

PREVALÊNCIA DE ACTINOMYCES SP., BACILOS SUPRACITOPLASMÁTICOS, CHLAMYDIA TRACHOMATIS, HERPES SIMPLEX E TRICHOMONAS VAGINALIS EM EXAMES CERVICAIS CITOPATOLÓGICOS NA BAHIA ENTRE 2006 E 2014

Thayra Gomes dos Santos¹
Daniel Paranhos de Carvalho²
Marcus Vinícius Alves Lima³

RESUMO

Este estudo teve o objetivo de analisar a prevalência de infecções que acometem o trato cervical da população feminina da Bahia. Trata-se de um estudo ecológico com prospecção de dados secundários inerentes ao período de 2006 a 2014 das bases SISCOLO e IBGE. Dos 4.902.101 exames citopatológicos registrados, 17% foram positivos para *Actinomyces sp.*, bacilos supracitoplasmáticos, *Chlamydia trachomatis*, Herpes simplex e *Trichomonas vaginalis*. Os Bacilos supracitoplasmáticos foram os microrganismos mais frequentes e o estrato etário de 20 a 39 anos os mais acometidos. Salvador e Feira de Santana foram os municípios com o maior número de casos. A redução significativa dos registros positivos para estes microrganismos no intervalo de tempo analisado sugere eficácia das intervenções implementadas na região pelos órgãos competentes.

Palavras-chave: Vaginose Bacteriana; Vaginite; Infecções do trato cérvico vaginal.

ABSTRACT

This study aimed to analyze the prevalence of infections that affect the cervical tract of the female population of Bahia. This is an ecological study with prospection of secondary data inherent to the period from 2006 to 2014 of the SISCOLO and IBGE databases. Of the 4,902,101 cytopathological examinations recorded, 17% were positive for *Actinomyces spp.*, bacterial vaginosis, *Chlamydia trachomatis*, Herpes simplex and *Trichomonas vaginalis*. bacterial vaginosis infections were the most frequent microorganisms and the 20 to 39 years old age group was the most affected. Salvador and Feira de Santana were the cities with the highest number of cases. The significant reduction in the positive records for these microorganisms in the analyzed time interval suggests the effectiveness of the interventions implemented in the region by the competent agencies.

Keywords: Bacterial vaginosis; Vaginitis; Vaginal tract infections.

INTRODUÇÃO

O trato cérvico-vaginal possui diversos mecanismos de defesa para manter o equilíbrio local, a exemplo da microbiota endógena composta por *Lactobacilos sp.* e, em menor quantidade, *Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus spp.*, chamados de bacilos supracitoplasmáticos (KOSS; GOMPEL, 2006). Quando ocorre uma desregulação do pH, seja por fatores intrínsecos ou extrínsecos, pode ocorrer a proliferação acentuada de microrganismos endógenos, que quando em excesso desencadeia quadros de vaginose bacteriana (VB). Essa desregulação também facilita a colonização por outros microrganismos,

¹ Bacharel em Biomedicina da Universidade Salvador. E-mail: thayra.gomes@hotmail.com

² Bacharel em Biomedicina da Universidade Salvador. E-mail: daniel_paranhos02@hotmail.com

³ Docente da Universidade Salvador, Escola Bahiana de Medicina e Saúde Pública, Faculdade de Tecnologia e Ciências e Universidade Estácio de Sá. Biomédico, especialista em citologia oncológica e mestre em Biotecnologia em Saúde e Medicina Investigativa pela Fundação Oswaldo Cruz. E-mail: marcus.lima@unifacs.br

ocasionando quadros clínicos assintomáticos ou sintomáticos, com prurido, leucorreia, disúria e dispareunia (LINHARES; GIRALDO; BARACAT, 2010).

A *Chlamydia trachomatis* é uma bactéria intracelular que se apresenta como um bastonete gram negativo e induz a formação de inclusões intracitoplasmáticas na célula infectada. Embora ocasione infecção geralmente assintomática, pode provocar danos graves e permanentes, como esterilidade. (CARLOTTO et al., 2008; DIELISSSEN; TEUNISSEN; LAGRO-JANSSEN, 2013; JIMÉNEZ et al., 2001).

O *Actinomyces sp.* é uma bactéria filamentosa gram positiva, cuja infecção geralmente está associada a usuárias de dispositivo intrauterino (DIU). Além de desencadear quadros clínicos assintomáticos, pode induzir uma intensa reação inflamatória que pode culminar com a esterilidade (CONSOLARO; MARIA-ENGLER, 2012; PERFOLL; PAGANI, 1983). No diagnóstico laboratorial pela análise do esfregaço cervical, podem ser observados filamentos agregados das unidades bacterianas, semelhantes a porções de algodão (KOSS; GOMPEL, 2006).

O *Trichomonas vaginalis* é um protozoário flagelado que apresenta elevada patogenicidade em ambientes com pH entre 5 e 6, acometendo principalmente o sistema urogenital (KOSS; GOMPEL, 2006). Este protozoário tem se destacado como um dos principais patógenos sexualmente transmissíveis, estando associado a sérias complicações de saúde, sendo que 90% das infecções ocorrem no sexo feminino (BRAVO et al., 2010; MACHADO; SOUZA, 2013).

O Herpes simplex é um vírus de DNA de fita dupla que pode se expressar no corpo em casos de supressão imunológica. As células infectadas podem apresentar multinucleação e aspecto de vidro fosco (células de Tzank) (CONSOLARO; MARIA-ENGLER, 2012). O vírus Herpes simplex tipo 2 (HSV-2) é o tipo mais frequente que acomete o trato genital (WEISS, 2004). Indivíduos infectados podem apresentar eritema focal, rupturas nas mucosas e risco mais elevado de complicações associadas a outras IST's. (LOOKER; GARNETT; SCHMID, 2008; PENELLO et al., 2010).

De acordo com a OMS, a morbidade por estes agentes infecciosos apresentou um aumento significativo ao longo da última década. No território brasileiro, existem poucos estudos epidemiológicos sobre estes agravos tornando o assunto pouco abordado ou negligenciado. Devido à escassez de informações científicas sobre as taxas de morbidade associadas aos referidos patógenos no estado da Bahia, este estudo se propôs analisar a frequência das infecções cervicais por bacilos supracitoplasmáticos, Herpes simplex,

Trichomonas vaginalis, *Actinomyces sp.* e *Chlamydia trachomatis* entre os anos de 2006 e 2014 (FARIAS; SILVA, 2015; WHO, 2001). As informações geradas poderão ser utilizadas por órgãos competentes para implementação e/ou aperfeiçoamento de medidas de prevenção e diagnóstico para a referida população.

METODOLOGIA

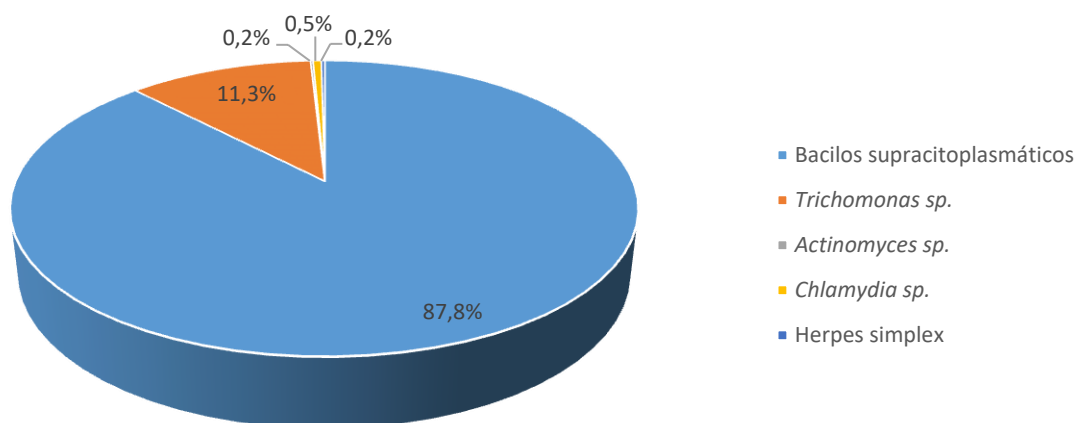
Foi realizado uma pesquisa ecológica a partir de dados secundários do Sistema de informação de controle do Câncer de Colo do Útero (SISCOLO), disponibilizado pelo DATASUS, para obtenção das taxas de morbidade relacionadas a infecções do trato cérvico-vaginal durante os anos de 2006 a 2014 no estado da Bahia. Os dados demográficos foram obtidos no Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE). Foram utilizadas variáveis do SISCOLO, como os microrganismos epidemiologicamente relevantes (*Bacilos* supracitoplasmáticos, *Herpes simplex*, *Trichomonas vaginalis*, *Actinomyces sp.* e *Chlamydia trachomatis*), distribuídos por faixa-etária, tempo do último preventivo e estratificação por municípios baianos. A amostra populacional fora o gênero feminino, estratificado em grupos etários de 0 a 19 anos, 20 a 39 anos, 40 a 59 anos e maior ou igual a 60 anos. Deste modo foi obtido grupos etários de jovens, jovens adultos, adultos e idosos. Para análise de dados, foi utilizado o programa Microsoft Excel 2013 para tabulação, onde calculamos a prevalência (casos/população) e frequência (casos/nº exames realizados). Esses dados foram expressos pelo método da porcentagem. Neste estudo, os riscos para a população foram nulos pois os dados foram prospectados de um banco de domínio público.

RESULTADOS

Segundo o censo de 2010 do IBGE, o estado da Bahia possui uma população de aproximadamente 7.138.640 mulheres, sendo que de acordo com o SISCOLO, no período de janeiro de 2006 a dezembro de 2014 foram realizados 4.902.101 exames preventivos no estado e 898.379 exames em Salvador. Dos exames realizados no estado, 17% (833.639) constatarem positividade para um dos agentes infecciosos estudados (IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA, 2010).

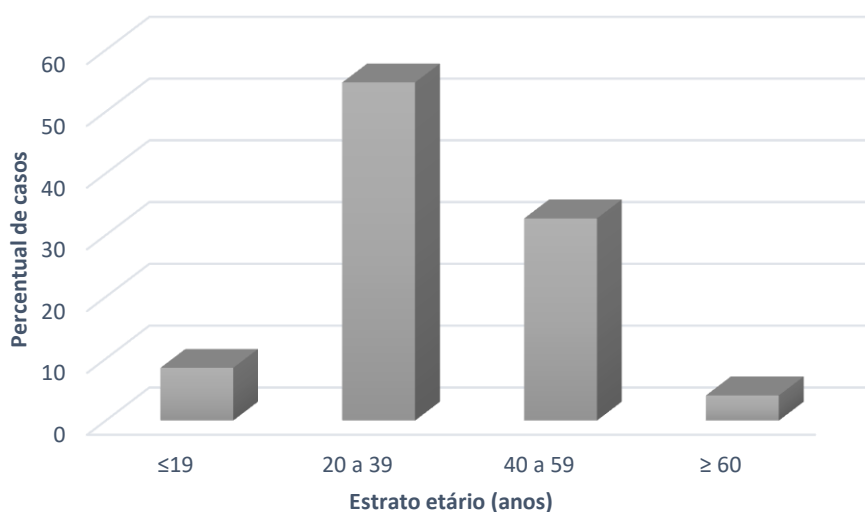
Dentre os exames citopatológicos positivos para os microrganismos elencados, 87,8% evidenciaram bacilos supracitoplasmáticos, 11,3% *T. vaginalis*, 0,5% *C. trachomatis*, 0,2% *Actinomyces sp.* e 0,2% *Herpes simplex* (**Figura 1**). Os bacilos supracitoplasmáticos foram os microrganismos mais prevalentes na amostra populacional estudada (14,92%; n=731.713), seguidos por *T. vaginalis* (1,93%; n=94.562), *Actinomyces sp.* (0,03%; n=1.289), *C. trachomatis* (0,09%; n=4.212) e *Herpes simplex* (0,04%; n=1.863).

Figura 1 - Distribuição de microrganismos potencialmente patogênicos detectados em exames cervicais citopatológicos de mulheres da Bahia entre 2006 e 2014



Quanto a idade das mulheres que apresentaram resultados positivos para os patógenos estudados, o estrato etário mais acometido foi o de mulheres adultas jovens de 20 a 39 anos (n=456.160; 54,72%) seguido do de 40 a 59 anos (n=272.537; 32,69%), jovens de até 19 anos (n=70.995; 8,52%) e mulheres acima de 60 anos (n=33.947; 4,07%) (**Figura 2**).

Figura 2 - Distribuição por faixa etária dos casos positivos para microrganismos potencialmente patogênicos em amostras cervicais na Bahia, 2006-2014

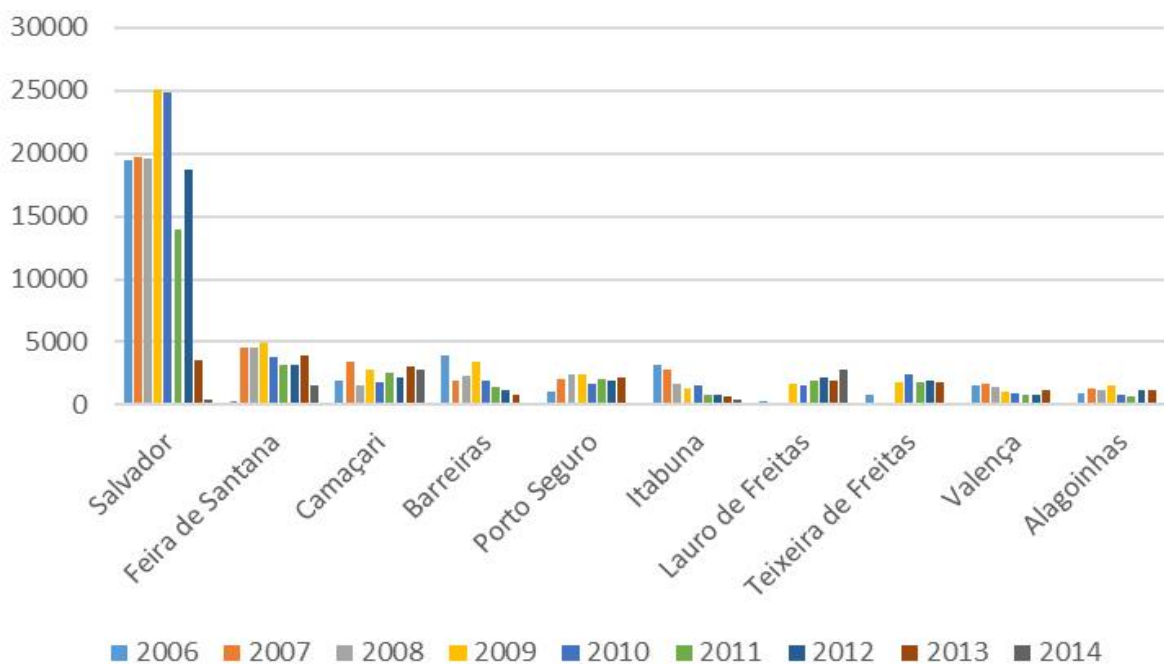


Em relação ao tempo do último preventivo, o sistema SISCOLO desvela dados de cerca de 3.784.080 exames no período de 2006 a 2014. Destes exames, 16,5% (n=623.942) foram positivos para um dos patógenos analisados. Das mulheres que apresentaram alteração na microbiota endógena cervical, 4,65% (n=29.055) haviam realizado exame no mesmo ano, 49% (n=303.413) no ano anterior, 24% (n=153.564) há dois anos, 9,18% (n=57.288) há três anos, 3,66% (n=22.829) há quatro anos e 5,55% (n=34.657) há mais de cinco anos. Não registro desta informação 23.136 mulheres.

Quanto a distribuição espacial das infecções do trato cervical, os municípios que apresentaram maior quantidade de registros na Bahia nos anos de 2006 a 2014 foram Salvador (n=145.337), Feira de Santana (n=29.547 casos), Camaçari (n=22.126), Barreiras (n=16.923), Porto Seguro (n=16.041), Itabuna (n=13.119), Lauro de Freitas (n=12.660), Teixeira de Freitas (n=10.503), Valença (n=9.601) e Alagoinhas (n=8.886). Conforme a **Figura 3**, Salvador a partir de 2006 apresentou cerca de 19.500 casos positivos, teve seu ápice em 2009 com 25.111 casos e redução sequencial a partir de 2012. Feira de Santana apresentou um aumento do número de casos a partir de 2006 (n=357), tendo ápice também em 2009 (n=4.976) e redução até o ano de 2014 (n=1.489). Camaçari, em 2006, apresentou cerca de 1.931 casos, tendo ápice em 2007 com 3.393 casos. Barreiras apresentou cerca de 3.919 casos no primeiro ano de estudo, tendo redução sequencial de 2009 a 2014 (n=220). Porto Seguro iniciou com 1.049 casos, apresentando em 2009 o maior número de casos (n=2.435) e em 2014 o menor número de casos (n= 354). Itabuna apresentou em 2006 o

maior número de casos e em 2014 a menor quantidade de registros (n=384). Lauro de Freitas apresentou 335 casos em 2006, e 2.847 casos em 2014. Teixeira de Freitas registrou 773 casos em 2006 e 2.482 2010. Valença apresentou a maior quantidade de registros em 2007 (n=1.706) e a menor quantidade em 2014 (n=146). Alagoinhas teve a maior quantidade casos em 2009 (n=1.527), tendo apenas 1 registro em 2014.

Figura 3 - Número de casos das infecções do trato cervical por ano dos dez municípios mais afetados no estado da Bahia, 2006-2014.



DISCUSSÃO

As infecções cérvico-vaginais se apresentaram em sua maioria sendo vaginose causadas por bacilos supracitoplasmáticos, como *Gardnerella sp.* e *Mobiluncus sp.*. De acordo com Bagnall e colaboradores, a vaginose bacteriana (VB) afeta aproximadamente 30% das mulheres globalmente. Diversos estudos, como o trabalho de Bonfati e Gonçalves em 2011, relataram que no Brasil 38% das mulheres atendidas em um hospital universitário no Rio Grande do Sul foram diagnosticadas com VB, enquanto que nos países desenvolvidos, as taxas de VB são menores, variando de 19-30%. De acordo com Nugent, no continente africano é onde se encontra as maiores taxas de VB no mundo, variando de 30-70%. Estudos internacionais sugerem que a taxa de infecção pelo vírus herpes simples está ascendendo e que se trata de uma das mais frequentes doenças transmissíveis sexualmente. Segundo Paz-

Bailey e colaboradores, nos EUA a prevalência de HSV-2 aumentou em mulheres adultas de 16,4% para 21,7% no período de 1976 a 1994. Vale ressaltar, que a incidência anual desse vírus nos EUA é de 1,75 em cada 1.000 habitantes, enquanto na Inglaterra é de cerca de 1 a cada 1.000 habitantes (BAGNALL; RIZZOLO, 2017; BONFANTI; GONÇALVES, 2011; NUGENT; KROHN; HILLIER, 1991; PAZ-BAILEY et al., 2007).

Na França, Goulet e colaboradores em 2010, avaliaram cerca de 50.000 amostras de mulheres entre 18-44 anos e observaram que a prevalência de Clamídia, foi cerca 1,6% dessas amostras. Wilson, observou que há uma alta prevalência desse agente na Europa, variando de cidade/país europeu, cerca de 1.7-17%. Em 2008, Barcelos e colaboradores, avaliaram mulheres atendidas em uma Unidade Básica de Saúde e observaram uma maior prevalência em VB 21,3%, seguida por Chlamydia 7,4% e tricomoníase 2%. Um estudo realizado no Paraná por Storti-Filho e colaboradores examinaram cerca de 130.000 mulheres e observaram uma prevalência de tricomoníase de aproximadamente 1,44%. No entanto, observamos no nosso estudo uma prevalência maior de *Trichomonas sp.* no estado da Bahia, contrastando com outros trabalhos que apontam a Clamídia sp. com maior frequência em relação a *Trichomonas sp.* (BARCELOS et al., 2008; GOULET et al., 2010; STORTI-FILHO et al., 2009).

Na Turquia em 2012, Haltas e colaboradores analisaram 23.298 amostras cervicais no período de 2007-2011 e observaram baixa prevalência de *Actinomyces spp.*, aproximadamente 0,13%. A baixa prevalência também foi relatada no nosso estudo e acredita-se que a ocorrência de *Actinomyces* é mais frequente em usuárias do DIU e aparece em 3 a cada 13 usuárias (HALTAS; BAYRAK; YENIDUNYA, 2012).

Em relação a faixa etária, alguns autores obtiveram resultados divergentes. De acordo com Lara e colaboradores, em um estudo realizado a partir de 5000 exames em Belo Horizonte, mulheres no estrato etário de 21-40 anos eram mais acometidas. Um trabalho conduzido por Morris evidenciou que mulheres com a faixa etária acima de 25 anos eram mais acometidas. Em contrapartida com esses autores, Tanaka e colaboradores, observaram maior prevalência de VB em mulheres na faixa etária de 41-50 anos, cerca de 61%. Todavia, é possível questionar se a diferença é em função de falhas na notificação desses agentes ou se os valores estariam sendo obtidos com metodologias e critérios diferentes. Estes resultados corroboram nossos achados que revelam que mulheres entre 20 e 29 anos são as mais acometidas. (LARA, BERENICE MARIA RESENDE; FERNANDES, PAULA AVILA; MIRANDA, 1999; MORRIS et al., 2001; TANAKA et al., 2007).

O Ministério da Saúde possui uma preconização para os exames preventivos. O rastreamento pelo exame Papanicolau na população feminina deve ser feito a partir de 25 a 64 anos e que já iniciaram a vida sexual, sendo estes feitos anualmente por até dois anos e se negativos para infecção e/ou lesão, faz-se apenas os preventivos trienalmente. Apesar disso, foi observado que o 1º ano após o preventivo imediato detectou maior número de infecções comparado aos outros anos. Duavy e colaboradores afirmaram em um dos seus estudos que a maioria das mulheres somente realizavam o exame no 1º ano e depois só procuravam o médico quando surgia algum tipo de sintomatologia, ratificando nossos achados (DUAVY et al., 2007). Em São Luis do Maranhão, Milhomens e colaboradores em 2014 evidenciaram 50% de vulvovaginites em mulheres na faixa etária de 30 a 34 anos, predominando bacilos com 93,8%. Pinto e colaboradores demonstraram que a proporção de casos de IST's em municípios varia de acordo com taxa populacional e seu desenvolvimento. Municípios que possuem maior taxa populacional são os mais acometidos e os agentes patogênicos atingem principalmente o estrato etário de 15 a 64 anos, corroborando os resultados deste estudo no estudo da Bahia. (MILHOMENS et al., 2014; PINTO et al., 2018).

CONCLUSÃO

Os bacilos supracitoplasmáticos (*Gardnerella vaginalis* e *Mobiluncus sp.*) foram os microrganismos detectados com maior frequência nos exames cervicais citopatológicos no estado da Bahia entre 2006 e 2014, sendo a faixa etária de 20 a 39 anos a mais afetada por esses agentes. As cidades de Salvador e Feira de Santana apresentaram os maiores números de casos em todo o estado. Quanto ao aspecto temporal, houve redução significativa dos registros positivos para os microrganismos potencialmente infecciosos no intervalo avaliado, ratificando a eficácia das intervenções implementadas pelos órgãos competentes.

Referências

- BAGNALL, P.; RIZZOLO, D. Bacterial vaginosis: A practical review. **Journal of the American Academy of Physician Assistants**, v. 30, n. 12, p. 15–21, 2017.
- BARCELOS, M. R. B. et al. Infecções genitais em mulheres atendidas em Unidade Básica de Saúde: prevalência e fatores de risco. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v. 30, n. 7, p. 3–8, 2008.

BONFANTI, G.; GONÇALVES, T. D. L. PREVALÊNCIA DE Gardnerella vaginalis, Candida spp. e Trichomonas vaginalis EM EXAMES CITOPATOLÓGICOS DE GESTANTES ATENDIDAS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DE SANTA MARIA-RS. **Saúde (Santa Maria)**, v. 36, n. 1, p. 37, 2011.

BRAVO, R. S. et al. Tricomoniase Vaginal: o que se Passa? **DST - J bras Doenças Sex Transm.** v. 22, n. 2, p. 73–80, 2010.

CARLOTTO, K. et al. Características reprodutivas e utilização de serviços preventivos em saúde por mulheres em idade fértil: resultados de dois estudos transversais de base populacional no extremo Sul do Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 9, p. 2054–2062, 2008.

CONSOLARO, M.; MARIA-ENGLER, S. **Citologia clínica cérvico-vaginal: textos e atlas.** São Paulo: [s.n.].

DIELISSEN, P. W.; TEUNISSEN, D. A. M.; LAGRO-JANSSEN, A. L. M. Chlamydia prevalence in the general population: Is there a sex difference? A systematic review. **BMC Infectious Diseases**, v. 13, n. 1, p. 1, 2013.

DUAVY, L. M. et al. A percepção da mulher sobre o exame preventivo do câncer cérvico-uterino : estudo de caso. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 12, n. 3, p. 733–742, 2007.

FARIAS, I. A. DE; SILVA, D. G. K. C. E. Estudo da prevalência de doenças sexualmente transmissíveis entre mulheres em idade fértil atendidas em Estratégia de Saúde da Família de Acari/RN. **Biota Amazônia**, v. 5, n. 1, p. 1–6, 2015.

GOULET, V. et al. Prevalence of Chlamydia trachomatis: Results from the first national population-based survey in France. **Sexually Transmitted Infections**, v. 86, n. 4, p. 263–270, 2010.

HALTAS, H.; BAYRAK, R.; YENIDUNYA, S. To determine of the prevalence of Bacterial Vaginosis, Candida sp, mixed infections (Bacterial Vaginosis + Candida sp), Trichomonas Vaginalis, Actinomyces sp in Turkish women from Ankara, Turkey. **Ginekologia polska**, 2012.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **CENSO 2010.** Disponível em: <<https://censo2010.ibge.gov.br/resultados.html>>. Acesso em: 8 jul. 2019.

JIMÉNEZ, A. L. et al. Prevenção de doenças sexualmente transmissíveis em mulheres : associação com variáveis sócio-econômicas e demográficas. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 17, n. 1, p. 55–62, 2001.

KOSS, L. G.; GOMPEL, C. **Introdução à citopatologia ginecológica com correlações histológicas e clínicas.** São Paulo: Ed. Roca; 2006

LARA, BERENICE MARIA RESENDE; FERNANDES, PAULA AVILA; MIRANDA, D. Diagnósticos citológicos cérvico-vaginais em laboratório de médio porte de Belo Horizonte - MG/ Cervicovaginal cytologic diagnoses by medium-sized pathology laboratory in Belo Horizonte-MG. **Revista brasileira de análises clínicas**, p. 37–40, 1999.

LINHARES, I. M.; GIRALDO, P. C.; BARACAT, E. C. Novos conhecimentos sobre a flora bacteriana vaginal. **Revista da Associação Médica Brasileira**, 2010.

LOOKER, K. J.; GARNETT, G. P.; SCHMID, G. P. An estimate of the global prevalence and incidence of herpes simplex virus type 2 infection. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 86, n. 10, p. 805–812, 2008.

MACHADO, E. R.; SOUZA, L. P. DE. **Tricomoniase**. v. 16, p. 229–243, 2013.

MILHOMENS, P. M. et al. Prevalência dos agentes etiológicos das vulvovaginites através de resultados de exames citopatológicos. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 6, n. 1, p. 96–106, 2014.

MORRIS, M. et al. Bacterial vaginosis: A public health review. **British Journal of Obstetrics and Gynaecology**, v. 108, p. 439–450, 2001.

NUGENT, R. P.; KROHN, M. A.; HILLIER, S. L. Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of gram stain interpretation. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 29, n. 2, p. 297–301, 1991.

PAZ-BAILEY, G. et al. Herpes simplex virus type 2: Epidemiology and management options in developing countries. **Sex Transm Infect**, v. 83, p. 16–22, 2007.

PENELLO, A. et al. Herpes Genital. **Jornal Brasileiro de Doenças Sexualmente Transmissíveis**, v. 22, n. 2, p. 64–72, 2010.

PERFOLL, R. I.; PAGANI, S. **Actinomicose associada ao uso de DIU**: relato de um caso. 1983.

PINTO, V. M. et al. Fatores associados às infecções sexualmente transmissíveis: inquérito populacional no município de São Paulo, Brasil. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 23, n. 7, p. 2423–2432, 2018.

STORTI-FILHO, A. et al. Association of public versus private health care utilization and prevalence of *Trichomonas vaginalis* in Maringá, Paraná, Brazil. **Archives of Gynecology and Obstetrics**, v. 280, n. 4, p. 593–597, 2009.

TANAKA, V. D'ANDRETTA et al. Perfil epidemiológico de mulheres com vaginose bacteriana, atendidas em um ambulatório de doenças sexualmente transmissíveis, em São Paulo. **SP. An Bras Dermatol.**, v. 82, n. 1, p. 41–46, 2007.

WEISS, H. Epidemiologia da infecção pelo vírus herpes simplex tipo 2 no mundo em desenvolvimento. **Herpes: o Jornal do IHMF**, p. 24A-35A, 2004.

WHO. GLOBAL PREVALENCE AND INCIDENCE OF SELECTED CURABLE SEXUALLY TRANSMITTED INFECTIONS: OVERVIEW AND ESTIMATES. **World Health Organization**, p. 50, 2001.