 75% dos pacientes, preferencialmente nas regiões justa-articulares. Caracteriza-se por lesões pequenas dolorosas, que aparecem nas extremidades distais. A lesão inicia-se por mácula hemorrágica, com posterior pustulização, podendo evoluir para formação de crosta. A poliartrite gonocócica está presente em 90% dos casos de infecção gonocócica disseminada, comprometendo, em geral, joelhos, cotovelos e articulações distais. Ao exame físico evidenciam-se, usualmente, sinais de tenosinovite e artrite em pelo menos duas articulações. Não sendo tratada prontamente, pode evoluir para artrite séptica incapacitante, erosão da cartilagem e atrofia de estruturas ósseas adjacentes. Nesse estágio da doença é possível detectar o microrganismo em 50% dos casos, à partir da cultura do líquido sinovial (PASSOS *et al.*, 1995; HANDSFIELD; SPARLING, 2009)

A endocardite gonocócica é rara e ocorre em 1 a 2% dos pacientes com infecção gonocócica disseminada, está frequentemente associada à síndrome da artrite dermatite, embora possa ocorrer isoladamente.

### 2.8.7 Gonorreia e o vírus da imunodeficiência humana

A gonorreia juntamente com a úlcera genital constituem-se em amplificadores potentes da propagação do vírus da imunodeficiência humana. A taxa de transmissão do vírus da imunodeficiência humana em pessoas com gonorreia pode ser cinco vezes maior do que em pessoas sem gonorreia. Esta associação decorre do aumento da carga deste vírus no sêmen e fluido vaginal de pessoas infectadas simultaneamente por ele e pelo gonococo, quando comparada com a de pessoas somente infectadas pelo HIV. Esta carga viral aumentada decorre do recrutamento de células inflamatórias, infectadas pelo HIV, para superfícies mucosas infectadas pelo gonococo, aumentando o inóculo infeccioso viral transmitido em até 8 vezes. *N. gonorrhoeae* também pode aumentar dramaticamente a replicação do HIV durante a co-infecção (COHEN *et al.*, 1997; FLEMING; WASSERHEIT, 1999; ROTTINGEN *et al.*, 2001; DUARTE *et al.*, 2003; ZHANG *et al.*, 2005).

## 2.9 Diagnóstico laboratorial da gonorreia

A anamnese e o exame da genitália fornecem elementos valiosos para diagnóstico, que deverá ser complementado e confirmado pelos exames laboratoriais.

O isolamento da *N. gonorrhoeae* é historicamente o padrão ouro para diagnóstico. A cultura é relativamente barata e razoavelmente sensível, sendo o único método validado para infecção retal e faríngea. Possibilita a preservação do isolado para testes de susceptibilidade, quando clinicamente indicados, ou para fins de vigilância. Em caso de falha no tratamento somente a cultura deverá ser utilizada. Além de ser considerado o único método aceito para fins forenses, para casos de estupro ou crianças com gonorreia e/ou suspeita de abuso sexual.

Ultimamente, os testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAATs) têm sido bastante utilizados, ultrapassando as culturas em muitos países, podendo também ser utilizados em amostras de urina e *swabs* vaginais (HANDSFIELD; SPARLING, 2009; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

### 2.9.1 Bacterioscopia pelo Gram

A bacterioscopia pelo Gram de amostra de secreção uretral masculina, demonstrando diplococos Gram-negativos no interior de leucócitos polimorfonucleares, devido à sua elevada



especificidade (> 99%) e sensibilidade (> 95%), pode ser considerada diagnóstico para a infecção por *N. gonorrhoeae* em homens sintomáticos.

No entanto, o resultado da bacterioscopia negativo não é suficiente para descartar a infecção em homens assintomáticos, onde a sensibilidade do método cai para 50% (WORKOWSKI; BERMAN, 2010). Além disso, o Gram de amostras endocervicais, faríngeas, ou retais nem sempre são suficientes para detectar a infecção, devido à baixa sensibilidade e, portanto, não são recomendados. Nestes casos, devem ser realizados testes específicos para *N. gonorrhoeae*, como a cultura.

### **2.9.2 Cultura para *Neisseria gonorrhoeae***

A eficácia do diagnóstico depende da qualidade das amostras submetidas ao exame, de como foram coletadas, preservadas, transportadas e semeadas.

A obtenção de uma única cultura em meio seletivo, tal como meio TM ou meio New York City, tem uma sensibilidade de 95% ou mais, para secreção uretral de homens com uretrite sintomática, e 80 a 90% para infecção endocervical nas mulheres. Os resultados são variáveis dependendo da qualidade do meio utilizado e do emprego das amostras clínicas adequadas. Espécimes clínicos estéreis tais como sangue, líquido sinovial, líquido, devem ser semeadas em ágar chocolate suplementado ou em caldo, podendo ser utilizado método automatizado.

Os espécimes a serem cultivados são secreção: uretral para homens heterossexuais; anal e da faringe, para HSH; endocervical e se necessário da faringe, para mulheres (fluido vaginal é inadequado) (HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

### **2.9.3 Testes de amplificação de ácidos nucleicos**

Em países desenvolvidos têm sido utilizados frequentemente testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAATs) para diagnóstico de gonorreia. No Brasil o seu uso ainda é limitado a laboratórios de pesquisa ou de grande porte, devido ao custo ainda bastante elevado.

Os NAATs não são significativamente mais sensíveis que a cultura para amostras uretrais e endocervicais, porém são mais específicos (99%), o que pode variar de acordo com o teste empregado. Podem ser utilizados em urina e *swab* vaginal, sem perder a sensibilidade, apresentando a vantagem das amostras poderem ser coletadas pelo próprio paciente (HANDSFIELD; SPARLING, 2009). OS NAATs não são liberados pela Agência de Controle

de Alimentos e Drogas dos Estados Unidos da América para serem utilizados em amostras provenientes do reto, faringe e conjuntiva, que ainda necessitam ser padronizados (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

Esses testes têm sido utilizados para triagem de infecções genitais assintomáticas. Apresentam a desvantagem de permanecer positivos por até duas semanas após o tratamento, o que dificulta sua utilização para controle de cura.

## 2.10 Tratamento

O tratamento efetivo é essencial no controle da gonorreia, pois não só erradica a infecção no indivíduo infectado e previne o desenvolvimento de complicações, como propicia benefício importante em saúde pública ao reduzir a duração da infecção, diminuir assim a sua transmissão e eliminar reservatórios da infecção.

A gonorreia raramente mata diretamente, mas sua morbidade é substancial, embora difícil de quantificar. Estimativas dos benefícios do tratamento efetivo sugerem que, para cada 100 mulheres tratadas adequadamente (dentre as quais 25 são grávidas), 25 casos de doença inflamatória pélvica, 7 casos de oftalmia neonatal e 6 episódios de infertilidade são prevenidos. Over e Piot (1994) tem estimado o impacto cumulativo do tratamento bem sucedido dentro de um grupo. Para 100 casos tratados 425 casos de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana são impedidos a cada 10 anos. Esses benefícios são substanciais e suficientes para justificar investimentos no controle da gonorreia (TAPSALL, 2005).

O tratamento para a gonorreia deve ser seguro, altamente eficaz, de dose única e regime acessível. Os medicamentos adequados para o tratamento devem apresentar elevada eficácia, no mínimo de 95%. Recentemente, como consequência de opções limitadas de tratamento e poucos estudos sobre novos antimicrobianos, tem sido proposto, para os regimes de tratamento alternativos, um critério de cura um pouco menos rigoroso, sendo aceitável a eficiência clínica de 95% com limite inferior do intervalo de confiança de no mínimo 90% (NEWMAN *et al.*, 2007).

O regime de tratamento recomendado para gonorreia deve ser baseado no conhecimento prévio da resistência gonocócica local. Deve-se considerar que os padrões de susceptibilidade antimicrobiana variam de acordo com a área geográfica, com a população estudada e flutuam ao longo do tempo, devendo o tratamento ser individualizado de acordo com os dados epidemiológicos. Não é suficiente e aceitável utilizar dados obtidos em outros centros, para se chegar à melhor opção de tratamento. A falência na cura de um caso de

gonorreia tem implicações em nível de saúde pública, pelo potencial para transmissão continuada e pela rápida emergência de resistência. Portanto, para a gonorreia será necessária uma vigilância da resistência contínua e de qualidade (TAPSALL *et al.*, 2009).

Muitos fatores, além da susceptibilidade antimicrobiana, influenciam a decisão terapêutica, como as características farmacocinéticas do agente, eficácia nas infecções complicada e não complicada, toxicidade, conveniência da administração, custo e eficácia potencial do agente para infecções concomitantes.

Dá-se preferência à terapêutica em dose única por via oral (VO), visando aumentar a adesão do paciente (OMS, 2005). O antimicrobiano deve ser administrado de imediato, na primeira consulta após o diagnóstico, na própria unidade de saúde. Cerca de 12 horas após o tratamento eficaz, em dose única, o gonococo se torna inviável, enquanto os tratamentos multidose não conseguem reduzir a transmissão rapidamente (TAPSALL, 2001).

Recomenda-se também, que a terapia simultânea anti-clamídia seja administrada a todos os pacientes com gonorreia, já que a *Chlamydia trachomatis* constitui o agente concomitante mais encontrado em associação com a gonorreia, ocorrendo em 15 a 25% dos homens heterossexuais e em 35 a 50% das mulheres. Exceto nos casos para os quais se excluiu, por teste laboratorial, um diagnóstico específico de *C. trachomatis* (OMS, 2005; NEWMAN *et al.*, 2007; HANDSFIELD; SPARLING, 2009; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

O tratamento dos parceiros sexuais é importante para evitar a reinfeção. A abordagem dos parceiros sexuais representa parte integral do tratamento de pacientes com gonorreia e outras doenças sexualmente transmissíveis. Os pacientes devem ser instruídos a levar seus parceiros sexuais, para avaliação e tratamento. Os parceiros devem ser examinados e tratados, independente da presença de sintomatologia, para evitar a reinfeção e reduzir a transmissão adicional. Também devem ser orientados a abster-se de relações sexuais até que a terapia seja concluída, ou até que eles e seus parceiros estejam assintomáticos. Para os pacientes cujo tratamento do parceiro não pode ser assegurado, ou seja, improvável ocorrer, deve ser considerada a prescrição e dispensação de antibioticoterapia para gonorreia (assim como para clamídia), para ser entregue aos parceiros. Esta proposta deve ser acompanhada de esforços educativos. Não deve ser considerada como abordagem rotineira, isto é, o parceiro deve sempre ser encorajado a procurar o serviço da saúde (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

O teste de cura não é obrigatório, após o tratamento apropriado da gonorreia urogenital sem complicações, embora seja preconizado em alguns protocolos locais. Pacientes com sintomas persistentes devem ser reavaliados laboratorialmente (WORKOWSKI *et al.*, 2008).

As opções de tratamento têm se tornado escassas, os regimes de tratamento sofrem variação de acordo com o país ou a região. Atualmente nos Estados Unidos da América, a classe das cefalosporinas é a única aprovada para o tratamento de gonorreia. No entanto, a ceftriaxona recomendada como tratamento de primeira linha é disponível somente como uma injeção intramuscular. A cefixima, regime oral recomendado, não se encontra disponível em diversos países como no Brasil (TAPSALL, 2009; BRASIL, 2010; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

### **2.10.1 Terapia na infecção gonocócica não complicada do cérvix, uretra e reto**

No Brasil, o Ministério da Saúde recomenda como primeira opção de tratamento ciprofloxacina 500 mg (VO), ou ceftriaxona 250 mg intramuscular (IM), em dose única. Como segunda opção cefixima 400 mg (VO), ou Ofloxacina 400g (VO), ou espectinomicina 2g (IM), em dose única (BRASIL, 2006).

A Organização Mundial de Saúde recomenda a utilização de ceftriaxona 125 mg (IM), ou cefixima 400 mg via oral (VO), ou espectinomicina 2g (IM), ou ciprofloxacina 500 mg(VO), em dose única (OMS, 2005).

O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América preconiza somente a utilização de ceftriaxona 250 mg (IM), ou cefixima 400 mg (VO) em dose única. Como regimes alternativos, para pacientes que não toleram as cefalosporinas recomenda espectinomicina 2g (IM) ou azitromicina 2g (VO). A dose de 2 g tem sido associada com efeitos adversos gastrointestinais, tais como náuseas, vômitos, diarreia. No entanto, uma nova formulação, permite a liberação prolongada de microesferas, proporcionando 2 g de azitromicina num único comprimido. Isto melhorou a sua tolerabilidade (WORKOWSKI *et al.*, 2008; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

Deve ser realizado o tratamento simultâneo para *Chlamydia trachomatis* com azitromicina 1g (VO), dose única; ou doxiciclina 100 mg (VO), de 12/12 horas por 7dias. Além de tratar a infecção pela Chlamydia representa uma segunda droga, capaz de reduzir o potencial de seleção de gonococos resistentes (BRASIL, 2006; OMS, 2005; WORKOWSKI; BERMAN, 2010). Mulheres grávidas com gonorreia não complicada devem ser tratadas com ceftriaxona em dose única de 250mg. A espectinomicina 2g pode ser utilizada em gestantes com história de alergia à penicilina ou às cefalosporinas. Não devem ser usadas ciprofloxacina, ofloxacina e doxicilina na gravidez nem em crianças e adolescentes (BRASIL, 2005; OMS, 2005; TAPSAL, 2005; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

### **2.10.2 Doença Inflamatória pélvica**

Como primeira opção de tratamento o Ministério da Saúde recomenda ceftriaxona 250 mg (IM), dose única, como segundo esquema pode ser utilizada ofloxacina 400 mg (VO) 12/12 h ou ciprofloxacina 500 mg 12/12 h, por 14 dias; associado à doxiciclina 100 mg (VO), e metronidazol 500 mg (VO), de 12/12 horas por 14 dias. Não havendo melhora, utilizar tratamento endovenoso (BRASIL, 2006).

### **2.10.3 Infecções faríngeas**

Recomenda-se o tratamento com ceftriaxona 250 mg IM, em dose única. Também o tratamento com cefalosporinas orais pode curar mais de 90% das infecções faríngeas por gonococos, porém pode não atingir níveis adequados na faringe. A espectinomicina não é efetiva nesses casos. Isso pode significar que muitas infecções não são completamente tratadas permitindo o crescimento do gonococo na faringe em presença de níveis decrescentes de agentes antimicrobianos (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

Alguns investigadores demonstraram que a eficácia do tratamento da gonorreia faríngea pode ser aumentada com a utilização de mais de um tipo de antimicrobiano ou mais do que uma dose de cefalosporina. A presença de infecção concomitante por clamídia da faringe é incomum, no entanto, porque a co-infecção ocorre frequentemente, é recomendado o tratamento para ambos, gonorreia e clamídia.

### **2.10.3 Conjuntivite gonocócica**

Existem poucos estudos sobre a efetividade do tratamento de conjuntivite gonocócica em adultos. O Centro de Controle de Doenças dos Estados Unidos da América recomenda o tratamento com 1g de ceftriaxona IM, dose única; enquanto a Organização Mundial de Saúde com ceftriaxona, 125 mg IM; ou espectinomicina 2 g IM, ou ciprofloxacina 500 mg VO, em dose única (OMS, 2005; CDC, 2011).

### **2.10.4 Oftalmia neonatal**

Precisa ser tratada imediatamente para prevenir o dano ocular. Pode ser um marcador da infecção neonatal generalizada. A antibioticoterapia tópica apenas é inadequada, sendo

necessária a administração de tratamento sistêmico. Recomenda-se ceftriaxona 25 a 50 mg /kg (IM) ou por via endovenosa (IV) em dose única, até o máximo de 125 mg, além de instilação local de solução fisiológica a cada hora. Estando disponível apenas o diagnóstico clínico, e em casos de resposta terapêutica insatisfatória, deve ser realizado tratamento também para clamídia (OMS, 2005; BRASIL, 2006; WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

Para prevenir a oftalmia gonocócica o Ministério da Saúde, em conformidade com a Organização Mundial de Saúde, preconiza a profilaxia com solução de nitrato de prata a 1%, ou colírio de eritromicina a 0,5%, ou de tetraciclina a 1%, em aplicação única, na primeira hora após o nascimento (OMS, 2005; BRASIL, 2006).

### **2.10.5 Tratamento de Infecção gonocócica disseminada**

Os pacientes com infecção gonocócica disseminada devem ser tratados inicialmente com ceftriaxona 1g, IV ou IM, diariamente; constituindo-se como alternativa outras cefalosporinas da terceira geração (IV), de 8 em 8 horas, por 10 a 14 dias (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

A Organização Mundial da Saúde preconiza como alternativa a utilização de espectinomicina 2 g (IM), duas vezes ao dia durante 7 dias. Para endocardite prolongar a terapia por até 4 semanas (OMS, 2005).

No caso de neonatos deve-se utilizar ceftriaxona 25-50mg/kg (IV) ou (IM) não excedendo 125mg, uma vez ao dia por pelo menos 7dias (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

## **2.11 Abordagem sindrômica das Doenças Sexualmente Transmissíveis**

O diagnóstico etiológico das doenças sexualmente transmissíveis, com utilização de testes laboratoriais é o método ideal, já que permite conhecer o agente causal de determinada doença e indicar o tratamento mais adequado. No entanto, o diagnóstico etiológico é, em muitas circunstâncias, problemático especialmente nos países em desenvolvimento, por ser dispendioso, requerer técnicos especializados, e equipamentos sofisticados de laboratório, nem sempre disponíveis.

Para minimizar esse problema, a OMS tem orientado a utilização de abordagem baseada em síndromes para tratar os pacientes de doenças sexualmente transmissíveis. A abordagem de tratamento sindrômico se baseia na identificação de síndromes, grupos

definidos de sintomas e de sinais, facilmente reconhecidos, bem como na prestação de um tratamento que abordará a maioria dos organismos responsáveis pelo aparecimento de uma síndrome, ou os de maior repercussão. A partir de fluxogramas específicos, já desenvolvidos e validados, o médico treinado, ainda que não especialista, estará habilitado a determinar o diagnóstico sindrômico e recomendar o seu tratamento imediato (PENNA *et al.*, 2000; OMS, 2008).

A partir da queixa de corrimento uretral o paciente é examinado e o tratamento aplicado de acordo com o fluxograma de corrimentos uretrais, sendo tratado para gonorreia e clamídia, na impossibilidade de realização de bacterioscopia. No caso das mulheres é utilizado o fluxograma de corrimento vaginal e cervicite, e o de dor pélvica. São avaliados também os critérios de risco para infecção cervical como parceiro com sintomatologia, multiplicidade de parceiros sem uso de proteção, paciente que acredita ter se exposto à doença sexualmente transmissível, ou que provenha de áreas de alta prevalência de gonococo e clamídia. Além de receber aconselhamento, são oferecidos exames complementares como a sorologia para sífilis (VDRL), HIV, e hepatites B e C; e o(s) parceiro(s) são convocado(s) (BRASIL, 2006). O tratamento sindrômico provou ser válido, viável, simples e de muito boa relação custo-eficácia, e propiciou o tratamento adequado de grande número de infectados (PENNA *et al.*, 2000; OMS, 2005; BRASIL, 2006; OMS, 2008).

## **2.12 Prevenção e controle**

Os poucos dados epidemiológicos disponíveis, quando conjugados às informações geradas em outros países, permitem a realização de estimativas que concluem pela elevada frequência de gonorreia no Brasil. Esse grave problema de saúde pública se torna ainda mais preocupante quando associado ao alto índice de automedicação, já que muitos dos pacientes não recebem a orientação e tratamento adequados, permanecendo com manifestações subclínicas, transmissores, e mantendo-se como elos fundamentais na cadeia de transmissão da doença (PENNA *et al.*, 2000).

Constituem princípios básicos para o controle da gonorreia, interromper a cadeia de transmissão, pela detecção precoce dos casos e tratamento adequado, e oportunamente, também de seus parceiros. Além de, prevenir novas ocorrências, por meio de aconselhamento específico, durante o qual as orientações sejam discutidas conjuntamente com o paciente, favorecendo a compreensão e o seguimento das prescrições médicas, contribuindo para a adoção de práticas sexuais mais seguras.

A profilaxia individual comprovadamente mais eficaz é obtida pela utilização de preservativos, de forma adequada, em todas as relações sexuais. A promoção e distribuição de preservativos deve ser função de todos os serviços que prestam assistência às doenças sexualmente transmissíveis (PASSOS *et al.*, 1995).

O controle da gonorreia é possível, desde que existam bons programas preventivos de saúde pública e uma rede de serviços básicos resolutivos, ou seja, unidades de saúde acessíveis para pronto atendimento, com profissionais preparados, e que tenham a garantia de um fluxo contínuo de medicamentos e preservativos. O atendimento deve tentar prover, em uma única consulta: diagnóstico, tratamento, e aconselhamento adequados. Deve-se sempre enfatizar a associação existente entre gonorreia, outras doenças sexualmente transmissíveis e a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. Devem ser oferecidos exames laboratoriais. Alguns países preconizam que o paciente seja retestado para gonorreia três meses após o tratamento, devido a reinfeção ser comum (GAIL *et al.*, 2012).

Programas de prevenção e controle de doenças sexualmente transmissíveis foram essenciais para redução substancial das taxas de gonorreia nos Estados Unidos da América ao longo dos últimos 30 anos. Uma estratégia de prevenção global integrada deve incluir valorização dos sistemas de vigilância nacional e internacional, para monitorar a resistência antimicrobiana emergente a nível global e novas estratégias para maximizar o benefício e prolongar a utilização de antimicrobianos, incluindo associação antimicrobiana. Acompanhado da implantação de recomendações de rastreio para indivíduos em alto risco de infecção. Deve ser dispensada especial atenção ao tratamento eficaz das infecções da faringe. Além disso, é recomendável aumentar a vigilância de falha de tratamento para identificar a resistência emergente a cefalosporina. Pacientes que retornam com sintomatologia devem ser retestados com realização de cultura e teste de sensibilidade a antimicrobianos (WORKOWSKI *et al.*, 2008; DEGUCHI *et al.*, 2010).

Alguns países desenvolvidos preconizam a triagem para gonorreia e clamídia em mulheres em alto risco de doença inflamatória pélvica e HSH, através de testes de amplificação de ácidos nucleicos (NAATs), como medida de prevenção e controle dessas doenças, visando detectar reservatórios da infecção. Nos Estados Unidos da América, é recomendado o rastreamento de mulheres sexualmente ativas com idade inferior a 25 anos, passado de gonorreia ou outras doenças sexualmente transmissíveis, parceiros sexuais novos ou múltiplos, uso infrequente de preservativos, profissionais do sexo, e relato de uso de drogas. A triagem da infecção de faringe de rotina é recomendada para HSH (WORKOWSKI *et al.*, 2008; DEGUCHI *et al.*, 2010).



É necessário monitorar a susceptibilidade antimicrobiana, mantendo laboratórios locais e regionais capacitados para realização de cultura e teste de sensibilidade aos antimicrobianos, ou desenvolver parcerias com laboratórios experientes que podem realizar os testes. Por outro lado, o desenvolvimento de testes moleculares capazes de detectar sequências genéticas responsáveis por mecanismos de resistência, em especial às cefalosporinas de espectro estendido, poderá representar avanço no controle, principalmente em países desenvolvidos (WORKOWSKI *et al.*, 2008; DEGUCHI *et al.*, 2010; WHO, 2011).

Aumentar o controle sobre o acesso a antimicrobianos, e garantir a sua qualidade é fundamental para o controle da resistência. Acesso irrestrito aos antimicrobianos, seleção inadequada e qualidade subótima contribuem para o crescimento da resistência dos gonococos aos antimicrobianos (WHO,2011). Embora exista legislação específica no Brasil, os antimicrobianos ainda são obtidos sem a devida prescrição médica. É fundamental a investigação e identificação de novos tratamentos alternativos eficazes para as infecções gonocócicas (WHO, 2011).

Até o momento não há vacina eficaz contra a infecção gonocócica. Tentou-se produzi-la a partir de antígenos do *pili*, porém não se obteve índice de proteção aceitável. A extraordinária variabilidade antigênica no *pili*, *Opa*, e LOS durante o curso de cada infecção constitui barreira para desenvolvimento de vacina baseada nesses antígenos. Têm-se investigado outras proteínas, como porina, como possíveis candidatas, mas o êxito ainda parece distante (SANTOS; SIQUEIRA, 2005; HANDSFIELD; SPARLING, 2009).

### 3 JUSTIFICATIVA

A obtenção de tratamento adequado requer que seja conhecida a sensibilidade dos microrganismos aos antimicrobianos, entretanto, pouco se sabe sobre este comportamento da *N. gonorrhoeae* no Brasil. O tratamento da gonorreia é realizado de forma empírica, baseado na experiência clínica, em dados de resistência obtidos de outros centros e de padronizações internacionais, desconhecendo-se sobre sua real eficiência no Brasil e em Belo Horizonte. Acresce a essa situação o fato de que são frequentes as associações entre diferentes doenças sexualmente transmissíveis, e o tratamento eficaz de cada uma delas é essencial para que se obtenha a redução da sua transmissão, o que influencia também a veiculação do vírus da imunodeficiência humana.

Por isso justificam-se a realização de estudos que permitam ampliar o conhecimento sobre a infecção gonocócica em cada região, com o pressuposto de subsidiar informações para a formulação de políticas públicas, visando sua prevenção e controle.

## 4 OBJETIVOS

### 4.1 Geral:

Conhecer a susceptibilidade a antimicrobianos da *Neisseria gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos no Serviço de DST/SAE, da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul, da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte, no período de março de 2011 a fevereiro de 2012;

### 4.2 Específicos:

4.2.1 Determinar a frequência de infecções cervicais e uretrais por *N.gonorrhoeae* nos pacientes atendidos na unidade de referência;

4.2.2 Descrever a população atendida no Serviço de DST com diagnóstico laboratorial positivo para *N. gonorrhoeae*, em relação às suas características sócio-demográficas, número de parceiros sexuais, passado de doença sexualmente transmissível e uso de preservativos;

4.2.3 Avaliar a ocorrência de sazonalidade e de coinfeções com outras DST, incluindo a síndrome de imunodeficiência adquirida, nos pacientes com diagnóstico compatível com infecção cervical e/ou uretral por *N. gonorrhoeae*;

4.2.4 Determinar e avaliar os níveis de sensibilidade, sensibilidade reduzida e resistência de cepas de *N.gonorrhoeae* a antimicrobianos padronizados e de uso na rotina da unidade de referência de DST;

4.2.5 Comparar os resultados obtidos entre as metodologias difusão em disco e Etest.

## 5 CASUÍSTICA, MATERIAL E MÉTODOS

### 5.1 Delineamento do estudo

Este é um estudo observacional descritivo e transversal, em que foram incluídos todos os pacientes que procuraram atendimento no serviço de DST durante um ano.

### 5.2 Local do estudo

O trabalho foi desenvolvido no Serviço de Doenças Sexualmente Transmissíveis e infectologia (DST/SAE) da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul (URS-CS), pertencente à Secretaria Municipal de Saúde (SMSA) de Belo Horizonte (ANEXO A). Este centro de atendimento clínico é referência no atendimento à DST para a região metropolitana de Belo Horizonte e responsável pela maioria desses atendimentos. Dispõe de equipe multiprofissional experiente e exclusiva para o atendimento a DST, além de infraestrutura laboratorial. A maioria dos atendimentos na unidade de saúde (95%) corresponde a pacientes que espontaneamente buscam atenção por queixas genitais, e parcela inferior (5%) a pacientes referenciados das unidades básicas de saúde.

Os pacientes foram recrutados na URS-CS, onde foram coletadas as amostras biológicas para análise laboratorial, e obtidos os dados referentes aos prontuários médicos.

Os exames laboratoriais, que fazem parte da rotina de atendimento, foram realizados no Laboratório de Doenças Sexualmente Transmissíveis da URS-CS e no Laboratório Central da PBH. Assim como o isolamento das cepas de *Neisseria gonorrhoeae* e a triagem inicial.

Os testes de sensibilidade a antimicrobianos, determinação da concentração inibitória mínima (CIM), e identificação confirmatória da espécie bacteriana foram realizados no Laboratório de Análises Clínicas do Hospital João XXIII da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais (HJXXIII/FHEMIG), no setor de microbiologia. O laboratório de microbiologia do HJXXIII possui estrutura adequada a realização de exames microbiológicos de maior complexidade. Mantém programa de controle de qualidade interno e participa do ControlLab, controle de qualidade externo.

### 5.3 Aspectos éticos

A pesquisa foi registrada no Sistema Nacional de Informação sobre Ética em Pesquisa (SISNEP) e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte (CEP-SMSA/PBH) sob número CAAE - 0031.0. 410.203 -10 (ANEXO B), e pelo Comitê de Ética em Pesquisa (COEP) da UFMG (ANEXO C), em 2011.

Todos os pacientes incluídos no estudo foram convidados a participar e orientados sobre as avaliações às quais se submeteriam. Receberam informações orais e escritas, por intermédio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) sobre o objetivo, importância, sigilo, riscos e benefícios da pesquisa, sobre sua participação voluntária e o direito de desistir de participar do estudo a qualquer momento, sem perda de quaisquer de seus benefícios (APÊNDICE A e B).

A identidade dos pacientes ou qualquer informação que os possa discriminar foram preservadas, utilizando-se, para este fim, de um número de registro próprio da pesquisa.

### 5.4 Casuística

Foram arrolados consecutivamente todos os pacientes que procuram atendimento no serviço de referência em DST/SAE da URS-CS/SMSA-PBH, no período de março de 2011 a fevereiro de 2012, e preencheram os critérios de inclusão (**Figura 6**).

### 5.5 Elegibilidade

Foram incluídos no estudo pacientes que apresentavam sinais e sintomas clínicos sugestivos de infecção gonocócica, e que concordaram em participar do estudo:

- a) Homens com sintomatologia de uretrite;
- b) Mulheres com sintomatologia de cervicite ou em primeira consulta;

Foram excluídos do estudo pacientes que se enquadram nas seguintes situações:

- a) Encontravam-se em uso de antimicrobianos sistêmicos ou qualquer medicação vaginal há menos de 7 dias;
- b) Tiveram o diagnóstico clínico de uretrite ou cervicite gonocócica descartados por técnicas laboratoriais padronizadas;

c) As amostras coletadas não apresentaram crescimento de *Neisseria gonorrhoeae* em meio seletivo Thayer Martin, ou apresentaram crescimento, porém as cepas se tornaram inviáveis para a realização dos testes de sensibilidade a antimicrobianos;

d) Não aceitaram participar e se negaram a assinar o TCLE.

## 5.6 Método

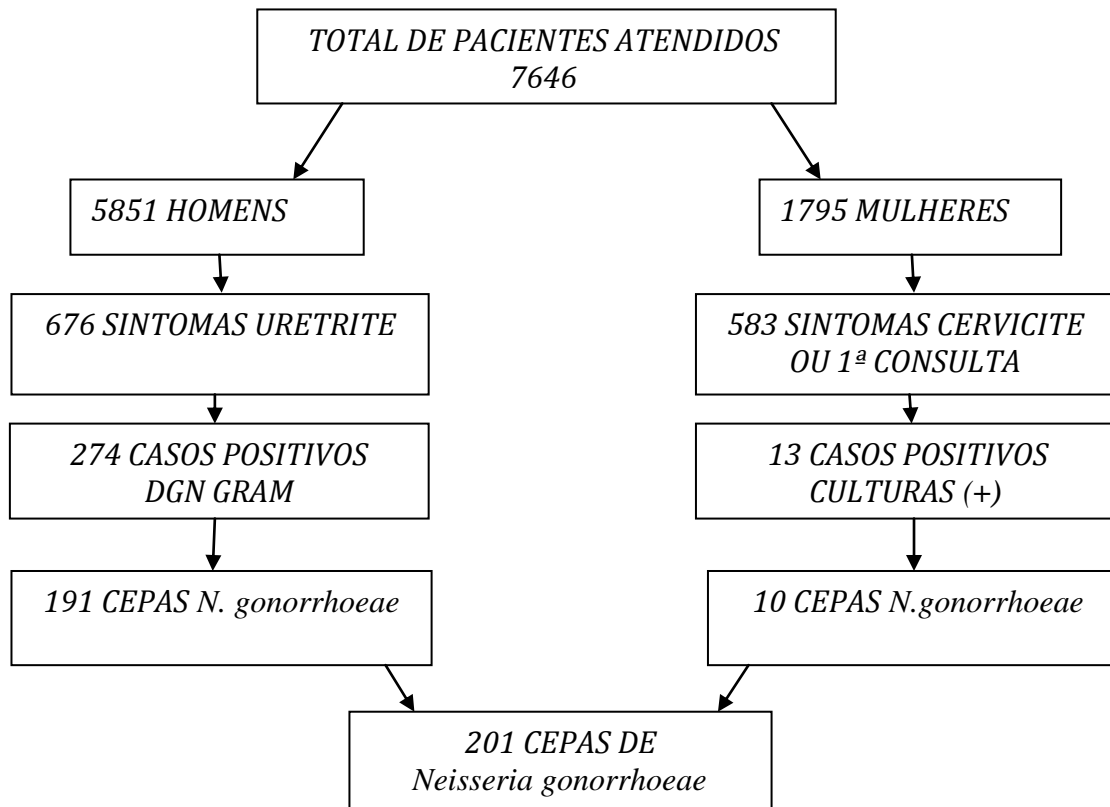
Os pacientes foram atendidos segundo a rotina do serviço de saúde (ANEXO D). Submetidos ao exame clínico ou realização da pré-consulta de enfermagem, e oferecidos os testes sorológicos para sífilis, hepatites B e C, e HIV. Todos os pacientes com diagnóstico laboratorial positivo tiveram acesso a procedimentos terapêuticos próprios para cada situação e receberam convites para que seus parceiros sexuais comparecessem ao setor.

Os pacientes elegíveis foram encaminhados para o estudo, pelo médico assistente ou enfermeira do serviço de DST. Mediante consentimento e assinatura do TCLE, foram submetidos a um questionário (APÊNDICE C) e realizada a coleta das amostras. As entrevistas foram coordenadas e supervisionadas pela pesquisadora responsável, a coleta de amostras foi supervisionada pelas bioquímicas do Laboratório de DST.

Realizou-se pesquisa de dados complementares nos prontuários dos pacientes, tais como endereço, presença de outras DST ou histórico anterior, tratamento prescrito pelo médico e comparecimento ao retorno.

Para verificação da frequência de gonorreia no serviço foram utilizados dados laboratoriais de todos os pacientes que procuraram o serviço de referência no período, homens sintomáticos, que realizaram coleta de secreção uretral e apresentaram bacterioscopia positiva para *Neisseria gonorrhoea* e mulheres sintomáticas ou em primeira consulta, que realizaram coleta de amostras cervico-vaginais e apresentaram cultura positiva para *Neisseria gonorrhoeae*.

Foram obtidas 201 amostras de *Neisseria gonorrhoea*, que permaneceram viáveis para a realização das análises propostas, isoladas de 200 pacientes elegíveis, de ambos os sexos, conforme o fluxograma de seleção da amostra (**Figura 6**).

**Figura 6 - Fluxograma de seleção da amostra**

### 5.6.1 Coleta de amostras clínicas

#### 5.6.1.1 Coleta em pacientes do sexo feminino

Foi realizada coleta de secreção endocervical pelo médico assistente, no próprio consultório. Após introdução do espéculo e limpeza do colo do útero com gaze estéril foi introduzido o *swab* alginatado cerca de 1 centímetro no canal endocervical, girando-o delicadamente para absorver a secreção. O *swab* foi retirado evitando tocar as paredes vaginais. As amostras foram inoculadas diretamente em meio de cultivo seletivo TM modificado.

#### 5.6.1.2 Coleta em pacientes do sexo masculino

A coleta da secreção uretral foi realizada no Laboratório de DST. O paciente foi orientado a aguardar no mínimo três horas após a última micção. Foi utilizado para coleta *swab* uretral alginatado. O material clínico foi colhido da fossa navicular uretral girando

delicadamente o *swab* para absorção da secreção, depois de removida a secreção emergente. As amostras foram inoculadas diretamente em meio seletivo TM.

Foram preparados esfregaços finos e homogêneos a partir das amostras clínicas. Assegurou-se de que os meios de cultura estivessem à temperatura ambiente no momento da coleta das amostras. O inóculo foi realizado, com o próprio *swab* da coleta, girando-o delicadamente na superfície da placa de Petri, descrevendo uma estria em forma de “Z”. Os meios inoculados foram enviados imediatamente ao Laboratório de DST, para garantir o crescimento da *Neisseria gonorrhoeae*.

Todos os procedimentos de coleta foram baseados no Manual de Coleta de Secreções do Ministério da Saúde / TELELAB e Van Dyck e colaboradores (VAN DYCK *et al.*, 1999; BRASIL, 2011c). Foram utilizados equipamentos de proteção individual (EPI), e observadas normas de biossegurança durante a coleta e manuseio das amostras.

#### 5.6.1.3 Coleta de amostras para exames de rotina

Procedeu-se a coleta das demais amostras, para a realização de exames de rotina, tais como fluido de saco vaginal, secreção de lesões genitais (quando existentes), sangue e outras, da forma habitual.

### 5.6.2 Cultura para *Neisseria gonorrhoeae*

#### 5.6.2.1 Controle de qualidade

Foi realizado controle de qualidade de todo o processo, utilizando a cepa de referência de *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 49226 (*American Type Culture Collection*), gentilmente cedida pelo professor Sérgio Eduardo Longo Fracalanza, da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Foram utilizados meios de cultura de alta qualidade, registrados no MS e que possuíam certificados de controle de qualidade fornecidos pelos fabricantes. Adicionalmente foram testados quanto à esterilidade e crescimento. Realizou-se controle de qualidade também dos discos de antimicrobianos, fitas de Etest (Biomérieux®), reagentes e corantes utilizados. Como parâmetros de referência para disco-difusão foi utilizada a Tabela 3B e para Concentração Inibitória Mínima (CIM) a Tabela 4C, do documento M100-S22 do CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE-CLSI (CLSI, 2012).

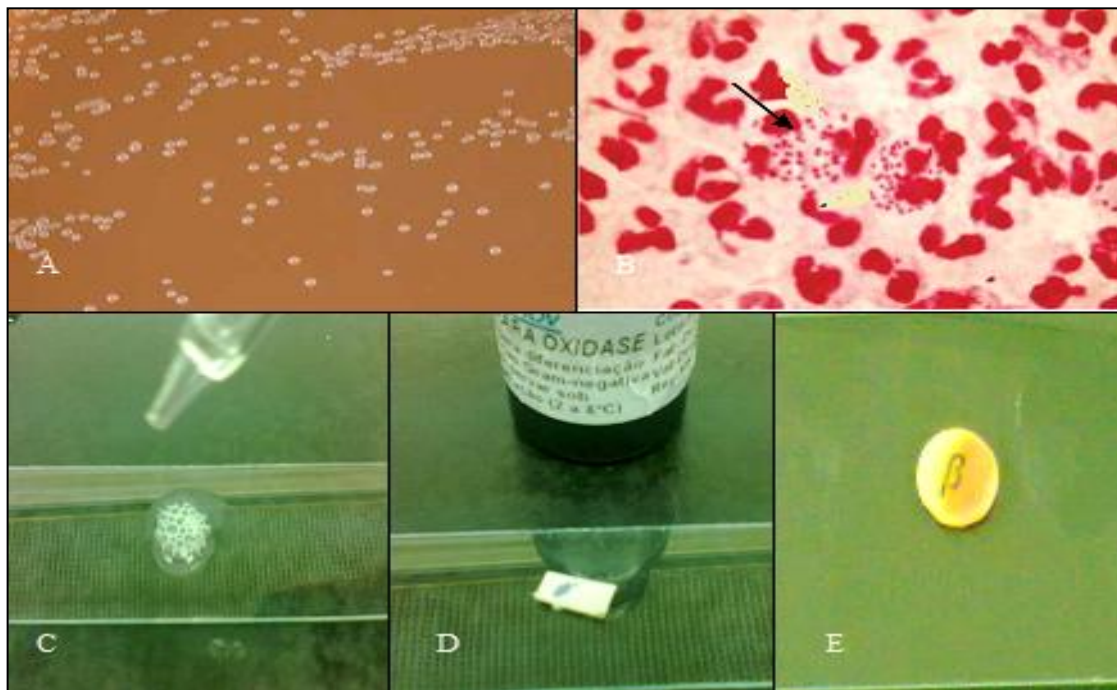


### 5.6.2.2 Isolamento e identificação das cepas

As placas de TM (Polyvitex/VCAT3-Biomérieux®), inoculadas no momento da coleta, foram re-estriadas para permitir o isolamento adequado das colônias de gonococo. Imediatamente foram incubadas invertidas em jarra de anaerobiose, à temperatura de 35,5° a 36,5° C, atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub> e umidade adequada, por até 72 horas (EVANGELISTA; BEILSTEIN,1993; KNAPP; KOUMANN, 1999; BRASIL, 2011d).

Após o período de incubação, a superfície do meio de cultivo foi examinada para identificação de colônias morfológicamente sugestivas de *Neisseria gonorrhoeae*. Foi realizada triagem destas colônias para identificação presuntiva do gênero, por meio de bacterioscopia pelo Gram, prova da catalase, e prova da oxidase (Figura 7- A, B,C e D) (OMS;CDC, 2004; KNAPP, 2004)

**Figura 7 - Identificação presuntiva das cepas de *Neisseria gonorrhoea* e pesquisa de  $\beta$ -lactamase.**  
**A - Morfologia típica da colônia; B - Bacterioscopia corada pelo Gram demonstrando diplococos Gram negativos; C - Reação de catalase positiva; D - Reação de oxidase positiva; E - Pesquisa de  $\beta$ -lactamase positiva.**



Fonte: arquivo pessoal.

Preparou-se esfregaço da colônia, que foi corado pelo método de Gram e examinado ao microscópio. Quando visualizados diplococos Gram negativos foram realizadas as provas da

catalase e oxidase. A *Neisseria gonorrhoeae* apresenta reação de catalase e oxidase positivas, indicando produção dessas enzimas.

Para a pesquisa de catalase as colônias foram aplicadas na superfície de uma lâmina, e em seguida adicionadas gotas de peróxido de hidrogênio a 10 Volumes. A reação de catalase detecta a enzima peroxidase, capaz de degradar o peróxido de hidrogênio. Nas reações positivas ocorreu desprendimento de bolhas.

Na detecção da produção da citocromo-oxidase foram utilizadas fitas comerciais, contendo p-fenilenodiamina (Laborclin®). As colônias foram aplicadas na superfície da fita reagente. A rápida viragem da fita para azul indicou reações positivas.

A identificação confirmatória da espécie foi realizada no sistema automatizado VITEK®2 (Biomérieux), utilizando o cartão NH ref.21346. O cartão NH fornece 30 provas bioquímicas enzimáticas capazes de identificar a espécie bacteriana. Para cada isolado, identificado presuntivamente, foi realizado subcultivo em ágar chocolate suplementado (Chocolate Agar/ Polyvitex-Biomérieux®). Foi preparada suspensão da bactéria em solução salina (Biomérieux®) e a concentração do inóculo medida no turbidímetro do equipamento (Densichek) de acordo com o fabricante. O cartão NH foi acoplado ao tubo contendo a suspensão bacteriana e o conjunto inserido no equipamento VITEK®2, para que fosse inoculado e ocorresse a leitura das provas bioquímicas, após um período de incubação de seis horas em média (Figura 8).

#### 5.6.2.3 Pesquisa da $\beta$ -lactamase

Todas as amostras previamente identificadas como *Neisseria gonorrhoeae* foram submetidas à pesquisa de  $\beta$ -lactamase. Para a detecção da enzima foi utilizado o método da cefalosporina cromogênica, usando discos de Nitrocefina (Cefinase Paper Disc/BBL®). A cefalosporina cromogênica é um antibiótico  $\beta$ -lactâmico, semelhante à penicilina. A presença de  $\beta$ -lactamase promove hidrólise do anel  $\beta$ -lactâmico da cefalosporina, e formação de ácido, que é responsável pelo desenvolvimento da coloração vermelha. A colônia a ser testada foi depositada na superfície do disco de cefalosporina cromogênica, e ocorrendo reação positiva, foi classificada como produtora de  $\beta$ -lactamase (Figura 7-E).

**Figura 8 - Identificação confirmatória da espécie de *Neisseria gonorrhoea* no equipamento VITEK®2. A- Equipamento VITEK®2; B- Leitura da turbidez do inóculo no Densichek; C- Cartão de identificação NH sendo acoplado à suspensão bacteriana padronizada; D- Cartão sendo inserido no equipamento.**

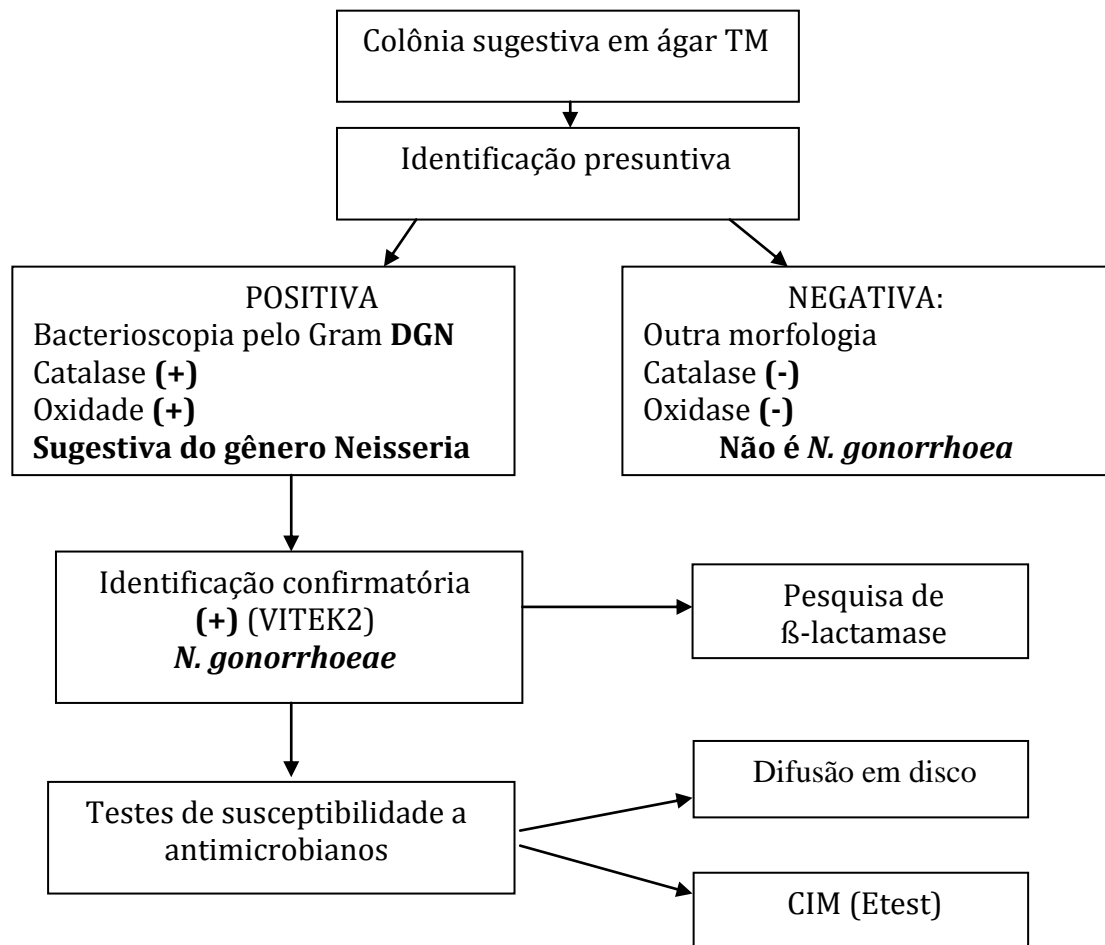


Fonte: arquivo pessoal.

Foi preparada uma suspensão espessa das bactérias em criotubo com caldo tripticase soja (TSB) com 15% de glicerol (Plastilabor®). As cepas foram estocadas em freezer -80°C, para serem utilizadas para confirmação das análises, em caso de necessidade.

A representação esquemática do isolamento, identificação e testes de sensibilidade a antimicrobianos pode ser visualizada no fluxograma abaixo (Figura 9).

**Figura 9 - Fluxograma da cultura para *Neisseria gonorrhoeae***



### 5.6.3 Teste de susceptibilidade a antimicrobianos

Foi determinada a susceptibilidade e a concentração inibitória mínima (CIM) para os seguintes antimicrobianos: azitromicina, cefixima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina e espectinomicina.

A susceptibilidade foi determinada pelas metodologias de difusão em disco, e por Etest. A CIM foi determinada utilizando o sistema quantitativo do gradiente de antimicrobiano em tiras, Etest (Etest®Biomérieux).

Optou-se por realizar a determinação da CIM utilizando Etest por se tratar de metodologia comparável à referencial, isto é, diluição em ágar, porém de menor complexidade e custo, factível de realização em laboratório clínico e recomendada pela OMS, para ser realizada em países em desenvolvimento (VAN DYCK *et al.*, 1994; BIEDENBACH; JONES, 1996; MEHAFFEY *et al.*, 1996; CDC, 2005; UMENO *et al.*, 2009).

As provas de susceptibilidade a antimicrobianos foram realizadas em meio de cultura padronizado, ágar GC suplementado com IsoVitalex (BBL®) a 1% (Ágar GC com Vitox 1%/PlastiLabor®), com utilização de placas de 150 mm de diâmetro. O suplemento adicionado ao ágar base GC foi constituído por L-cisteína, guanina HCL, tiamina HCL, PABA, B12, cocarboxilase, NAD, adenina, L-glutamina, glicose e nitrato férrico. Foram utilizados discos de antimicrobianos de alta qualidade (Oxoid®), certificados pelo MS e ISO. Os testes foram realizados de acordo com a metodologia do CLSI e CDC (CDC, 2005; CLSI, 2009, CLSI, 2012).

#### 5.6.3.1 Método de difusão em disco

##### a) Inóculo

Foi preparado a partir de colônias de gonococo recentemente isoladas em ágar chocolate suplementado, incubadas a 35,5° a 36,5°C, durante 16 a 20 h. Foi utilizado o processo de suspensão direta de colônias. A suspensão foi preparada em solução de cloreto de sódio a 0,9%, utilizando *swab* para minimizar a formação de grumos. Esta foi ajustada em turbidímetro para 0,5 da escala de McFarland, sendo utilizada dentro de no máximo 15 minutos após o preparo.

##### b) Realização do teste

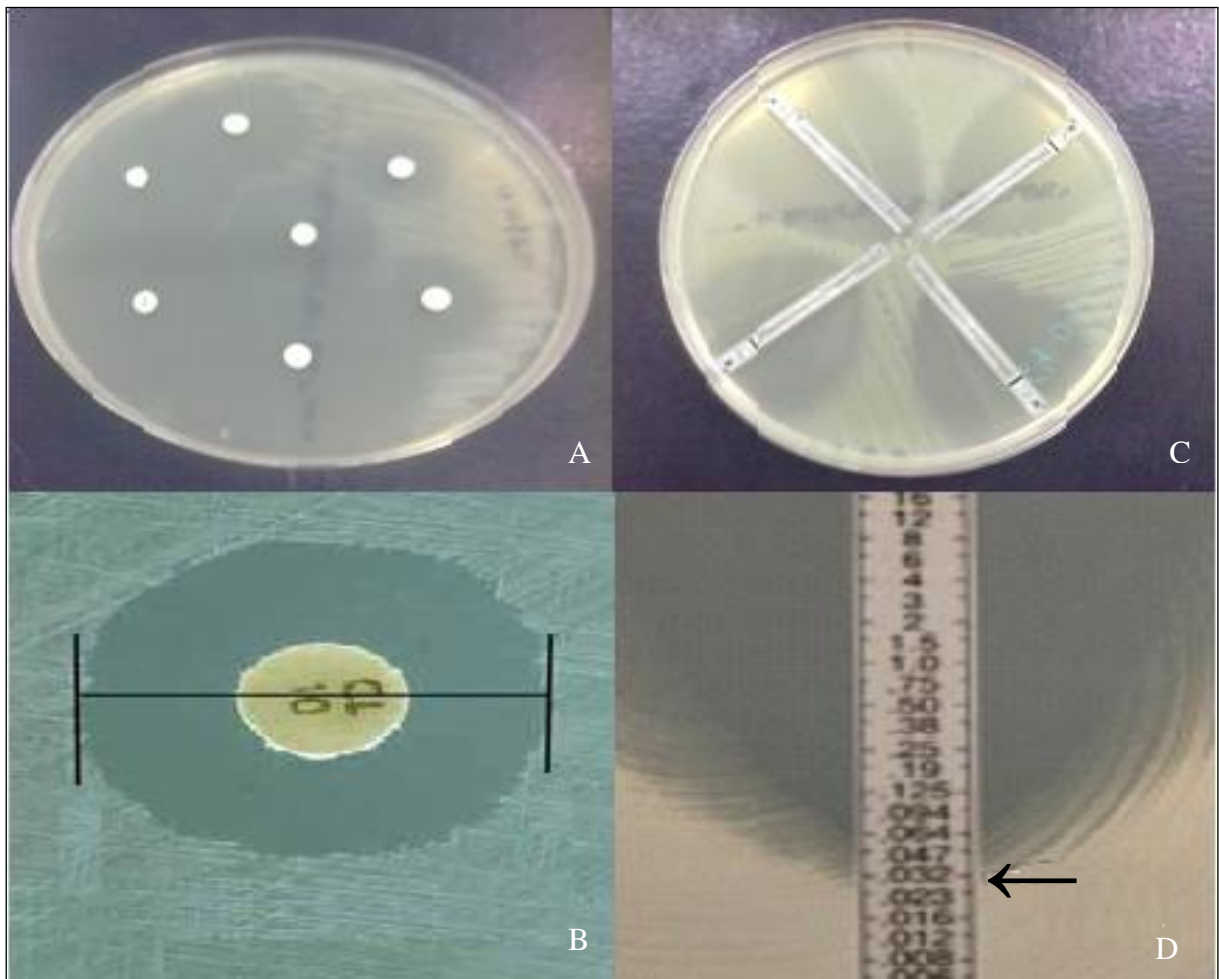
As placas de ágar GC se encontravam a temperatura ambiente, e foram inspecionadas quando à umidade excessiva na superfície e existência de contaminação, antes de serem inoculadas. Os discos de antimicrobianos utilizados (Oxoid®) estavam à temperatura ambiente no momento do uso.

Utilizando um *swab* estéril aplicou-se uniformemente a suspensão bacteriana na placa, inoculando completamente sua superfície em três direções diferentes, para garantir um crescimento uniforme e conflente. As placas inoculadas ficaram à temperatura ambiente durante aproximadamente 5 minutos até a absorção completa do inóculo.

Os discos de antimicrobianos foram aplicados na superfície do meio GC, com auxílio de uma pinça estéril. Foram pressionados delicadamente com a ponta da pinça, para evitar que se soltassem. Tomou-se o cuidado de manter distância equivalente a partir da borda da placa e de um disco para o outro, para evitar que as zonas de inibição se sobrepusessem. Após 5 minutos, as placas foram incubadas invertidas em 35,5° a 36,5°C, e atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>.

A leitura dos testes foi realizada após 20 a 24 horas de incubação. As placas foram examinadas contra um fundo negro, utilizando luz refletida e o diâmetro de cada zona de inibição medido com halômetro (Figura 10-A e B).

**Figura 10** - Testes de susceptibilidade a antimicrobianos. A- Difusão em disco; B- Etest; C- Leitura do halo de inibição; D- Leitura do Etest.



Fonte: arquivo pessoal.

#### 5.6.3.2 Método do gradiente de antimicrobiano em tiras - Etest:

A tira de Etest é impregnada com um gradiente padronizado de concentrações, correspondente a 15 diluições do agente antimicrobiano, tendo a sua frente uma escala com os valores de CIM ( $\mu\text{g/mL}$ ). Após a incubação forma-se uma elipse de inibição. O ponto de interseção da elipse com a tira corresponde ao valor de CIM, que é lido diretamente na escala.

##### a) Inóculo

O preparo do inóculo foi realizado a partir de amostras puras em ágar chocolate suplementado, incubadas a  $35,5^{\circ}\text{C}$  a  $36,5^{\circ}\text{C}$ , durante 16 a 20 h. Foi preparada suspensão bacteriana em solução de cloreto de sódio a 0,9%. Esta foi ajustada em turbidímetro para 0,5 da escala de McFarland, sendo utilizada dentro de no máximo 15 minutos após o preparo.

## b) Realização do teste

As tiras de Etest foram retiradas do freezer cerca de 30 minutos antes da realização do teste. A suspensão bacteriana foi inoculada no ágar GC da mesma maneira descrita na técnica de disco-difusão, de forma a permitir crescimento confluyente.

Após absorção do inóculo, as tiras de Etest foram aplicadas na superfície do ágar com a escala de CIM voltada para cima, em um padrão radial com a concentração mais baixa do agente para o centro da placa e da concentração mais elevada do agente para a borda da placa. Foram aplicadas quatro tiras de Etest em cada placa, para evitar sobreposição dos halos de inibição e interferência na leitura (Figura10-C). A placa foi incubada invertida, de 35,5° a 36,5°C, em atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, por 20 a 24 horas.

Foi realizada a leitura da CIM, observando em cada fita o valor correspondente à interseção das zonas de elipse com a escala numérica (Figura10-D). A leitura foi realizada de acordo com as orientações do fabricante, levando-se em conta as características do antimicrobiano testado (CDC, 2005).

**Tabela 1 - Interpretação dos halos de inibição e CIM segundo CLSI 2012**

<i>Antimicrobiano</i>	<i>Diâmetro do halo (mm)</i>			<i>CIM (µg/ml)</i>		
	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>	<b>S</b>	<b>I</b>	<b>R</b>
Azitromicina*	-	-	≤ 30	-	0,25 - 0,5	≥ 1
Cefixima	≥ 31	-	-	≤ 0,25	-	-
Ceftriaxona	≥ 35	-	-	≤ 0,25	-	-
Ciprofloxacina	≥ 41	28- 40	≤ 27	≤ 0,06	0,12 -0,5	≥ 1
Cloranfenicol*	-	-	-	≤ 0,5	-	≥ 2
Penicilina	≥ 47	27- 46	≤ 26	≤ 0,06	0,12 -1	≥ 2
Tetraciclina	≥ 38	31-37	≤ 30	≤ 0,25	0,5 -1	≥ 2
Espectinomicina	18	15-17	≤ 14	≤ 32	64	≥ 128

Legenda: S – Sensível

I – Intermediário

R – Resistente

\* Azitromicina de acordo com CDC; Cloranfenicol de acordo com Van Dick e colaboradores

Os pontos de corte (*breakpoints*) foram interpretados de acordo com os resultados dos halos (mm) obtidos e das CIM (µg/mL) obtidas, para cada antimicrobiano testado (**Tabela 1**),



de acordo com a Tabela 2F, do documento M100-S22 do CLSI. Para azitromicina e cloranfenicol foram utilizados os critérios do CDC e Van Dick e colaboradores, respectivamente (VAN DYCK *et al.*, 1999; CDC, 2005; CLSI, 2012).

### **5.7 Análise estatística**

A análise estatística foi realizada com o uso do software SPSS (*Statistical Package for Social Science for Windows*) versão 17.0, para a construção de tabelas, gráficos e testes de significância. Inicialmente a análise contou com uma descrição dos dados avaliados, em que para o item idade foi realizada estimativa de média e mediana (dependendo da suposição de normalidade), assim como medidas de variabilidade. Já as variáveis qualitativas (sexo, parceiro fixo, DST anterior, cura clínica, uso de preservativos, número de parceiros sexuais, escolaridade, renda, perfil de susceptibilidade) foram analisadas sob forma de proporções.

Para avaliação da concordância entre as metodologias utilizadas, difusão em disco e Etest, foi realizado o teste de concordância  $\tau$  de Kendall. Para as variáveis em que, não eram disponíveis todos os pontos de corte, pelo método de difusão em disco, optou-se por realizar o teste de correlação de Kendall, com os valores do halo e MIC. A significância utilizada para os testes em questão foi de 5%.



## 6 ARTIGO

**Estudo da susceptibilidade a antimicrobianos da *Neisseria gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos em um centro referencial público para doenças sexualmente transmissíveis de Belo Horizonte, Brasil**

**Antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from patients attending a public reference center for sexually transmitted diseases in Belo Horizonte, Brazil**

Lígia Maria Bedeschi Costa<sup>1,3,4</sup>, Ênio Roberto Pietra Pedroso<sup>1,2</sup>, Virgílio Vieira Neto<sup>3</sup>, Viviane Cata Preta Souza<sup>4</sup>, Maria Juliana Bastos Teixeira<sup>3,4</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e Medicina Tropical, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; <sup>2</sup> Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil. <sup>3</sup> Serviço de DST/SAE URS-CS/Secretaria Municipal da Saúde de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil; <sup>4</sup> Laboratório de Microbiologia Hospital João XXIII/Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

Endereço do autor para correspondência: [ligiabedeschi@yahoo.com.br](mailto:ligiabedeschi@yahoo.com.br)

### RESUMO

**Introdução:** Este estudo visou determinar a frequência da gonorreia e a susceptibilidade aos antimicrobianos da *Neisseria gonorrhoeae* isolada de pacientes atendidos no Serviço de Referência para atendimento de doenças sexualmente transmissíveis (DST) de Belo Horizonte, Brasil. **Métodos:** Entre março de 2011 e fevereiro de 2012 foram obtidos, de modo consecutivo, 201 isolados de *N. gonorrhoeae*, de homens e mulheres com sintomatologia de uretrite e cervicite, respectivamente e mulheres em primeira consulta. As cepas foram testadas por difusão em disco e a concentração inibitória mínima determinada por Etest para azitromicina, cefixima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina e espectinomicina. **Resultados:** Foi observada sensibilidade de 100,0% dos isolados para cefixima, ceftriaxona e espectinomicina. A resistência observada foi de 4,5% (9/201); 21,4% (43/201); 11,9% (24/201); 22,4% (45/201); e 32,3% (65/201) à azitromicina; ciprofloxacina; cloranfenicol; penicilina e tetraciclina, respectivamente. Sensibilidade reduzida foi detectada em 17,9% (36/201); 4,0% (8/201); 16,9% (34/201); 71,1% (143/201) e 22,9% (46/201) à azitromicina; ciprofloxacina; cloranfenicol; penicilina e tetraciclina, respectivamente. Foram classificadas como resistência mediada por plasmídeos à penicilina (PPNG) 14,5% (29/201), e reesistência mediada por plasmídeos à tetraciclina (TRNG) 11,5% (23/201). **Conclusão:** Os

elevados percentuais de resistência detectados para penicilina, tetraciclina, ciprofloxacina e cloranfenicol os tornam inadequados ao tratamento de gonorreia na Unidade de Saúde, e possivelmente em Belo Horizonte. Os índices de resistência e sensibilidade reduzida recomendam cautela na utilização da azitromicina, além de enfatizarem a necessidade de se estabelecer mecanismos de vigilância da resistência a antimicrobianos para controle efetivo da gonorreia.

**PALAVRAS-CHAVE:** *Neisseria gonorrhoeae*, gonorreia, resistência a antimicrobianos, Etest, difusão em disco

## ABSTRACT

**Introduction:** This study aims to determine the frequency of gonorrhoea; and recognise the antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* screened from patients attending a public referral centre for sexually transmitted diseases and specialized care services (STD/SAE) in Belo Horizonte, Brazil. **Methods:** Between March 2011 and February 2012, 201 specimens of *Neisseria gonorrhoeae* were consecutively obtained from men with symptoms of urethritis and symptomatic women, or from their initial consultation. The strains were tested by disk diffusion and the minimum inhibitory concentration was determined by Etest of Azithromycin, Cefixime, Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, Penicillin, Tetracycline and Spectinomycin. **Results:** 100,0% sensitivity was observed in the specimens of Cefixime, Ceftriaxone and Spectinomycin. Resistance was observed of 4.5% (9/201); 21.4% (43/201); 11.9% (24/201); 22.4% (45/201); and 32.3% (65/201) in Azithromycin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, Penicillin and Tetracycline, respectively. Reduced Sensitivity was observed of 17.9% (36/201); 4.0% (8/201); 16.9% (34/201); 71.1% (143/201) and 22.9% (46/201) in Azithromycin, Ciprofloxacin, Chloramphenicol, Penicillin and Tetracycline, respectively. They were classified as plasmid-mediated resistance to penicillin (PPNG) 14.5% (29/201), and plasmid-mediated resistance to tetracycline (TRNG) 11,5 % (23/201). **Conclusion:** The high percentage of detected resistance to Penicillin, Tetracycline, Chloramphenicol, and Ciprofloxacin, makes them unsuitable for Gonorrhoea treatment at the Health Clinic, and possibly in Belo Horizonte. The indication of resistance and reduced sensitivity means caution is recommended in the use of Azithromycin, in addition to emphasizing the need to establish mechanisms for surveillance of antimicrobial resistance for effective control of Gonorrhoea.

## KEY WORDS:

*Neisseria gonorrhoeae*, gonorrhoea, antimicrobial susceptibility, Etest, disk diffusion

## INTRODUÇÃO

A gonorreia continua a ser grave problema de saúde pública, sendo a segunda infecção bacteriana sexualmente transmissível mais prevalente globalmente, com incidência anual de 106 milhões de casos novos<sup>1,2</sup>. A sua incidência é maior em países não desenvolvidos e em desenvolvimento, entretanto, continua inaceitavelmente alta em países desenvolvidos, especialmente em alguns subgrupos como as populações vulneráveis marginalizadas associadas à etnia ou orientação sexual<sup>3,4</sup>. Pode ocasionar graves complicações como epididimite, doença inflamatória pélvica, gravidez ectópica, infertilidade, e intensificar a transmissão e aquisição do vírus da imunodeficiência humana (HIV)<sup>2,5</sup>.

A *Neisseria gonorrhoeae* apresenta grande capacidade de desenvolver resistência a antimicrobianos, ocasionando perda progressiva de tratamentos eficazes e baratos e necessidade de utilização de medicamentos mais caros, inacessíveis em muitos países<sup>4</sup>. Constitui problema de expressiva gravidade atual o surgimento de cepas de *N. gonorrhoea* resistentes a múltiplos antimicrobianos incluindo penicilinas, tetraciclina, macrolídeos, espectinomicina e fluoroquinolonas. A emergência dessa resistência é seguida, em geral, por rápida difusão e elevada prevalência<sup>6,7</sup>. Nos últimos três anos, a resistência gonocócica às cefalosporinas de terceira geração, recomendadas como de primeira escolha para tratamento, emergiu rapidamente no Japão e em outros países. Constitui-se em situação epidemiológica que impede a cura e a prevenção de sequelas graves associadas à gonorreia<sup>8</sup>.

O controle da gonorreia constitui questão essencial em saúde pública, requerendo abordagem integrada em que é primordial o fornecimento de tratamento efetivo, para interromper a cadeia de transmissão, e reduzir suas complicações. O conhecimento dos padrões de sensibilidade locais da *N. gonorrhoeae* é essencial para se estabelecer a melhor forma de tratamento<sup>9,10</sup>. A infecção gonocócica exige vigilância da resistência contínua e de qualidade<sup>2,6</sup>, no entanto raros estudos sobre o tema têm sido realizados no Brasil. Este estudo permite ampliar o conhecimento sobre a resistência da *N. gonorrhoeae* em Belo Horizonte, Minas Gerais, e contribuir para a obtenção de dados epidemiológicos, que subsidiem a formulação de políticas de saúde de prevenção e controle e a padronização de tratamentos mais adequados e eficazes.

## MÉTODOS

Este é um estudo observacional descritivo e transversal, conduzido no Serviço de DST/SAE, da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul (URS-CS), da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte e no Laboratório de Microbiologia do Hospital João XXIII da Fundação Hospitalar do Estado de Minas Gerais.

Os isolados de *N.gonorrhoeae* foram obtidos de forma consecutiva de homens sintomáticos para uretrite e mulheres sintomáticas para cervicite ou em primeira consulta, que procuram o Serviço de DST/SAE, durante o período de março de 2011 a fevereiro de 2012. Perfizeram 232 isolados de *N. gonorrhoeae*, dos quais 201 se mantiveram viáveis para a realização das análises propostas.

Os pacientes elegíveis foram submetidos à coleta de material uretral ou endocervical, segundo a técnica apropriada<sup>11</sup>. Cultura e identificação dos isolados foi realizada de acordo com procedimentos padronizados<sup>12,13</sup>. O material coletado foi inoculado diretamente em

meio de cultura seletivo Thayer Martin modificado (Polyvitex/VCAT3-Biomérieux®), e incubado imediatamente a 35,5° a 36,5°C, atmosfera de 5% de CO<sub>2</sub>, por até 72 horas. Colônias morfológicamente sugestivas foram triadas pelo método de Gram, e pelas respostas positivas aos testes de oxidase e catalase. Em seguida, subcultivadas em ágar chocolate suplementado (Chocolate Polyvitex/Biomérieux®) e realizada a identificação comprobatória pelo sistema automatizado VITEK II® (NH - Biomérieux). A produção de β-lactamase foi testada pelo método da cefalosporina cromogênica (Cefinase Paper Disc- BBL®).

A susceptibilidade dos isolados de *N. gonorrhoea* a azitromicina, cefixima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina e espectinomicina foi testada por difusão em disco<sup>14,15</sup> e Etest<sup>16</sup> (Biomérieux®), com determinação da concentração inibitória mínima (CIM). Os testes foram realizados em ágar GC suplementado com 1% de fatores de crescimento (Ágar GC com Vitox 1%/PlastLabor®), de acordo com a metodologia do *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) e *Centers for Disease Control* (CDC)<sup>14,15,17</sup>. Foi preparado inóculo de turbidez 0,5 da escala Mc Farland, a partir de colônias de 24h de crescimento, por suspensão direta em solução estéril de NaCl a 0,9%, e ajustado em turbidímetro. A suspensão foi inoculada dentro de 15 min, na superfície do ágar GC, placa de 150 mm de diâmetro. Após absorção do inóculo, foram aplicados os discos de antimicrobianos (OXOID®) e as fitas de Etest (Biomérieux®). As placas foram incubadas de 35,5° a 36,5°C, em atmosfera úmida de 5% de CO<sub>2</sub>, por 20 a 24 horas.

A susceptibilidade foi interpretada de acordo com os critérios definidos pelo CLSI<sup>15</sup>. Para azitromicina e cloranfenicol foram utilizados os critérios do CDC e Van Dick e colaboradores, respectivamente<sup>12,17</sup>. Os isolados foram presumidamente classificados como resistência mediada por plasmídeos à penicilina (PPNG), quando β-lactamase positivos, e à tetraciclina (TRNG), quando CIM ≥ 16 µg/mL<sup>15</sup>. A resistência cromossômica para penicilina foi definida como CIM ≥ 2 µg/mL em isolados não produtores de β-lactamase, e para tetraciclina como CIM entre 2 e <16 µg/mL.

Foi realizado controle de qualidade utilizando cepa de referência de *N. gonorrhoeae* ATCC 49226 (*American Type Culture Collection*), gentilmente cedida pelo professor Sérgio Eduardo Longo Fracalanza, da Universidade Federal do Rio de Janeiro.

Foram obtidas informações sócio-demográficas e comportamentais dos pacientes por meio de questionário e consulta aos prontuários médicos.

A análise estatística foi realizada com o uso do software SPSS versão 17.0. Para a variável idade foi realizada estimativa de medianas, assim como medidas de variabilidade. Já para as variáveis qualitativas foram realizadas proporções. Para avaliação da concordância entre as metodologias, difusão em disco e Etest, foi realizado o teste de concordância  $\tau$  de Kendall; para azitromicina e cloranfenicol optou-se em realizar o teste de correlação de Kendall. A significância utilizada para os testes em questão foi de 5%.

Este estudo foi autorizado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte e da UFMG, e as coletas foram realizadas mediante consentimento e preenchimento do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

## RESULTADOS

### Avaliação do perfil de susceptibilidade

A susceptibilidade a azitromicina, cefixima, ceftriaxona, ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina, tetraciclina, e espectinomicina foi obtida para os 201 isolados de *N. gonorrhoeae*, como demonstrado na Tabela 1.

**Tabela 1 - Susceptibilidade e CIM, por Etest, de 201 cepas de *N. gonorrhoea* isoladas no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA de Belo Horizonte**

<i>Antimicrobiano</i>	<i>Nº de isolados (%)</i>			<i>CIM (µg/mL)</i>		
	Sensível	Intermediário	Resistente	MIC 50%	MIC 90%	Range
Azitromicina	156 (77,6)	36 (17,9)	9 (4,5)	0,125	0,38	0,016 - 12
Cefixima	201 (100,0)	-	-	0,016	0,016	0,016 - 0,125
Ceftriaxona	201 (100,0)	-	-	0,016	0,016	0,002 - 0,032
Ciprofloxacina	150 (74,6)	8 (4,0)	43 (21,4)	0,002	4	0,002 - >32
Cloranfenicol	143 (71,1)	34 (16,9)	24 (11,9)	0,38	2	0,125 - 12
Penicilina	13 (6,5)	143 (71,1)	45 (22,4)	0,25	6	0,008 - 256
Tetraciclina	90 (44,8)	46 (22,9)	65 (32,3)	0,5	16	0,032 - 32
Espectinomicina	201 (100,0)	-	-	12	16	4,000 - 24

Todas as cepas estudadas foram susceptíveis a ceftriaxona, cefixima (CIM  $\leq$  0,25 µg/mL); e espectinomicina (CIM  $\leq$  32 µg/mL). Mostraram-se resistentes a ciprofloxacina

21,4% (43/201) dos isolados (CIM  $\geq$  1  $\mu\text{g/mL}$ ); a cloranfenicol 11,9% (24/201) (CIM  $\geq$  2  $\mu\text{g/mL}$ ); a azitromicina 4,5% (9/201) (CIM  $\geq$  1  $\mu\text{g/mL}$ ); a penicilina 22,4 % (45/201) e a tetraciclina 32,3% (65/201) (CIM  $\geq$  2  $\mu\text{g/mL}$ ).

Foi observado alto nível de resistência a azitromicina (12  $\mu\text{g/mL}$ ), ciprofloxacina ( $>$  32  $\mu\text{g/mL}$ ), cloranfenicol (12  $\mu\text{g/mL}$ ), penicilina (256  $\mu\text{g/mL}$ ) e tetraciclina (32  $\mu\text{g/mL}$ ). Foi detectada resistência concomitante a vários antimicrobianos, como à: azitromicina e cloranfenicol (1 isolado); ciprofloxacina e cloranfenicol (5 isolados); azitromicina, ciprofloxacina e cloranfenicol (2 isolados); azitromicina, ciprofloxacina, cloranfenicol e penicilina (2 isolados); azitromicina, ciprofloxacina, cloranfenicol, tetraciclina e penicilina (2 isolados); ciprofloxacina, cloranfenicol, penicilina e tetraciclina (3 isolados), dois deles apresentando alto nível de resistência a ciprofloxacina (CIM  $>$ 32  $\mu\text{g/mL}$ ).

**Tabela 2 - Resistência de 201 cepas de *N. gonorrhoeae* a penicilina e tetraciclina mediada por plasmídios e cromossomos**

<i>Fenótipo</i>	<i>Definição do fenótipo</i>	<i>N° cepas (%)</i>
PPNG	$\beta$ -lactamase positiva; TET CIM $<$ 16 $\mu\text{g/ml}$	19 (9,5)
TRNG	$\beta$ -lactamase negativa; TET CIM $\geq$ 16 $\mu\text{g/ml}$	13 (6,5)
PPNG/TRNG	$\beta$ -lactamase positiva; TET CIM $\geq$ 16 $\mu\text{g/ml}$	10 (5,0)
R cromossômica à PEN	Não-PPNG; CIM (PEN) $\geq$ 2 $\mu\text{g/ml}$ ; CIM (TET) $<$ 2 $\mu\text{g/ml}$	8 (4,0)
R cromossômica à TET	Não-PPNG; CIM (PEN) $<$ 2 $\mu\text{g/ml}$ ; CIM (TET) $\geq$ 2 e $<$ 16 $\mu\text{g/ml}$	27 (13,4)
R cromossômica à PEN e TET	Não-PPNG; CIM (PEN) $\geq$ 2 $\mu\text{g/ml}$ ; CIM (TET) $\geq$ 2 e $<$ 16 $\mu\text{g/ml}$	4 (2,0)
Sensível	CIM $<$ 2 $\mu\text{g/ml}$ para PEN e TET	120 (59,7)

Legenda: R = resistência PEN = penicilina TET= tetraciclina

Várias categorias de resistência à penicilina e tetraciclina foram encontradas <sup>13,15</sup> (Tabela 2). Foi detectada PPNG em 14,5% (29/201) dos isolados e TRNG em 11,5% (23/201), sendo que 5% (10/201) apresentaram ambos os fenótipos (PPNG/TRNG).

### Concordância entre os resultados obtidos por difusão em disco e Etest:

Foi observada concordância significativa ( $p < 0,001$ ) entre os métodos de difusão em disco e Etest, resultando em coeficiente de concordância  $\tau$  de Kendall de 0,9871; 0,8711; 0,7887; para ciprofloxacina, tetraciclina e penicilina, respectivamente; enquanto para cefixime, ceftriaxona e espectinomicina  $\tau$  foi igual a 1,0. Houve correlação significativa entre os métodos para cloranfenicol (-0,584) e azitromicina (-0,518) ( $p < 0,001$ ).

### Frequência de gonorreia no Serviço de DST/SAE da URS-CS/SMSA de Belo Horizonte

Durante o período de março de 2011 a fevereiro de 2012 foram atendidos 7646 pacientes, sendo 5851 (76,5%) masculinos e 1795 (23,5%) femininos. Destes, 676 homens e 583 mulheres realizaram coleta de amostras uretrais ou endocervicais. Ocorreram 287 casos de gonorreia, com frequência relativa de 40,5 % (274/676) para os homens e 2,2 % (13/583) para as mulheres. A distribuição dos casos de gonorreia com a sazonalidade pode ser visualizado na Tabela 3.

**Tabela 3 - Frequência relativa de gonorreia no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA de Belo Horizonte**

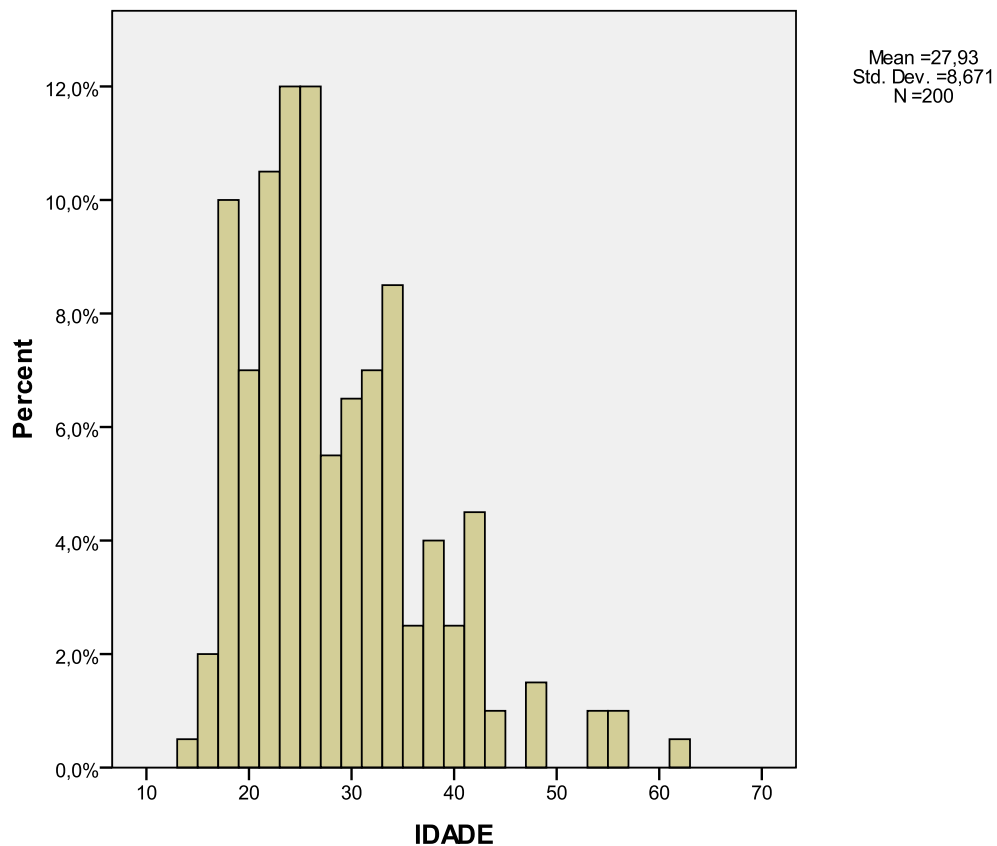
<i>Período</i>	<i>Total de coletas</i>	<i>Homens</i>		<i>Mulheres</i>		
		<i>Amostras positivas</i>	<i>%</i>	<i>Total de coletas</i>	<i>Amostras positivas</i>	<i>%</i>
Março	70	34	48,6	33	03	6,0
Abril	61	28	45,9	48	01	2,0
Maio	61	24	39,3	52	01	1,8
Junho	56	18	32,1	67	0	0
Julho	59	18	30,5	66	01	1,5
Agosto	56	25	44,6	61	01	1,4
Setembro	60	18	30,0	60	02	3,3
Outubro	53	26	49,0	40	0	0
Novembro	53	21	39,6	20	01	4,3
Dezembro	42	18	42,9	33	01	3,4
Janeiro	47	22	46,8	50	01	0
Fevereiro	58	22	37,9	53	01	0
<i>Total</i>	676	274	40,5	583	13	2,2

### População atendida no Serviço de DST/SAE da URS-CS

As 201 amostras de *N.gonorrhoeae* analisadas foram obtidas de 200 pacientes, de ambos os sexos, visto que um dos pacientes retornou à clínica com nova infecção.

Dos pacientes estudados, 95,0% (190/200) eram masculinos e 5,0% (10/200) femininos, com idade variando entre 14 a 61 anos (mediana 26 anos), e 17 a 40 anos (mediana de 22 anos), respectivamente (Figura 1). Do total de homens 21,0% (40/200) se declararam homens que fazem sexo com homens (HSH).

**Figura 1- Distribuição da frequência da população de estudo em relação a faixa etária**



Quanto ao grau de escolaridade formal 64,0 % (128/200); 32,5% (65/200); e 3,5% (7/200) cursaram, respectivamente, os ensinos fundamental, médio e superior completos. Declararam renda mensal de até 1 salário mínimo 46,6% (83/178) dos pacientes, destes 38,5% (32/83) não possuíam renda; entre 1 e 2 salários 40,4% (72/178); e 12,9% (23/178) mais de 2 salários. Residem no município de Belo Horizonte 85,5% (171/200) dos pacientes; e 14,5% (29/200) em outros municípios da região metropolitana sendo, Ribeirão das Neves 5,5% (11/200); Contagem 3,5% (7/200); Santa Luzia 2,5% (5/200); Sabará 1,5% (3/200); e Nova Lima, Betim e Ibirité 0,5% (1/200). Declararam não possuir residência fixa 4 pacientes (2,0%), por serem moradores de rua.



O uso de preservativos foi relatado como nunca usado, uso esporádico, e não usado com parceiro fixo em, respectivamente, 31,2% (62/199); 45,2% (90/199); e 11,6 (23/199). O uso regular foi relatado em 12,0% (24/199) dos pacientes, sendo que destes 25,0% (6/24) não utilizavam no sexo oral. Em relação aos parceiros sexuais no último ano 16,1% (31/193); 14,5% (28/193); e 69,4% (134/193) relataram possuir parceiro fixo a mais de 6 meses, um novo parceiro nos últimos 3 meses, e mais de um parceiro nos últimos 3 meses, respectivamente. Declararam possuir um único parceiro 13,9% (27/193); 47,8% (92/193) de 2 a 5; 36,8% (71/193) de 6 a 20 e 1,6% (3/193) mais de 20 parceiros no último ano. Havia história prévia de DST em 44,0% (88/200) dos pacientes, destes 43,0% (38/88) de gonorreia. Relataram uso de drogas, como maconha, cocaína e crack, 13,5% (27/200) dos pacientes.

Apresentavam outras DST concomitantes como: sífilis 9,5% (19/200); hepatite B 9,5% (19/200); HIV positivo 5,5% (11/199); hepatite C 1,0% (2/200); condiloma 0,5% (1/200); herpes genital 3,0% (6/200); e cancro mole 2,0% (4/200) dos pacientes. Entre as mulheres 80,0% (8/10) apresentavam vaginose bacteriana, 20,0% (2/10) tricomoníase, e 10,0 % (1/10) candidíase.

Em relação ao tratamento utilizado 42,1% (83/197) dos pacientes receberam tianfenicol 2,5g em dose única; 51,8 % (102/197) tianfenicol associado à azitromicina 1g; 4,0% (8/197) exclusivamente azitromicina; 1,0% (2/197) tianfenicol e doxiciclina 100mg; 1,0% (2/197) tianfenicol e ciprofloxacina 500 mg; e 1,5% (3/200) não retornaram para tratamento. Compareceram ao retorno 32,0% (64/200), destes 7,8% (5/64) se mantiveram sintomáticos. Dos pacientes que retornaram com sintomatologia, 1 apresentava uretrite não gonocócica, e 4 uretrite gonocócica, comprovadas laboratorialmente. Dentre aqueles com gonorreia, dois retornaram dentro de 7 dias, sem melhora e tiveram isoladas cepas de *N. gonorrhoeae* resistentes ao tratamento utilizado (Tianfenicol), porém não houve confirmação de falha terapêutica.

## DISCUSSÃO

Os últimos dados sobre a susceptibilidade a antimicrobianos da *N. gonorrhoeae* em Belo Horizonte foram relatados em 1984<sup>18</sup>, quando se observou resistência à tetraciclina (5,6%) e ao cloranfenicol (13,9%), e redução da sensibilidade à penicilina (15,3 %).

Os dados agora observados revelam alto índice de resistência à tetraciclina, penicilina, ciprofloxacina e cloranfenicol; e de sensibilidade reduzida a azitromicina, cloranfenicol, penicilina e tetraciclina. A ocorrência de resistência, exceto à azitromicina, excede o limite

de 5%, o que desautoriza a utilização do antimicrobiano na terapêutica da gonorreia, segundo a OMS e o CDC <sup>6,9</sup>.

A ocorrência de resistência à penicilina (22,4%) foi semelhante à relatada em Manaus<sup>19</sup> (21,8%) e São Paulo<sup>20</sup> (23,0%); e superior à encontrada no Rio de Janeiro<sup>21</sup> (8,7%). Valores semelhantes foram observados em países da América Latina e Caribe<sup>22</sup> (25,3%), sendo bastante superiores em alguns deles como Bolívia (62,0%), Peru (80,0%), e Venezuela<sup>23</sup> (87,0%). A prevalência de PPNG (14,5%) foi semelhante à encontrada em Manaus (14,5%), superior à obtida no Rio de Janeiro (8,6%), e inferior à detectada em São Paulo (23,0%). Sendo bastante superior na África<sup>24</sup> (46,4 a 87,0%), Indonésia (60,0%)<sup>25</sup>, e alguns países da América Latina como Colômbia (56,0%) e Bolívia (61,0%)<sup>23</sup>.

A resistência à tetraciclina encontrada (32,3%) foi semelhante à obtida no Rio de Janeiro<sup>21</sup> (33,9%), e em São Paulo<sup>20</sup> (30,8%) e bastante inferior à verificada em Manaus<sup>19</sup> (80,0%). Foi compatível com o encontrado em países como o Chile (33,0%) e Uruguai (32,0%), e inferior ao obtido na Bolívia (54,0%), Peru (90,0%) e Venezuela<sup>23</sup> (100,0%). A frequência de cepas TRNG (11,5%) foi semelhante à observada em Manaus (12,7%), porém inferior à detectada no Rio de Janeiro (20,0%). Também compatível com a encontrada no Peru (10,0%) e superior à encontrada na Argentina (5,0%), e Uruguai (4,0%).

Isolados com resistência à penicilina e tetraciclina tem sido relatados no Brasil desde 1984 <sup>18,26</sup>.

Detectou-se resistência à azitromicina (4,5%) compatível com a encontrada em Manaus<sup>19</sup> (6,4%), porém superior à observada no Rio de Janeiro<sup>21</sup>, com 20,0% de sensibilidade reduzida. Resistência a azitromicina tem sido descrita em vários países como Uruguai (9,0%), Chile (46,0%), Peru<sup>23</sup> (75,0%), Estados Unidos da América<sup>3</sup> (0,5%) e Alemanha<sup>27</sup> (7,7%). Embora não preconizada para tratamento de gonorreia no Brasil<sup>28</sup>, a azitromicina poderia ser utilizada como reserva terapêutica, ainda que com cautela, com resistência observada nesse estudo inferior a 5% mas há grande número de isolados com susceptibilidade reduzida.

A ciprofloxacina é dos antimicrobianos recomendados como terapia de primeira linha para tratamento de infecções gonocócicas no Brasil<sup>28</sup>. Para a ciprofloxacina foi encontrada resistência bastante aumentada (21,4%), quando comparada a outros estudos nacionais, que inicialmente observaram redução da susceptibilidade <sup>19,21</sup> e posteriormente detectaram

resistência em Manaus<sup>23</sup> (2,0%), São Paulo<sup>29</sup> (3,7%), e Rio de Janeiro<sup>30</sup> (7,7%). Entretanto, compatível com estudo recente realizado no Rio de Janeiro<sup>30</sup>, que encontrou 16,5% de resistência, no período de 2005 a 2010, e 33,3% somente em 2010. Segundo o programa de vigilância GASPLAC<sup>31</sup> ocorreu aumento da resistência na América Latina e Caribe de 2% em 2000, para 30% em 2009; chegando a 60,0% em alguns países, como no Peru<sup>23</sup>. Diversos países, como EUA (12,5%)<sup>3</sup> e Alemanha<sup>27</sup> (47,7%), têm detectado elevadas taxas de resistência a ciprofloxacina, o que descontinuou seu uso para gonorreia<sup>4,32,33</sup>. Além disso, foram detectados isolados com alto nível de resistência à ciprofloxacina (CIM > 32 µg/mL), associada à resistência a cloranfenicol, e tetraciclina, fenotipicamente semelhantes aos detectados em Manaus<sup>34</sup>, embora não confirmado por testes moleculares.

A resistência a cloranfenicol encontrada (11,9%) foi superior à obtida no Rio de Janeiro<sup>21</sup> (3,5%), e Manaus (5,0%)<sup>23</sup>, no entanto inferior à observada em Belo Horizonte em 1984<sup>18</sup> (13,9%), e em países como a Indonésia (36,8%)<sup>25</sup> e países da África (57,3%)<sup>24</sup>.

No Serviço de DST/SAE da URS-CS utiliza-se comumente tianfenicol para tratamento de gonorreia, e eventualmente ciprofloxacina, associado à azitromicina ou doxiciclina para infecção concomitante com clamídia. A azitromicina e a ciprofloxacina são também bastante utilizadas, tanto para outras DST quanto para diversas infecções comunitárias ou nosocomiais. O tianfenicol, embora não mais preconizado pelo Ministério da Saúde<sup>28</sup>, permanece utilizado devido ao custo reduzido, fácil administração, e eficácia clínica. A taxa de resistência ao cloranfenicol (análogo do tianfenicol), embora inferior à observada em 1984<sup>18</sup>, provavelmente devido à reduzida utilização, é bastante preocupante, uma vez que ultrapassa o percentual de resistência permitido para utilização empírica. Os pacientes são considerados presumidamente curados, mas a taxa de retorno é bastante baixa (32,0%), para se assegurar a eficácia.

A espectinomicina apresentou excelente susceptibilidade, porém é eficaz somente para infecções uretrais e retais<sup>33</sup>. No entanto, as infecções faríngeas, que são assintomáticas e raramente triadas, tem adquirido importância crescente<sup>6,7</sup>, principalmente no grupo de HSH. Além de apresentar custo elevado e administração por via intramuscular, a resistência de alto nível surgiu rapidamente, quando de sua utilização no passado, por ser resultante de mutação de passo único<sup>33</sup>.

Não se encontrou resistência às cefalosporinas testadas, antimicrobianos utilizados exaustivamente no contexto hospitalar, sendo necessário seu monitoramento. A cefixima, apesar da vantagem de administração oral, não se encontra disponível no Brasil.

Fatores como a automedicação, possível devido à insuficiência de controle na venda de antimicrobianos, ainda observada na época de realização deste estudo, e falta de acompanhamento médico para o tratamento podem contribuir para o surgimento de resistência.

Os resultados obtidos autorizam a utilização da técnica difusão em disco na rotina laboratorial, como método alternativo para detecção da susceptibilidade. Trata-se de técnica barata, de fácil execução, com reprodutibilidade e concordância com a técnica do Etest. Seu uso é limitado para alguns antimicrobianos como cloranfenicol e azitromicina por não existirem pontos de corte padronizados, para interpretação dos testes.

Esse estudo foi limitado pela impossibilidade de realização de testes moleculares para detecção dos mecanismos de resistência e tipagem das cepas. Os dados são provenientes de um serviço de DST, referência para o atendimento em Belo Horizonte e região metropolitana, o que pode expressar prevalência de resistência superior à da população em geral. Seriam necessários novos estudos para verificar a eficácia do tratamento com Tianfenicol.

## **Conclusão**

Este estudo dá suporte ao uso de cefalosporinas de terceira geração e espectinomicina como tratamento de primeira escolha para gonorreia em Belo Horizonte. Os resultados confirmam as recomendações de não utilização de penicilina, tetraciclina, e desaconselham o uso da ciprofloxacina. A taxa de resistência para o cloranfenicol, que deve ser projetada para o Tianfenicol, baseada nos resultados *in vitro*, desaconselha sua utilização de forma empírica.

O efetivo tratamento da gonorreia é importante para reduzir sua transmissão e do HIV. O monitoramento contínuo da eficácia do tratamento, juntamente com a vigilância sistemática regional da susceptibilidade a antimicrobianos são componentes críticos para controle e estratégia de prevenção. Novos estudos são urgentemente necessários para se buscar novos regimes de tratamento alternativos para a gonorreia.

O paciente no Serviço de DST/SAE é predominantemente jovem, possui múltiplos parceiros, apresenta baixo grau de instrução e renda, e tem histórico recorrente de DST. É necessário desenvolver ações mais efetivas de promoção à saúde, que incluam reflexões sobre o comportamento sexual, estimulando a prática do sexo seguro.

O estudo da susceptibilidade da *N. gonorrhoeae* aos antimicrobianos representa ganho de eficiência terapêutica e precisa ser incorporado à rotina dos serviços de referência de monitoramento de resistência microbiana.

**Agradecimentos:** Os autores agradecem à equipe médica da URS-CS, e às equipes do laboratório de DST/URS-CS e laboratório de microbiologia HJXXIII/FHEMIG. À Dr<sup>a</sup> Maria Auxiliadora M. M. Vianna. A PlastLabor pelo desenvolvimento do meio de cultura GC.

**Conflito de interesse:** Os autores declaram que não há conflitos de interesse.

**Apoio financeiro:** Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - (CAPES/Brasil), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).

## REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Department of Reproductive Health and Research. Emergence of multi-drug resistant *Neisseria gonorrhoeae* – Threat of global rise in untreatable sexually transmitted infections 2011; RHR/11.14.
2. Tapsall JW, Ndowa F, Lewis DA, Unemo M. Meeting the public health challenge of multidrug- and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Exp Rev Anti Infect Ther*. 2009; 7:821-34.
3. Centers for disease control and prevention. Division of STD Prevention. Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010. Department of Health and Human Services 2011; (RR-12):17-31.
4. Tapsall JW. Antibiotic Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clinical Infectious Dis* 2005; 41(suppl 4):S263–268.
5. Fleming DT, Wasserheit JN. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other STD to sexual transmission of HIV infection. *Sex Trans Infect*. 1999; 75:3-17.
6. Workowski KA, Berman SM, Douglas Jr JM. Emerging Antimicrobial Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Urgent Need to Strengthen Prevention Strategies. *Ann Intern Med*. 2008; 148: 606-613.
7. Gail AB, Sparling PF, Wasserheit JN. The Emerging Threat of Untreatable Gonococcal Infection. *N Engl J Med*. 2012; 366: 485-7.
8. Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhoea? : Detailed Characterization of the First Strain with High-Level Resistance to Ceftriaxone. *Antimicrob Agents Chemother* 2011; 55: 3538-45.

9. Organização Mundial da Saúde. Infecções por gonococos in Orientações para o Tratamento de Infecções Sexualmente Transmissíveis p.48-9. Genebra, Suíça. 2001, Disponível no site [http://www.who.int/hiv/pub/sti/STIguidelines2003\\_pt.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/sti/STIguidelines2003_pt.pdf)
10. Workowski KA, Berman SM. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2010. MMWR 2010; 59 (RR-12): 49-59.
11. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. Serie Telelab. Técnicas para Coleta de Secreções 2011; 19-28.
12. Van Dyck E, Maheus AZ, Piot P. World Health Organization. Laboratory Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases 1999; 1: 1-21.
13. Knap JS. Organización Mundial de la Salud/CDC. *Neisseria gonorrhoeae*. In: Manual de Laboratorio para la Identificación y Prueba de Susceptibilidad a los Antimicrobianos de Patógenos Bacterianos de Importancia para la Salud Pública en el Mundo en Desarrollo 2003; 6: 63-102.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests: Approved Standard- Tenth Edition 2009; (M02-A1 Vol 23 n°1).
15. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Second Informational Supplement 2012; (M100-S22 Vol 32 n°3).
16. Van Dyck E, Smet H, Piot P. Comparison of Etest with agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol. 1994; 32(6): 1586-8.
18. Antunes GS, Damasceno CAV, Cisalpino EO. Perfil de suscetibilidade de *Neisseria gonorrhoeae* a antimicrobianos em Belo Horizonte, MG. Rev. Microbiol. 1984; 15 (4): 217 – 21.
19. Ferreira WA, Vasconcelos WA, Silva MF, Gomes JS, Ferreira CM, Benzaken AS. Resistência Da *Neisseria gonorrhoeae* A Antimicrobianos Em Manaus: Período 2005-2006. J Bras Doenças Sex Transm 2007; 19 (2): 65-9.
20. Belda Jr W, Velho PENF, Fagundes LJ, Arnone M. Brief Communication Evaluation Of The In Vitro Activity Of Six Antimicrobial Agents Against *Neisseria gonorrhoeae*. Rev Inst Med Trop. 2007; 49 (1): 55-8.
21. Barreto NA, Sant'anna RRP, Silva LBG, Uehara AA, Guimarães RC, Duarte IM. Caracterização Fenotípica E Molecular De *Neisseria gonorrhoeae* Isoladas No Rio de Janeiro, 2002–2003. J Bras Doenças Sex Transm 2004; 16(3):32-42.
22. Dillon JR, Ruben M, Li H, Borthagaray G, Márquez C, Fiorito S. Challenges in the Control of Gonorrhoea in South America and the Caribbean: Monitoring the Development of Resistance to Antibiotics. Sex Transm Dis 2006; 33(2): 87-95.
23. Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance in Latin America and the Caribbean. Report of the Wokshop for the Revitalization of the Gonococcal Antimicrobial

Susceptibility Surveillance Program in Latin America and the Caribbean (GASP-LAC), Buenos Aires, Argentina. 2-4 November 2010. [Citado em 2012 nov. 11] Disponível em: [http://www.gasp-lac.net/docs/GASP-LAC\\_Meeting\\_Report\\_FINAL\\_Addendum.pdf](http://www.gasp-lac.net/docs/GASP-LAC_Meeting_Report_FINAL_Addendum.pdf)

24. Van Cao, Ratsima E, Tri DV, Bercion R, Fonkoua MC, Richard V et al. Antimicrobial Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in 2004–2006 in Bangui, Central African Republic; Yaoundé, Cameroon; Antananarivo, Madagascar; and Ho Chi Minh Ville and Nha Trang, Vietnam. *Sex Transm Dis.* 2008; 35 (11): 941-5.

25. Ieven M, Looveren MV, Sudigdoadi S, Rosana Y, Goossens W, Lammens C et al. Antimicrobial Susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in Java, Indonesia. *Sex Transm Dis.* 2003; 30(1): 25-9.

26. Magalhães, M. Uretrite causada por *Neisseria gonorrhoeae* produtora de penicilinase: relato de um caso. *Rev Bras Pat Clin* 1984; 20 (4): 116-8.

27. Enders M, Turnwald-Maschier A, Regnath T. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from the Stuttgart and Heidelberg areas of southern Germany. *Eur J Clin Microbiology Infect Dis.* 2006; 25:318-22.

28. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. Manual de Controle das Doenças Sexualmente Transmissíveis. Brasília, 2006.

29. Belda Jr W, Velho PENF, Arnone M, Fagundes LJ. Emergence Of Fluoroquinolone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* in São Paulo, Brazil. *Braz J Microbiol.* 2007; 38: 293-5.

30. Uehara AA, Amorin ELT, Ferreira MF, Andrade CF, Clementino MBM, Filippis I et al. Molecular Characterization of Quinolone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates from Brazil. *J Clin Microbiol.* 2011 Dec; 49(12): 4208-12.

31. Starnino S, Galarza P, Carvallo MET, Benzaken AS, Ballesteros A MRT, Cruz OMS, et al. Retrospective Analysis of Antimicrobial Susceptibility Trends (2000-2009) in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates from Countries in Latin America and the Caribbean Shows Evolving Resistance to Ciprofloxacin, Azithromycin and Decreased Susceptibility to Ceftriaxone. *Sex Transm Dis.* 2012; 39(10):813-21.

32. Tanaka M, Kumazawa J, Matsumoto T, and Koboyashi I. High prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to fluoroquinolones in Japan. *Genitourin Med* 1994; 70(2): 90-3.

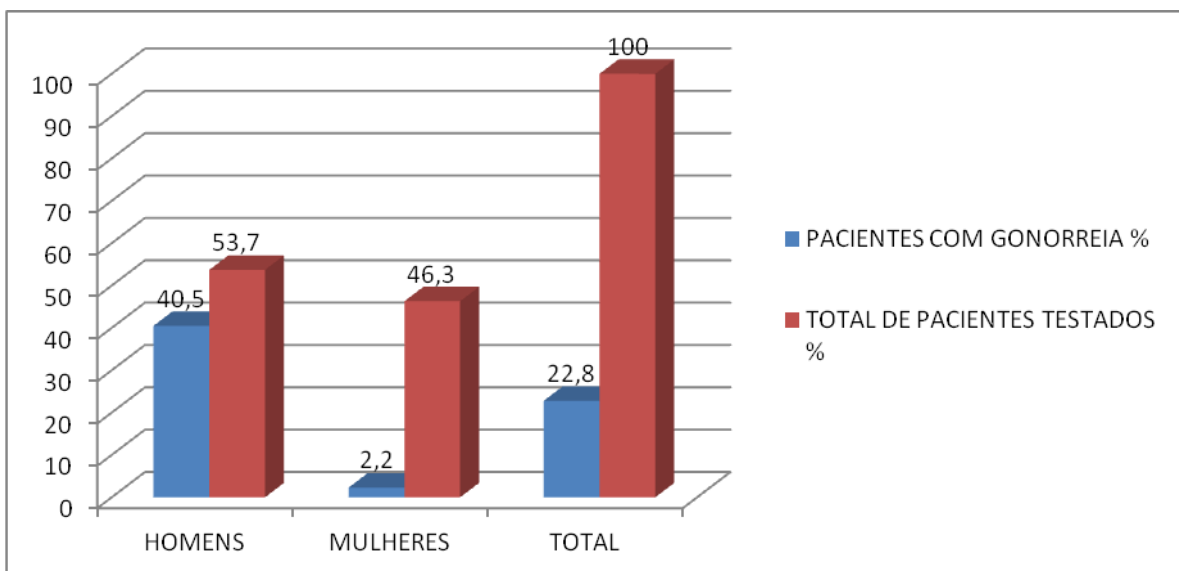
33. Newman LM, Moran JS, Workowski KA. Update on the Management of Gonorrhea in Adults in the United States. *Clin Infect Dis.* 2007; 44(Suppl 3):S84-101.

34. Ferreira WA, Ferreira CM, Naveca FG, Almeida NCO, Vasconcelos WS, Gomes JS et al. Genotyping of two *Neisseria gonorrhoeae* fluoroquinolone-resistant strains in the Brazilian Amazon region. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2011; 106 (5): 629-31.

## 7 DADOS COMPLEMENTARES E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo permitiu conhecer a elevada frequência de gonorreia entre a população que procurou atendimento no Serviço de DST/SAE da URS-CS (**Gráfico 1**). A frequência relativa de gonorreia nos pacientes do sexo masculino 40,5% (274/676) foi superior à obtida em estudo realizado pelo Ministério da Saúde, em 2005, em seis capitais 18,5% (142/766) (BRASIL,2005). O que pode ser atribuído ao fato de serem estudados somente pacientes sintomáticos para uretrite, enquanto o estudo do MS abordou também pacientes assintomáticos. A frequência relativa detectada entre as mulheres 2,2% (13/583) foi inferior à obtida no estudo do MS, 3,3% (67/2059). Essa diferença pode associar-se com a grande parcela dos casos de gonorreia assintomáticos em mulheres, fazendo com que estas compareçam menos ao serviço, e também por serem atendidas nas unidades básicas de saúde em programas específicos de atenção ginecológica. O estudo do MS também apresentou diferença de método, ao incluir mulheres assintomáticas, testadas pelo método de biologia molecular que é um pouco mais sensível que a cultura, para estes casos.

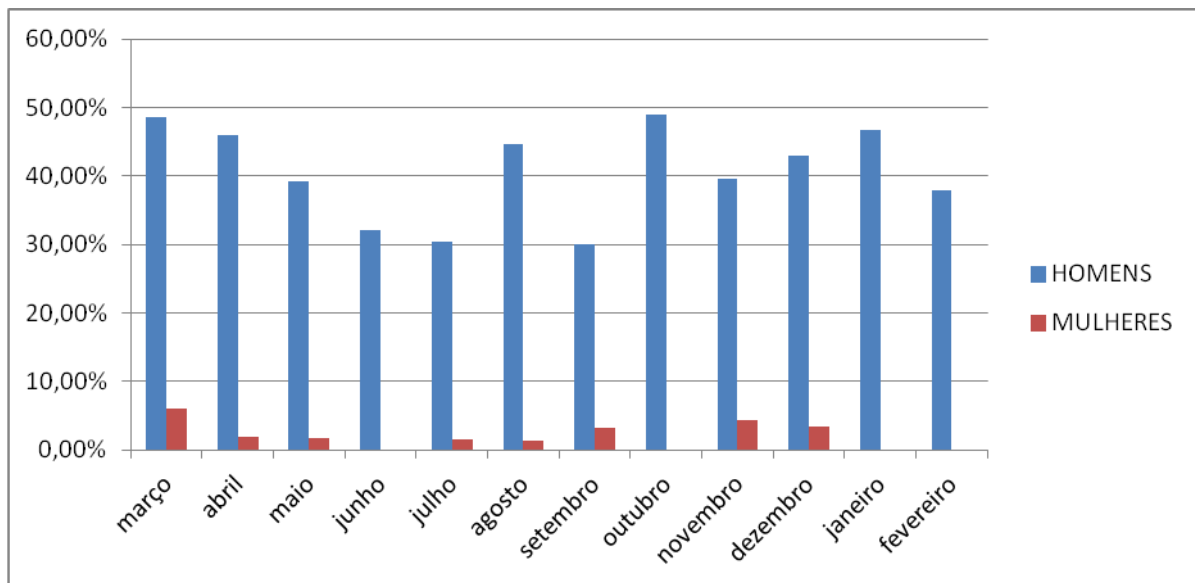
**Gráfico 1 - Frequência relativa de gonorreia entre homens e mulheres no Serviço de DST/SAE da URS-CS/SMSA de março de 2011 a fevereiro de 2012**



Os casos de gonorreia predominaram nos meses de março, abril e outubro, coincidindo com períodos de feriados prolongados, como carnaval e semana santa, semana das crianças. O que justifica a intensificação de campanhas educativas nestes períodos (**Gráfico 2**).



**Gráfico 2 - Frequência relativa de gonorreia no Serviço de DST/SAE da URS-CS /SMSA nos meses avaliados.**



Os pacientes atendidos no Serviço de DST/SAE da URS-CS, que residiam em Belo Horizonte, foram provenientes de todas as regiões da cidade sendo 13,0% (26/200) da Leste; 4,0% (8/200) do Barreiro; 12,5% (25/200) da Noroeste; 8,5% (17/200) da Centro-Sul; 4,5% (9/200) da Pampulha; 8,0% da (16/200) Norte; 15,5% (31/200) da Nordeste; 7,0% (14/200) de Venda Nova; e 11,0% (22/200) da região Oeste. A abrangência do atendimento prestado pelo Serviço de DST/SAE da URS-CS fornece maior representatividade ao estudo.

A sintomatologia estava presente em todos os homens (disúria e/ou secreção uretral) e mulheres (secreção cervico-vaginal) estudados. Entretanto as mulheres apresentaram outras possíveis etiologias para a sintomatologia como vaginose bacteriana e *Trichomonas vaginalis*. Encontrou-se elevada frequência relativa de vaginose bacteriana 80,0% (8/10) associada à gonorreia, o que tem sido associada ao maior risco de contrair outras DST e o HIV (WORKOWSKI; BERMAN, 2010).

A distribuição da susceptibilidade dos 201 isolados de *N. gonorrhoeae*, de acordo com os pontos de corte definidos pelo CLSI e CDC, para os antimicrobianos selecionados pode ser mais bem visualizada na **Tabela 5**.

**Tabela 5 - Concentrações Inibitórias Mínimas dos antimicrobianos testados, frente à *Neisseria gonorrhoeae***

ATB	CIM ( $\mu\text{g/ml}$ )																	
	0,002	0,004	0,006	0,008	0,016	0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	>64	>128
Azitromicina					2	4	42	79	50	15	1*	3	2	1	2			
Cefixima				2	188	4	2	5										
Ceftriaxona	21	28	13	2	130	7												
Ciprofloxacina	125	11	1	0	1	7	5	2	2	3	6*	6	17	8	1	6		
Cloranfenicol							1	1	50	90	26	19*	09	4	1			
Espectinomycin <sup>a</sup>													6	51	138	6		
Penicilina				1	2	4	6	53	57	24	9	14*	8	7	7	8		1
Tetraciclina						1	8	32	49	38	8	4*	2	21	34	4		

ATB = antimicrobiano

\* CIM correspondente à resistência

Dos pacientes com diagnóstico laboratorial de gonorreia que receberam tratamento e compareceram ao retorno (64/200), 5 ainda apresentavam sintomatologia de uretrite, sendo que todos eles haviam recebido Tianfenicol. Destes, um apresentava *Gardnerella sp*, e quatro gonorreia. Entre os pacientes que apresentavam gonorreia ao retorno, dois tiveram isoladas cepas de *N. gonorrhoeae* sensíveis ao cloranfenicol, retornaram após 15 e 30 dias, sendo que um deles relatou ter novos contatos sem uso de preservativo, sugerindo reinfecção. No entanto, dois pacientes retornaram antes da data prevista, dentro de 7 dias, relatando não haver melhora, ambos apresentavam isolados de *N.gonorrhoeae* resistentes ao tratamento utilizado. Não foram realizadas culturas no retorno dos pacientes para confirmar os resultados, e possível falha do tratamento.

Os achados reforçam a necessidade de acompanhamento médico para controle de cura, se possível com realização de testes de laboratório. A OMS recomenda que o laboratório local, após o tratamento, deve determinar a susceptibilidade de isolados que não responderam ao mesmo, para ser possível decidir se houve fracasso de tratamento real, por não responder ao tratamento, ou aquisição de isolamentos susceptíveis por reinfecção. Nem todos os

laboratórios locais têm a capacidade de realizar provas de susceptibilidade dos isolados aos antimicrobianos. Os laboratórios nacionais ou grandes laboratórios regionais que servem como laboratórios de Referência devem ser capazes não só de prestar assistência aos laboratórios locais e autoridades de saúde, mas também fazer testes de susceptibilidade a uma vasta gama de agentes antimicrobianos para comparar susceptibilidade dos isolados a nível regional, nacional e internacional (KNAPP, 2004).

O presente estudo representa passo importante para o conhecimento do perfil de susceptibilidade da *N.gonorrhoeae* em Belo Horizonte, visto que o serviço de referência atende usuários de todas essas regiões da cidade e região metropolitana. Os achados *in vitro* poderão nortear as decisões locais de padronização de tratamentos, e incentivar novos estudos visando acompanhamento de tratamento.

Representa acréscimo importante aos dados de vigilância no Brasil, visto que, o monitoramento da resistência da *N. gonorrhoea* não tem sido realizado de forma continuada no país. As últimas tentativas de implantação de rede de vigilância produziram dados provenientes do Rio de Janeiro (2003) e principalmente de Manaus (2010), sendo desconhecida a situação das demais regiões do país.

Monitoramentos periódicos da resistência da *N. gonorrhoeae* são importantes. Deve ser incentivada a retomada do monitoramento da resistência da *N. gonorrhoea* no país, com envio de cepas a laboratórios de referência (LACEN) regionais para realização de testes de susceptibilidade e laboratórios de referência nacionais para realização de genotipagem, e detecção dos mecanismos de resistência.

## REFERÊNCIAS

AKASAKA, S. *et al.* Emergence of cephemand aztreonam-high-resistant *Neisseria gonorrhoeae* that does not produce beta-lactamase. Early report of cephalosporin treatment failures in Japan. *J. infect. chemother.*, Tokyo, v. 7, n. 1, p. 49-50, Mar. 2001.

ANTUNES, Gilberto S.; DAMASCENO, Carlos A. Veiga; CISALPINO, E. Osório. Perfil de suscetibilidade de *Neisseria gonorrhoeae* a antimicrobianos em Belo Horizonte, MG. *Rev. Microbiol.*, São Paulo, v. 15, n. 4, p. 217-221, abr. 1984.

BALA, M. *et al.* Changing trends of antimicrobial susceptibility patterns of *Neisseria gonorrhoeae* in India and the emergence of ceftriaxone less susceptible *N.gonorrhoeae* strains. *J. infect. chemother.*, Tokyo, v. 60, n. 3, p. 582-586, Sept. 2007.

BARRETO, Nero. Caracterização fenotípica e molecular de *Neisseria Gonorrhoeae* isoladas no rio de janeiro, 2002–2003. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, Rio de Janeiro, v. 16, n. 3, p. 32-42, 2004.

BARRY, Pennan M.; KLAUSNER, Jeffrey D. The use of cephalosporins for gonorrhoea: The impending problem of resistance. *Expert Opin. Pharmacother.*, London, v. 10, n. 4, p. 555-577, Mar. 2010.

BERGLUND, Torsten. *Recent trends in the epidemiology of gonorrhoea in Sweden: the role of importation and core groups.* Stockholm, Sweden. Department of Epidemiology, Swedish Institute for Infectious Disease Control, and Department of Medical Epidemiology and Biostatistics, Karolinska Institutet, 2006. p. 33-55. Disponível em: <<http://diss.kib.ki.se/2006/91-7140-692-1/thesis.pdf>>. Acesso em: 15 Jan. 2012.

BERNSTEIN, Kyle T. *et al.* *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* transmission from the oropharynx to the urethra among men who have sex with men. *Clin. infect. dis.*, Chicago, v. 49, n. 12, p. 1793-1797, Dec. 2009.

BELDA JUNIOR, Walter, *et al.* Brief communication evaluation of the in Vitro Activity of six antimicrobial agents against *Neisseria gonorrhoeae*. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, São Paulo, v. 49, n. 1, p. 55-58, jan. 2007.

BELDA JUNIOR, Walter, *et al.* Emergence of fluoroquinolone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in São Paulo, Brazil. *Braz. j. microbiol.*, São Paulo, v. 38, p. 293-295, 2007.

BIEDENBACH, Douglas J.; JONES Ronald N. Comparative assessment of Etest for testing susceptibilities of *N. gonorrhoeae* to penicillin, tetracycline, ceftriaxone, cefotaxime and ciprofloxacin: investigation using 510(k) review criteria, recommended by the Food and Drug Administration. *J. clin. microbiol.*, Washington, v. 34, n.12, p. 3214-3217, Dec. 1996.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 2472, de 31 de agosto de 2010. Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, de 01 set. 2010a. Seção I, p. 50.

BRASIL. Ministério da Saúde. Portaria nº 104, de 25 de janeiro de 2011. Define as terminologias adotadas em legislação nacional, conforme disposto no Regulamento Sanitário Internacional 2005. *Diário Oficial da União*, Brasília, DF, v.0, c.2, de 26 jan 2011a. Seção I, p.37. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104\\_25\\_01\\_2011.html](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2011/prt0104_25_01_2011.html)>. Acesso em: 12 jan. 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de DST, AIDS e Hepatites Virais. *Doenças sexualmente transmissíveis*. Brasília, 2009. Disponível em: <<http://www.aids.gov.br/pagina/o-que-sao-dst>>. Acesso em: 07 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Programa Nacional de DST/AIDS. *Cultura, isolamento e identificação de Neisseria gonorrhoeae*. Brasília, DF, 2011b. Serie Telelab. 72 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. *Rename*. 7. ed. Brasília, DF, 2010b. 250 p. (Serie B. Textos Basicos de Saude).

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de DST, Aids e Hepatites Virais. *Técnicas para coleta de secreções*. Brasília: DF, 2011c. Serie Telelab. p. 19-28.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. *Manual de controle das doenças sexualmente transmissíveis*. Brasília-DF, 2006. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_controle\\_das\\_dst.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_controle_das_dst.pdf)>. Acesso em: 05 set. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e AIDS. *Plano Estratégico Programa nacional de DST e Aids*. Brasília, 2005a. 121p. Disponível em: <[http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano\\_estrategico.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_estrategico.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Programa Nacional de DST e Aids. *Prevalências e frequências relativas de Doenças Sexualmente Transmissíveis (DST) em populações selecionadas de seis capitais brasileiras*, 2005. Brasília-DF, 2008. Disponível em: <<http://www.saude.gov.br/bvs>>. Acesso em: 19 maio 2012.

BRITISH ASSOCIATION FOR SEXUAL HEALTH AND HIV. *National guideline on the diagnosis and treatment of gonorrhoea in adults 2005*. London, 2005. Disponível em: <<http://www.bashh.org/documents/116/116.pdf>>. Acesso em: 04 mar. 2012.

BROWN, L. B. *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* antimicrobial susceptibility in Lilongwe, Malawi, 2007. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v.37, n. 3, p.169-172, Mar. 2010.

CHISHOLM, S. A. *et al.* Emergence of high-level azithromycin resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in England and Wales. *J. infect. chemother.*, Tokyo, v. 64, n. 2, p. 353-358, Aug. 2009. Disponível em: <http://jac.oxfordjournals.org/content/64/2/353.full.pdf+HTML>>. Acesso em: 17 jun. 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *B88. Neisseria Gonorrhoeae Reference Strains For Antimicrobial Susceptibility Testing*, February 2005. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/std/gonorrhea/arg/B88-Feb-2005.pdf>> Acesso em: 20 nov. 2010.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Cephalosporin Susceptibility Among *Neisseria gonorrhoeae* Isolates - United States, 2000-2010. *MMWR*, Atlanta, v. 60, n. 26, p. 873-877, July 8 2011. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm6026a2.htm>> Acesso em: 08 nov. de 2011.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Fluoroquinolone-resistance in *Neisseria gonorrhoeae*, Hawaii, 1999, and decreased susceptibility to azithromycin in *N. gonorrhoeae*, Missouri, 1999. *MMWR*, Atlanta, v. 49, n. 37, p. 833-837, Sept. 2000. Disponível em:< <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm4937a1.htm>>. Acesso em: 04 mar. 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Update to CDC's sexually transmitted diseases treatment guidelines, 2006: fluoroquinolones no longer recommended for treatment of gonococcal infections. *MMWR*, Atlanta, v. 56, n. 14, p. 332-336, Apr. 2007. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5614a3.htm>> Acesso em: 02 mar. 2012.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Department of Health and Human Services. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines 1993. *MMWR*, Atlanta, v. 42, p. 1-102, 1993.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). Department of Health and Human Services. *Sexually Transmitted Disease Surveillance 2010*. United States, Atlanta, 2011. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/std/stats10/surv2010.pdf>>. Acesso em: 19 set. 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance Standards for antimicrobial susceptibility testing. Twenty-second Information Supplement. Wayne-PA-USA, Jan. 2012. v. 32, n. 3, Supplement (M100-S22) Disponível em: <<http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/M100S22E.pdf>>. Acesso em: 02 mar. 2012.

CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests: Approved Standard. 10<sup>th</sup> ed. Wayne-PA-USA, 2009. v. 23, n. 1, Supplement (M02-A10).

COHEN, Myron S. *et al.* Reduction of concentration of HIV-1 in semen after treatment of urethritis: implications for prevention of sexual transmission of HIV-1. *Lancet*, London, v. 349, n. 9069, p. 1868-1873, June 1997.

CO-ORDINATING CENTRE, GONOCOCCAL ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY SURVEILLANCE PROGRAM IN LATIN AMERICA AND THE CARIBBEAN. Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance in Latin America and the Caribbean. In: Workshop for the Revitalization of the Gonococcal Antimicrobial Susceptibility Surveillance Program in Latin America and the Caribbean (GASP-LAC), Buenos Aires. Argentina: 2-4 November, 2010. Disponível em: <[http://www.gasp-lac.net/docs/GASP-LAC\\_Meeting\\_Report\\_FINAL\\_Addendum.pdf](http://www.gasp-lac.net/docs/GASP-LAC_Meeting_Report_FINAL_Addendum.pdf)> Acesso em: 12 dez. 2011.

DEGUCHI, Takashi *et al.* Emergence and Spread of Drug Resistance Neisseria gonorrhoea. *J. Urol.(Baltimore)*, v. 184, n. 3, p. 851-858, Sept. 2010.

DILLON, Jo-Anne, *et al.* Challenges in the Control of Gonorrhoea in South America and the Caribbean: Monitoring the Development of Resistance to Antibiotics. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 33, n. 2, p. 87-95, Feb. 2006.

DILLON, Jo-Anne, *et al.* Reduced Susceptibility to Azithromycin and High Percentages of Penicilin and Tetracycline Resistance in Neisseria gonorrhoeae Isolates from Manaus, Brazil, 1998. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 28, n.9, p. 521-526, Sept. 2001.

DILLON, Jo-Anne R.; YEUNG, Kwok-Him.  $\beta$ -Lactamase Plasmids and Chromosomally Mediated Antibiotic Resistance in Pathogenic *Neisseria* Species. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, v. 2, Suppl., p. 5125-5133, Apr. 1989.

DUARTE, G. *et al.* Aumento da replicação do vírus da imunodeficiência humana Tipo 1 induzida por *Neisseria gonorrhoeae* na presença de leucócitos polimorfonucleares. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, Rio de Janeiro, v. 15, n. 3, p. 5-9, mar. 2003.

ENDERS, M.; TURNWALD-MASCHIER, A.; REGNATH, T. Antimicrobial resistance of *Neisseria gonorrhoeae* isolates from the Stuttgart and Heidelberg areas of southern Germany. *Eur. j. clin. microbiol. infect. dis.*, Berlin, v. 25, p. 318-322, 2006.

EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL. *Sexually Transmitted Infections in Europe 1990–2009*. Stockholm, 2011. Disponível em: <[http://ecdc.europa.eu/en/publications/110526\\_SUR\\_STI\\_in\\_Europe\\_1990-2009.pdf](http://ecdc.europa.eu/en/publications/110526_SUR_STI_in_Europe_1990-2009.pdf)>. Acesso em: 15 set. 2011.

EVANGELISTA, A. T.; BEILSTEIN, H. R.; ABRAMSON, C. *Cumitech 4A: Laboratory Diagnosis of Gonorrhoea*. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1993.

FENTON, Kelvin A. *et al.* Increasing gonorrhoea reports - not only in London. *Lancet*, London, v. 355, n. 9218, p.1907, May 2000. Disponível em: <http://download.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140673600023059.pdf>>. Acesso em: 24 set. 2012.

FERREIRA, Willian A. *et al.* Genotyping of two *Neisseria gonorrhoeae* fluoroquinolone-resistant strains in the Brazilian Amazon region. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro, v. 106, n. 5, p. 629-631, ago. 2011.

FERREIRA, Willian A. *et al.* Resistência da *Neisseria Gonorrhoeae* a antimicrobianos em Manaus: Período 2005-2006. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, Rio de Janeiro, v. 19, n. 2, p. 65-69, feb. 2007.

FERREIRA, Willian A. *et al.* Suscetibilidade de cepas de *Neisseria gonorrhoeae* aos antibióticos utilizados para o tratamento de uretrites e cervicites gonocócicas em ambulatório de DST de Manaus - Brasil. *DST j. bras. doenças sex. transm.*, Rio de Janeiro, v.13, n.6, p. 36-40, 2001.

FLEMING, Douglas T.; WASSERHEIT, Judith N. From epidemiological synergy to public health policy and practice: the contribution of other sexually transmitted diseases to sexual transmission of HIV infection. *Sex. transm. infect.*, London, v. 75, n. 1, p. 3-17, Feb.1999.



FOREST, Katrina T. *et al.* Assembly and antigenicity of *Neisseria gonorrhoeae* pilus mapped with antibodies. *Infect. Immun.*, Washington, v. 64, n. 2, p. 644-652, 1996.

GAIL, A. Bolan; SPARLING, P. Frederick; WASSERHEIT, Judith N. The Emerging Threat of Untreatable Gonococcal Infection. *N. Engl. J. Med.*, Boston, v. 366, n. 6, p. 485-487, Feb. 2012. Disponível em: <<http://www2.cfpc.ca/local/user/files/%7BA8415CAB-1E2F-4265-8645-1B23FD989ED3%7D/nejmGCp1112456.pdf>>. Acesso em: 15 fev. 2012.

GARRITY, George M. The Proteobacteria. *In: \_\_\_\_\_*. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. 2ª ed. New York: Springer, 2005. v. 2, p. 774-777.

HANDSFIELD, Hunter; SPARLING, P. Frederick. *Neisseria Gonorrhoea*. *In: MANDELL, G. L.; BENNETT, J. E.; DOLIN, R. Principles and practice of infectious diseases*. 7<sup>th</sup> ed. Philadelphia, PA.: Elsevier Churchill Livingstone, 2009. p. 1909-1927.

HOLMES, King K.; JOHNSON, David W.; TROSTLE, Henry J. An estimate of the risk of men acquiring gonorrhea by sexual contact with infected females. *Am. J. Epidemiol.*, Baltimore, v. 91, n. 2, p. 170-174, 1970.

HEART – Hepatitis & AIDS Research Trust. [site] Disponível em: <http://www.heart-intl.net/HEART/Medical/Comp/Introductiontobacteriology.htm>. Acesso em: 15 fev. 2012.

IEVEN, M. *et al.* Antimicrobial Susceptibilities of *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in Java, Indonesia. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 30, n. 1, p. 25-29, 2003.

ISON, Catherine A. *et al.* Gonorrhoea treatment failures to cefixime and azithromycin in England, 2010. *Euro surveill.*, Saint-Maurice, v.16, n. 14, Apr. 2011. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19833>>. Acesso em: 09 jun. 2011.

IVERSON, Christopher J. *et al.* Fluoroquinolone resistance among *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Hawaii, 1990-2000: role of foreign importation and increasing endemic spread. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 31, n. 12, p. 702-708, Dec. 2004.

KAMPMEIER, Rudolph H. Introduction of sulfonamide therapy for gonorrhoea. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 10, p. 81-4, 1983.

KATZ, Alan R. *et al.* Ciprofloxacin resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: trends in Hawaii, 1997–2002. *Lancet*, London, v. 362, n. 9382, p. 9382, August 2003. Disponível em: <<http://download.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140673603140846.pdf>> Acesso em: 19 abr. 2012.

KATZ, Alan R. *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* with high-level resistance to azithromycin: case report of the first isolate identified in the United States. *Clin. Infect. Dis.*, Chicago, v. 54, n. 6, p. 841-843, Dec. 2011.

KNAPP, Joan S. *Neisseria gonorrhoeae*. In: PERILLA, M. J. *Manual de laboratorio para la identificación y prueba de susceptibilidad a los antimicrobianos de patógenos bacterianos de importancia para la salud pública en el mundo en desarrollo*. Geneva: World Health Organization, 2004. p. 63-102. Disponível em: < <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16330s/s16330s.pdf> >. Acesso em: 14 jan. 2011.

KNAPP, Joan S.; KOUMANN, Emily H. *Neisseria* and *Branhamella*. In: MURRAY, Patrick R. *et al.* *Manual of clinical microbiology*. 7. ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1999. p. 586-603.

KNAPP, Joan S. *et al.* Serological classification of *Neisseria gonorrhoeae* with use of monoclonal antibodies to gonococcal outer membrane protein. *J infect dis.*, Chicago, v. 150, p. 44-48, 1984.

KONEMAN, Elmer W. *et al.* *Neisseria*. In: \_\_\_\_\_. *Diagnóstico microbiológico: texto e atlas colorido*. 6. ed. Rio de Janeiro, RJ: Guanabara Koogan, 2008. p. 503-550.

LO, J. Y.; HO, K. M.; LO, A.C. Surveillance of gonococcal antimicrobial susceptibility resulting in early detection of emerging resistance. *J. infect. chemother.*, Tokyo, v. 67, n. 6, p. 1422-1426, Feb. 2012.

LINDBERG, Robert *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* Isolates with Reduced Susceptibility to Cefixime and Ceftriaxone: Association with Genetic Polymorphisms in *penA*, *mtrR*, *porB1b*, and *ponA*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Washington, v. 51, n. 6, p. 2117–2122, June 2007.  
MAGALHÃES, M. Uretrite causada por *Neisseria gonorrhoeae* produtora de penicilinase: relato de um caso. *Rev. bras. patol. clín.*, Rio de Janeiro, v. 20, n. 4, p. 116-118, abr. 1984.

MARTIN, Irene, *et al.* Emergence and Characterization of *Neisseria gonorrhoeae* isolates with decreased susceptibilities to ceftriaxone and cefixime in Canada:2001-2010. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 39, n.4, p. 316-323, Apr. 2012.

MCCARTHY, Michael. Drug-resistant gonorrhoeae spread in the USA. *Lancet*, London, v. 369, n. 9573, p. 1592, May 2007. Disponível em: <<http://download.thelancet.com/pdfs/journals/lancet/PIIS0140673607607296.pdf>>. Acesso em: 19 abr. 2012.

MONFORT, Laura, *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* Genotyping Analysis in France: Identification of a Strain Cluster with Reduced Susceptibility to Ceftriaxone. *J. clin. microbiol.*, Washington, v. 47, n. 11, p. 3540-3545, Nov. 2009.

MARTIN, I. M.; HOFFMANN, S.; ISON, C. A. European Surveillance of Sexually Transmitted Infections (ESSTI): the first combined antimicrobial susceptibility data for *Neisseria gonorrhoeae* in Western Europe. *J. Antimicrob. Chemother.*, Washington, v. 58, n. 3, p.587-593, Sept. 2006.

MEHAFFEY, Philip C. *et al.* Evaluation of *in vitro* spectra of activity of azithromycin, clarithromycin, and erythromycin tested against strains of *N.gonorrhoeae* by reference agar dilution, disk diffusion, and Etest methods. *J. clin. microbiol.*, Washington, v. 34, n. 2, p. 479-481, Feb. 1996.

MORELLO, J. A.; BOHNHOFF, M. *Neisseria* and *Branhamella*. In: LENNETE, E. H. *et al.* *Manual of clinical microbiology*. 3<sup>rd</sup> ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1980.

NEWMAN, Lori M.; MORAN, John S.; WORKOWSKI, Kimberly A. Update on the Management of Gonorrhea in Adults in the United States. *Clin. infect. dis.*, Chicago, v. 44, Suppl. 3, p. 84-101, 2007.

OHNISHI, Makoto, *et al.* Ceftriaxone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae*, Japan. *Emerg. infect. dis.*, Atlanta, v. 17, n. 1, Jan. 2011a. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3201/eid1701.100397>>. Acesso em: 10 jun. 2011.

OHNISHI, Makoto, *et al.* Identification of TEM-135  $\beta$ -Lactamase in Penicillinase -Producing *Neisseria gonorrhoeae* Strains in Japan. *Antimicrob. agents chemother.* Washington, v. 54, n. 7, p. 3021-3023, July 2010.

OHNISHI, Makoto, *et al.* Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea? Detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. *Antimicrob. Agents Chemother.*, Washington, v. 55, n.7, p. 3538–3545, July 2011b.

ORGANIZACION PANAMERICANA DE LA SALUD (OPAS). *Informe Anual de la Red de Monitoreo / Vigilancia de la Resistencia a los Antibioticos - 2008*. San Salvador, El Salvador, 2008. Disponível em: <[http://new.paho.org/hss/dmdocuments/AMR\\_Red\\_Monitoreo\\_Vigilancia\\_Resistencia\\_Antibioticos\\_Informe\\_2008.pdf](http://new.paho.org/hss/dmdocuments/AMR_Red_Monitoreo_Vigilancia_Resistencia_Antibioticos_Informe_2008.pdf)>. Acesso em: 19 abr. 2011.

ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS). *Módulos de capacitación para el manejo sindrómico de las infecciones de transmisión sexual: Módulo 2: Introducción al manejo sindrómico de casos de ITS*. 2. ed. Ginebra, 2008. v. 8.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE (OMS). *Orientações para o tratamento de infecções sexualmente transmissíveis*. Genebra, 2005. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/portuguese/9248546269\\_por.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/portuguese/9248546269_por.pdf)>. Acesso em 15 fev. 2011.

PASSOS, Mauro R. Leal, *et al.* Gonorreia. In: PASSOS, M. R. L. *Doenças sexualmente transmissíveis*. 4ª ed. Rio de Janeiro: Cultura Médica, 1995. cap. 8, p. 31-45.

PENNA, Gerson Oliveira; HAJJAR, Ludhmila Abrahão; BRAZ, Tatiana Magalhães. Gonorréia. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, São Paulo, v. 33, n. 5, p. 451-464, set./out. 2000.

PIOT, P.; ISLAM, M. Q. Sexually transmitted diseases in the 1990s. Global epidemiology and challenges for control. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 21, suppl. 2, p. 7-13, 1994.

REYN, Alice. Sensitivity of n. Gonorrhoeae to antibiotics. *Br. J. Vener. Dis.*, , v. 37, n. 145, p.145-157, 1961.

ROBERTS, Marilyn C. Plasmids of *Neisseria gonorrhoeae* and other *Neisseria* species. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, v. 2, Suppl., p. 18-23, April 1989.

RØTTINGEN, John-Arne; CAMERON, D. William; GARNETT, Geoffrey P. A systematic review of the epidemiologic interactions between classic sexually transmitted diseases and HIV: How much really is known? *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 28, n. 10, p. 579-597, Oct. 2001.

SANTOS Jr, Manuel F. Queiroz; SIQUEIRA, Luiz F. Góes. Gonorreia. In: VERONESI, Ricardo; FOCACCIA, Roberto. *Tratado de infectologia*. 4ª ed. São Paulo: Atheneu, 2010. p.1459-1464.

SARAFIAN, Samuel K.; KNAPP, Joan S. Molecular Epidemiology of Gonorrhoea. *Clin. Microbiol. Rev.*, Washington, v. 2, p. 49-55, Apr. 1989.

SAVAGE, E. J. *et al.* Syphilis and gonorrhoea in men who have sex with men: a European overview. *Eurosurveillance*, v. 14, n. 47, 2009. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19417>> Acesso em: 10 Apr. 2012.

SMÂNIA, A. *et al.* Resistência a agentes antimicrobianos de amostras de *Neisseria gonorrhoeae* isoladas em Florianópolis - SC. *Rev. Microbiol.*, São Paulo, v. 22, n. 4, p. 308-312, abr. 1991.

STARNINO, S. *et al.* Retrospective Analysis of Antimicrobial Susceptibility Trends (2000-2009) in *Neisseria gonorrhoeae* Isolates from Countries in Latin America and the Caribbean Shows Evolving Resistance to Ciprofloxacin, Azithromycin and Decreased Susceptibility to Ceftriaxone. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 39, n. 10, p. 813-821, Oct. 2012.

TANAKA, Masatoshi *et al.* High prevalence of *Neisseria gonorrhoeae* strains with reduced susceptibility to fluoroquinolones in Japan. *Genitourin. Med.*, London, v. 70, n. 2, p. 90-93, Apr. 1994.

TAPSALL, John W. Antibiotic Resistance in *Neisseria gonorrhoeae*. *Clin. Infect. Dis.*, Chicago, v. 41, supp 4, p. 263-268, 2005. Disponível em: <[http://cid.oxfordjournals.org/content/41/Supplement\\_4/S263.full.pdf](http://cid.oxfordjournals.org/content/41/Supplement_4/S263.full.pdf)>. Acesso em: 19 abr. 2011.

TAPSALL, John W. *Antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae*. Geneva: World Health Organization, 2001. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.3. Disponível em: <[http://www.who.int/drugresistance/Antimicrobial\\_resistance\\_in\\_Neisseria\\_gonorrhoeae.pdf](http://www.who.int/drugresistance/Antimicrobial_resistance_in_Neisseria_gonorrhoeae.pdf)>. Acesso em: 10 dez. 2011.

TAPSALL, John W. *Neisseria gonorrhoeae* and emerging resistance to extended spectrum cephalosporins. *Curr. opin. infect. dis.*, London, v. 22, n. 2, p. 87-91, Feb. 2009.

TAPSALL, John W. *et al.* Failure of azithromycin therapy in gonorrhoea and dis correlation with laboratory test parameters. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 25, n. 10, p.505-508, Oct. 1998.

TAPSALL, John W. *et al.* Meeting the public health challenge of multidrug- and extensively drug-resistant *Neisseria gonorrhoeae*. *Expert rev. ant. infect. ther.*, London, v.7, n. 7, p. 821-834, July 2009.

THAYER, J. D.; MARTIN Jr, J. E. Improved medium selective for the cultivation of *N. gonorrhoeae* and *N. meningitidis*. *Public health*, London, v. 81, p.559-562, 1966.

UEHARA, Aline A. *et al.* Molecular Characterization of Quinolone-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* Isolates from Brazil. *J. clin. microbiol.*, Washington, v. 49, n. 12, p. 4208-4212, Dec. 2011.

UMENO, Magnus, *et al.* Phenotypic and genetic characterization of the 2008 WHO *Neisseria gonorrhoeae* reference strain panel intended for global quality assurance and quality control of gonococcal antimicrobial resistance surveillance for public health purposes. *J. infect. chemother.*, Tokyo, v. 63, n. 6, p. 1142-1151, Feb. 2009.

UNEMO, Magnus, *et al.* Two cases of verified clinical failures using internationally recommended first-line cefixime for gonorrhoea treatment, Norway, 2010. *Euro surveill.*, Saint-Maurice, v. 15, n. 47, Nov. 2010. Disponível em: <<http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=19721>>. Acesso em: 09 jun. 2011.

VAN CAO, Ratsima E. *et al.* Antimicrobial Susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* Strains Isolated in 2004–2006 in Bangui, Central African Republic; Yaoundé, Cameroon; Antananarivo, Madagascar; and Ho Chi Minh Ville and Nha Trang, Vietnam. *Sex. transm. dis.*, Philadelphia, v. 35, n.11, p. 941-945, Nov. 2008.

VAN DEN HOEK, J. A. R.; GRIENSVEN, G. J. P.; COUTINHO, R. A. Increase in unsafe homosexual behaviour. *Lancet*, London, v. 336, n. 8708, p.179-180, 1990.

VAN DYCK, E; MAHEUS, A. Z.; PIOT, P. Gonorrhoea. In:\_\_\_\_\_. *Laboratory diagnosis of sexually transmitted diseases*. Geneve: World Health Organization; 1999. cap. 1, p. 1-21.

VAN DYCK, E.; SMET, H; PIOT, P. Comparison of Etest with agar dilution for antimicrobial susceptibility testing of *N. gonorrhoeae*. *J. clin. microbiol.*, Washington, v. 32, n. 6, p. 1586-1588, June 1994.

WAGENVOORT, J. H. *et al.* Resistance of *Neisseria gonorrhoeae* to enoxacin. *J. Antimicrob. Chemother*, Washington, v. 18, n. 3, p. 429, Sept. 1986.

WANG, Susan A. *et al.* Multidrug-Resistant *Neisseria gonorrhoeae* with decreased susceptibility to cefixime- Hawaii, 2001. *Clin. infect. dis.*, Chicago, v.37, p. 849-852, Sept. 2003.

WEINSTOCK, Hillard; WORKOWSKI, Kimberly A. Pharyngeal Gonorrhoea: An Important Reservoir of Infection? *Clin. infect. dis.*, Chicago, v. 49, n. 12, p. 1798-1800, Dec. 2009.

WORKOWSKI Kimberly A.; BERMAN Stuart M. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2010. *MMWR*, Atlanta, v. 59, n. RR-12, p. 49-59, 2010. Disponível em < <http://www.cdc.gov/std/treatment/2010/std-treatment-2010-rr5912.pdf>>. Acesso em 18 jun. 2011.

WORKOWSKI, Kimberly A.; BERMAN, Stuart M.; DOUGLAS Jr, John M. Emerging antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae*: Urgent Need to Strengthen Prevention Strategies. *Ann. intern. med.*, Philadelphia, v. 148, n. 815, p. 606-613, Apr. 2008.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Emergence of multi-drug resistant "Neisseria gonorrhoeae" – Threat of global rise in untreatable sexually transmitted infections* Department of Reproductive Health and Research. Geneva, 2011. Disponível em: [http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/whorhr\\_11\\_14/en/index.html](http://www.who.int/reproductivehealth/publications/rtis/whorhr_11_14/en/index.html). Acesso em: 28 jul. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in Neisseria gonorrhoeae*. Geneva, 2012. Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503501\\_eng.pdf](http://whqlibdoc.who.int/publications/2012/9789241503501_eng.pdf)>. Acesso em: 18 jan. 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates*. Geneva, 2001. Disponível em: <[http://www.who.int/hiv/pub/sti/who\\_hiv\\_aids\\_2001.02.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/sti/who_hiv_aids_2001.02.pdf)>. Acesso em: 19 ago. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). *Sexually transmitted infections*. Geneva, 2011. Disponível em: < <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs110/en/>>. Acesso em: 10 set. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), Western Pacific Gonococcal Antimicrobial Surveillance Programme. Surveillance of antibiotic resistance in *Neisseria gonorrhoeae* in the WHO Western Pacific Region, 2006. *Commun. dis. intell.*, Canberra, v. 32, n. 1, p. 48-51, Mar. 2008. < Disponível em: <[http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-cdi3201-pdf-cnt.htm/\\$FILE/cdi3201e.pdf](http://www.health.gov.au/internet/main/publishing.nsf/content/cda-cdi3201-pdf-cnt.htm/$FILE/cdi3201e.pdf)>. Acesso em: 02 mar. 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO); CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION (CDC). *Consultation on the strategic response to the threat of Untreatable Neisseria gonorrhoeae and Emergence of Cephalosporin Resistance in Neisseria gonorrhoeae*. Manila, Philippines 7-9 April, 2010.

ZHANG, Jizhong, *et al.* *Neisseria gonorrhoeae* enhances infection of dendritic cells by HIV type 1. *J. Immunol.*, Baltimore, v. 174, n. 12, p. 7995-8002, June 2005.

# APÊNDICES



**APÊNDICE A – FORMULÁRIO DE REGISTRO DE DADOS DA PESQUISA****FORMULÁRIO DE REGISTRO DE DADOS DA PESQUISA “Estudo da Frequência e da Resistência da *Neisseria gonorrhoea* em pacientes Atendidos no Centro Referencial Público para Doenças Sexualmente Transmissíveis de Belo Horizonte”****DADOS DO PACIENTE****Nº PESQUISA:**

- 1- Sexo:  Masculino  Feminino
- 2- Idade:  anos
- 3- Escolaridade:  Fundamental  Médio  Superior
- 4- Renda:  S/renda  Até 1 salário  
 1 a 2 salário  > 2 salários
- 5- Número de parceiros no último ano:
- 6-  Parceiro fixo (> 6 meses):  
 Novo parceiro nos últimos 3 meses  
 Mais de 1 parceiro nos últimos 3 meses
- 7- Uso de preservativo:  Sempre  Não usa com parceira  
fixa  Às vezes  Nunca
- 8- Passado de DST:  Sim  Não  Não sabe
- 9- Parceiro (a) com sintoma de DST (corrimento):  SIM  Não

## APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Prezado (a) paciente,

Você está sendo convidado (a) a participar de uma pesquisa que será desenvolvida no Serviço de Doenças Sexualmente Transmissíveis da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul. O objetivo deste estudo é conhecer a prevalência da gonorreia na Unidade de saúde e o perfil de sensibilidade da bactéria causadora da doença aos antibióticos, na região de Belo Horizonte.

Para sua participação no estudo, precisaremos usar amostras de secreção uretral ou muco cervical, além de consultar os dados do seu prontuário. O procedimento de coleta não apresenta riscos significativos à saúde, podendo ocorrer eventualmente hematoma decorrente de coleta de sangue e, nas mulheres, pequenos sangramentos no colo uterino, semelhante ao exame preventivo. Serão utilizados materiais de coleta descartáveis e de boa qualidade.

Os dados clínicos e o material coletado serão usados somente para esta pesquisa, e os resultados serão mantidos em sigilo. Seu nome e sua participação na pesquisa não serão divulgados.

Sua participação nesse estudo é completamente voluntária. Você tem o direito de se recusar a participar a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você.

Caso necessite de maiores esclarecimentos a respeito desta pesquisa, por favor, entre em contato com:

- Pesquisadores:

Ênio Roberto Pietra Pedroso/ Tel: (031) 3409 96 40

Lígia Maria Bedeschi Costa: Rua Carijós 528, 6º andar- Centro / Tel: (031) 3277 69 97

- CEP/Secretaria Municipal de Saúde-Prefeitura de Belo Horizonte: Av. Afonso Pena, 2336, 9º andar - Funcionários / Tel: (031) 3277-53 09

- COEP/UFGM: Av. Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativa II sala 2005-Campus Pampulha/ Tel: (031) 3409-45 92

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito do estudo e estou de acordo em participar da pesquisa acima.

Paciente:-----

Pesquisadora:-----

Belo Horizonte, ----- de ----- de 2011

## APÊNDICE C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO / PAIS OU RESPONSÁVEIS

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO / PAIS OU RESPONSÁVEIS

Prezado (a) responsável pelo (a) paciente atendido no Serviço de Doenças Sexualmente Transmissíveis/AIDS da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul,

Solicito sua autorização para participação do (a) paciente na pesquisa que será desenvolvida na Unidade. O objetivo deste estudo é conhecer a prevalência da gonorreia na unidade de saúde e o perfil de sensibilidade da bactéria causadora da doença aos antibióticos, na região de Belo Horizonte.

Para sua participação no estudo, precisaremos usar amostras de secreção uretral ou muco cervical, além de consultar os dados do seu prontuário. O procedimento de coleta não apresenta riscos significativos à saúde, podendo ocorrer eventualmente hematoma decorrente de coleta de sangue e, nas mulheres, pequenos sangramentos no colo uterino, semelhante ao exame preventivo. Serão utilizados materiais de coleta descartáveis e de boa qualidade.

Os dados clínicos e o material coletado serão usados somente para esta pesquisa, e os resultados serão mantidos em sigilo. Seu nome e sua participação na pesquisa não serão divulgados.

Sua participação nesse estudo é completamente voluntária. Você tem o direito de se recusar a participar a qualquer momento sem nenhum prejuízo para você.

Caso necessite de maiores esclarecimentos a respeito desta pesquisa, por favor, entre em contato com:

- Pesquisadores:

Ênio Roberto Pietra Pedroso/ Tel: (031) 3409 96 40

Lígia Maria Bedeschi Costa: Rua Carijós 528, 6º andar- Centro / Tel: (031) 3277 6997

- CEP: Secretaria Municipal de Saúde/ Prefeitura de Belo Horizonte: Av. Afonso Pena, 2336, 9º andar - Funcionários / Tel: (031) 3277-53 09

- COEP/UFGM: Av. Antônio Carlos 6627, Unidade Administrativa II sala 2005- Campus Pampulha/ Tel: (031) 3409-45 92

Acredito ter sido suficientemente esclarecido a respeito do estudo e estou de acordo em participar da pesquisa acima.

Responsável: -----

Pesquisadora: -----

Belo Horizonte, ----- de ----- de 2011.

# **ANEXOS**


**ANEXO A – AUTORIZAÇÃO PARA REALIZAÇÃO DA PESQUISA NA URS-CS/SMSA****DECLARAÇÃO**

Declaro para os devidos fins, a concordância e o interesse dos profissionais do Centro de Treinamento e Referência em Doenças Sexualmente Transmissíveis da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul – Prefeitura de Belo Horizonte em participar do Projeto de pesquisa intitulado “Estudo da Frequência e da Resistência da *Neisseria gonorrhoeae* em Pacientes Atendidos no Centro Referencial Público para as Doenças Sexualmente Transmissíveis de Belo Horizonte”.

Esse projeto será conduzido pela pesquisadora Lígia Maria Bedeschi Costa, sob orientação do Professor Ênio Roberto Pietra Pedroso.

Encontram-se, portanto autorizados os procedimentos de coleta de amostras nos pacientes atendidos neste serviço e que irão participar do referido projeto de pesquisa.

Belo Horizonte, 10 de junho de 2010.

  
Maria Helena Nunes Vieira  
Gerente da Unidade de Referência Secundária Centro-Sul/Prefeitura de Belo Horizonte

M<sup>te</sup> Helena Nunes Vieira  
COREN-MG 15187 BH 78131-6  
GERENTE URS POLICLÍNICA CENTRO SUL  
GEREN - CS / SANMU - CS

**ANEXO B – APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA NO CEP/SMSA/BH****Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte  
Comitê de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos**

Parecer nº 0031.0.410.203-10A

CAAE: 0031.0.410.203-10

Pesquisador responsável: Ênio Roberto Pietra Pedroso

O Comitê de Ética em Pesquisa da Secretaria Municipal de Saúde de Belo Horizonte - CEP/SMSA/BH aprovou em 17 de junho de 2011, o projeto de pesquisa intitulado "ESTUDO DA FREQUÊNCIA E DA RESISTÊNCIA DA *NEISSERIA GONORRHOEA* EM PACIENTES ATENDIDOS NO CENTRO REFERENCIAL PÚBLICO PARA DOENÇAS SEXUALMENTE TRANSMISSÍVEIS DE BELO HORIZONTE".

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao CEP um ano após início do projeto ou ao final deste, se em prazo inferior a um ano.

**Rosiene Maria de Freitas**

Coordenadora do CEP/SMSA/BH  
Rosiene Maria de Freitas - DM: 1111-1111  
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa  
SMSA/BH



**ANEXO C – APROVAÇÃO DO PROJETO DE PESQUISA NO COEP/UFMG**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - COEP

**Projeto: CAAE – 0031.0.410.203-10**

**Interessado(a): Prof. Ênio Roberto Pietra Pedroso**  
**Departamento de Clínica Médica**  
**Faculdade de Medicina - UFMG**

**DECISÃO**

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou, no dia 08 de agosto de 2011, após atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado "**Estudo da frequência e da resistência da *Neisseria gonorrhoea* em pacientes atendidos no Centro Referencial Público para doenças sexualmente transmissíveis de Belo Horizonte**" bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.

**Profa. Maria Teresa Marques Amaral**  
**Coordenadora do COEP-UFMG**

## ANEXO D - FLUXOGRAMA DE ATENDIMENTO DA URS-CS /SMSA PBH

